МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева»

Сборник трудов, приуроченных к Всероссийской студенческой научно-практической конференции «Актуальные вопросы сельскохозяйственной микробиологии», посвященной 100-летию со дня рождения В.Т. Емцева

г. Москва, 2024

УДК 579
ББК 28.4
С 23

Сборник трудов, приуроченных к Всероссийской студенческой научно-практической конференции «Актуальные вопросы сельскохозяйственной микробиологии», посвященной 100-летию со дня рождения В.Т. Емцева / Под ред. А.В. Козлова, Р.Т. Маннаповой, О.Г. Волобуевой, О.В. Селицкой, Г.В. Уварова, И.С. Дятлова, Л.В. Верзуновой, О.Е. Махныревой. – М.: ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; ООО «Мегаполис», 2024. – 293 с.

ISBN 978-5-9675-2047-1

В сборник включены статьи по материалам докладов студентов ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, других вузов и научно-исследовательских учреждений в рамках проведения Всероссийской студенческой научно-практической конференции «Актуальные вопросы сельскохозяйственной микробиологии», посвященной 100-летию со дня рождения доктора биологических наук, профессора Всеволода Тихоновича Емцева.

В сборнике представлены материалы по вопросам азотфиксации, биологии и эколого-географических закономерностей почвенного микробиома, а также роли микроорганизмов в почвообразовании и эволюции почвенного покрова естественных, антропогенных и сельскохозяйственных экосистем, по вопросам физиологии и биохимии взаимоотношения микроорганизмов и растений, а также биотехнологии растений, по вопросам микробиологических основ переработки продукции и отходов перерабатывающей промышленности АПК, по современным проблемам и перспективам микробиологического синтеза, по актуальным вопросам ветеринарной микробиологии, биохимии и микробиологических приемов оптимизации иммунитета сельскохозяйственных животных, а также по вопросам теории и методики подготовки специалистов-педагогов высшей научной школы в области сельскохозяйственной микробиологии.

Сборник трудов предназначен для студентов бакалавриата, магистратуры и специалитета, а также для аспирантов, научных работников и специалистов аграрного профиля.

ISBN 978-5-9675-2047-1

СОДЕРЖАНИЕ

Секция 1.
Азотфиксация: фундаментальные основы и прикладные аспекты

Секция 2.
Биология и эколого-географические закономерности почвенного микробиома. Роль микроорганизмов в почвообразовании и эволюции почвенного покрова естественных, антропогенных и сельскохозяйственных экосистем

Секция 3.
Теоретические и прикладные вопросы физиологии и биохимии взаимоотношений микроорганизмов и растений, вопросы биотехнологии растений

Секция 4.
Микробиологические основы переработки продукции и отходов перерабатывающей промышленности АПК

Секция 5.
Современные проблемы и перспективы микробиологического синтеза

Секция 6.
Актуальные вопросы ветеринарной микробиологии.
Биохимия и микробиологические приемы оптимизации иммунитета сельскохозяйственных животных

Секция 1.
Азотфиксация: фундаментальные основы и прикладные аспекты

УДК 631.461.51

АНАЛИЗ ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ БАКТЕРИЙ РОДА AZOTOBACTER В ПОЧВАХ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СТРЕССОУСТОЙЧИВЫХ ВИДОВ

***Батаева Анна Дмитриевна**, студент 1 курса, Институт агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, adbataeva2006@yandex.ru*
***Будаева Виктория Алексеевна**, 1 курс бакалавриат, Институт агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, victory.bud2406@mail.ru*
***Курмалиев Ислам Рамилевич**, студент 1 курса, Институт агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, islam.kurmaliev@yandex.ru*
***Тарасьева Александра Владимировна**, студент 1 курса, Институт агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, tarasevaalexsandra228@gmail.com*
(Научный руководители – Андреева Мария Петровна, педагог ДО, ГАОУ АО ДО «РШТ», mashandrya@yandex.ru; Симагин Александр Дмитриевич, ассистент кафедры генетики, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА alexander.d.simagin@yandex.ru)

***Аннотация:** Актуальным становится поиск видов бактерий рода Azotobacter, которые обладают комплексом признаков стрессоустойчивости. Исследование видового разнообразия микроорганизмов этого рода на территории аридных засоленных почв предположительно расширит перспективы их использования в агросекторе.*

Ключевые слова: отбор почвенных образцов, физико-химические свойства почвы, Azotobacter, азотфиксация, получение бактериальных колоний.

Введение

Препараты на основе бактерий р. Azotobacter отличаются высокой способностью фиксировать атмосферный азот. Результаты применения таких удобрений в сельском хозяйстве свидетельствуют о его большой эффективности [1]. Присутствие и выживание бактерий р. Azotobacter в почве коррелирует с содержанием в ней органического вещества. Их много в плодородных, богатых гумусом почвах. Поэтому актуальным становится поиск тех видов бактерий р. Azotobacter, обладающих стрессоустойчивостью к высокой температуре и солёности. Анализ видового многообразия бактерий, обитающих в условиях засолённости и экстремальных температур аридных почв Астраханской области, является актуальным направлением исследований.

Характеристика р. Azotobacter.

Azotobacter являются грамотрицательными свободноживущими аэробными почвенными бактериями, которые образуют толстостенные цисты[2]. Форма клеток варьирует от прямых палочек с закругленными концами до более эллипсовидных или кокковидных, в зависимости от питательной среды и возраста[3]. Размер клеток составляет от 2 до 10 мкм в длину и 1-2 мкм в ширину[2]. Клетки чаще одиночные, иногда встречаются парами, неправильными скоплениями или, реже, цепочками разной длины[3]. В свежих культурах клетки подвижны, так как чаще всего имеют множество жгутиков. Известно, что образование цист является одним из основных критериев таксономической идентификации Azotobacter, так как другие фиксаторы свободного азота, такие как Azomonas, Derxia и так далее, не обладают тенденцией к образованию цист[4].

Обсуждается вопрос о том, является ли Azotobacter ризосферной бактерией. Согласно большинству исследований, распространенность Azotobacter в ризосфере, как правило, не выше, чем вне её. Согласно другим данным, бактерии встречаются в ризосфере ряда сельскохозяйственных культур, таких как рис, кукуруза, сахарный тростник, баджра, овощи и плантационные культуры. Встречаются также в паренхиматозных клетках коры корней [4].

Многие штаммы Azotobacter производят как растворимые, так и нерастворимые в воде пигменты[3], которые участвуют в метаболизме других микроорганизмов. Например, A. chroococcum образует темнокоричневый водорастворимый пигмент меланин[2]. Оптимальная температура роста для большинства представителей рода Azotobacter составляет 28–37 °C, но стоит учитывать, что температурный оптимум варьируется в зависимости от вида. Минимальный pH для роста в присутствии фиксированных источников азота колеблется от 4.8 до 6.0 с максимальным pH 8.5. Оптимальный pH для диазотрофного роста – 7.0–7.5[3].

Связывание азота начинается с активации биологически инертного молекулярного азота. Активатором служит фермент, называемый нитрогеназой. Другой фермент — гидрогеназа — активирует водород. Активированный азот соединяется с активным водородом, образуя аммиак — ключевое соединение в процессе связывания азота. В дальнейшем аммиак реагирует с кетокислотами, образуя через стадию ими до кислот сначала аминокислоты. Аминокислоты под действием синтетаз полимеризуются в пептоны, пептиды и белки[4].

Целью данной работы являлось выявить наиболее благоприятные условия для формирования азотфиксирующих бактерий р. Azotobacter в почвах Астраханской области.

В задачи исследования входило:

1. Отбор образцов из аридных засоленных почв Астраханской области.
2. Изучение основных физико-химических свойств исследуемых почв.
3. Получение методом пересева культур бактерий.
4. Оценка динамики роста и проведение морфологического анализа колоний.

Объекты исследований: почвенные образцы ризосферы галофитов оз. Тинаки и ильменей Наримановского р-на Астраханской обл., ризосферы солеросов разных родов (с. Самосделка и пос. Басы Астраханской обл.), с/т «Наладчик» (Приволжский р-н Астраханской обл.).

Отбор проб производился в два этапа: 1) на озере Тинаки, в селе Самосделка, на территории с/т «Наладчик» (Приволжский р-н Астраханской обл.); 2) в посёлке Басы, на ильменях Наримановского р-на Астраханской обл. на дачном участке в с/т «Наладчик» (Приволжский р-н Астраханской обл.). Все точки отбора проб расположены между бэровскими буграми, на которых распространены бурые полупустынные почвы, в межбугровых понижениях большое распространение имеют ильменно-болотные, ильменно-луговые почвы. Они образуются при периодическом затоплении ильменей во время половодья. Флористически — это район, имеющий изрезанный рельеф, что обусловливает разную степень увлажнения, разнообразие и пространственное размещение видов. Особенности орографии, по нашему мнению, будут определять видовую или морфологическую специфичность обитающих здесь азотфиксирующих бактерий, входящих в состав ризосферы растений. Контрольный разрез закладывался на глубину от 0,75 до 1 метра.

Определение физико-химических свойств почвы.

Определение гранулометрического состава производилось полевым “мокрым” методом.

Определение карбонатов производилось, согласно стандартной методике, с помощью пипетки Пастера нанесли несколько капель 0,1 М HCl кислоты на почву. Если в почве находится значительное количество карбонатов, то на срезе наблюдалось вспенивание. В результате реакции выделяется углекислый газ, который обуславливает вспенивание.

Определение концентрации CO_2 методом Штатного. В течение суток закрытые емкости с почвенными образцами выделяли углекислый газ, который поглощался щелочью (10 мл раствора $NaOH$ 0,1 М), размещенной в стаканчике, расположенном в емкости. Далее анализ проводился титрованием 10% соляной кислотой до обесцвечивания подкрашенного фенолфталеином раствора $NaOH$. Анализ с насыщением проводился в течение 1 суток, 3 суток, 7 суток.

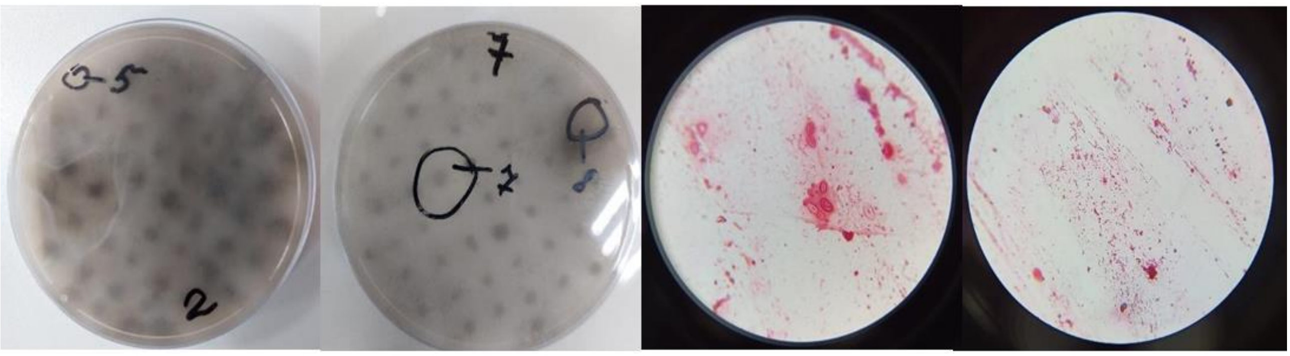
Определение pH в почвенной вытяжке в лабораторных условиях проводилось с использованием pH-метра (таблица).

Посев, морфологический анализ и микроскопирование почвенных колоний.

Микробиологический посев осуществлялся на приготовленную селективную питательную среду Эшби методом почвенных комочков. Чашки Петри перед заливкой среды автоклавировались (121°С, 40 мин, 1,5 атм.). Посев производился в ламинарном боксе. Инкубирование производилось 4, 8 и более дней в термостате при 25°С. Морфологический анализ колоний производился по Берджи. Микроскопирование полученных микроорганизмов производилось после окрашивания по Грамму фиксированных образцов.

Результаты.

Все образцы почвы из оз. Тинаки и с. Самосделка были слабощелочные; образцы дачного участка и территории с/т «Наладчик», пос. Басы, ильменей Наримановского р-на Астраханской обл. были слабокислые. Карбонаты были обнаружены в одном из образцов оз. Тинаки, во всех образцах пос. Басы, ильменей Наримановского р-на Астраханской обл. и территории с/т «Наладчик». Наибольшее количество СО2 в образцах пос. Басы.



Высокий процент обрастаний бактериальных колоний был характерен для образцов с/т «Наладчик», почвенного профиля района оз. Тинаки. Незначительные обрастания - в ризосфере галофитов оз. Тинаки, пос. Басы, медленное прорастание – ил озера Тинаки.

Микроскопирование фиксированных образцов в совокупности с морфологическим анализом колоний позволяет предположить, что в образцах первого отбора почвенных проб (оз. Тинаки, с. Самосделка, с/т «Наладчик») найдены 2 вида бактерий Azotobacter chroococcum (коричневые бактериальные колонии) и Azotobacter salinestris (бесцветные бактериальные колонии), в образцах пос. Басы – грамположительные азотфиксаторы.

Azotobacter salinestris предположительно обладает специфичными генами солеустойчивости, что необходимо для получения препарата для аридных почв.

Выводы:

1. Отобраны почвенные образцы, оценены физико-химические и биологические свойства почвенных образцов ризосферы растений, произрастающих в условиях засоленных аридных почв.
2. Получена коллекция почвенных азотфиксирующих бактерий.
3. Динамика роста и морфология колоний определяется видом растений, произрастающих на этих почвах, особенностями условий произрастания, физико-химическими свойствами, в том числе солёностью

Список литературы:

1. Влияние систем земледелия на обилие аэробной азотфиксирующей микробиоты / Н. Е. Игнашев, Л.Ю. Рыжих // Российский журнал прикладной экологии. – 2020.
2. Виды азотфиксирующего Azotobacter как потенциальные биологические усилители почвы для питания сельскохозяйственных культур и стабильности

урожая. / Aasfar A., Bargaz A., Yaakoubi K., Hilali A., Bennis I., Zeroual Y., Meftah Kadmiri I. // Frontiers in Microbiology. – 2021.
3. Bergey's manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed: Volume 2: The Proteobacteria (Part B: The Gammaproteobacteria) / G. M. Garrity, D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley. // NY: Springer–Verlag. – 2005.
4. Azotobacter: потенциальное биоудобрение для управления здоровьем почвы и растений. / Aisha Sumbul, Rizwan Ali Ansari, Rose Rizvi, Irshad Mahmood // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2020.

Таблица

Результаты исследований

Образцы	pH вод. р-ров	CO_3^{2-}	CO_2 (мг)	Механический состав	Процент обрастания колоний на 11 день
Отбор почвенных образцов № 1.					
оз. Тинаки, ил	7,60	–	44,85	тяжелый суглинок	12
оз. Тинаки, слой А	7,60	–	45,36	супесь	100
оз. Тинаки, слой В	7,70	–	41,82	легкий суглинок	100
оз. Тинаки, слой С	8,30	+	43,56	тяжелый суглинок	100
оз. Тинаки, ризосфера галофита, 1	7,70	–	43,12	супесь	12
оз. Тинаки ризосфера галофита, 2	8,20	–	40,93	супесь	0
дачный участок с/т «Наладчик» Приволжский район	6,50	–	46,64	средний суглинок	100
с. Самосделка, ризосфера галофита	8,00	–	48,52	легкий суглинок	100
Отбор почвенных образцов № 2.					
образец 0-4 см пос. Басы	5,76	+	66,02	средний суглинок	100
образец 4-9 см пос. Басы	6,68	+	71,43	средний суглинок	100
образец 9-14 см пос. Басы	6,60	+	96,81	средний суглинок	100
образец 14-34 см пос. Басы	5,70	+	106,31	средний суглинок	100
образец 34-66 см пос. Басы	5,46	–	123,27	средний суглинок	50
образец ризосфера солероса ильменей Наримановского р-на	6,46	+	42,32	средний суглинок	25
образец ризосфера солероса ильменей Наримановского р-на	6,64	+	50,43	средний суглинок	20
территория с/т «Наладчик» Приволжский район	6,18	+	38,26	легкая глина	100
территория с/т «Наладчик» Приволжский район	6,20	+	54,67	легкая глина	100

УДК 579.6

ВЛИЯНИЕ Zn И Ni НА АЗОТОФИКСИРУЮЩУЮ МИКРОБИОТУ, РОСТ И РАЗВИТИЕ ГОРОХА ПОСЕВНОГО СОРТА НЕМЧИНОВСКИЙ 50

Иванов Илья Алексеевич, *магистрант 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Iliaivanovrgaumsha@gmail.com*
Ефремова Варвара Андреевна, *магистрант 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Varvara.efremovaa@mail.ru*
Петина Александра Николаевна, *магистрант 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Sasha.nefedova2@mail.ru*
(Научные руководители – Волобуева Ольга Гавриловна, д.сх-н., профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, ovolobueva@rgau-msha.ru.; Серегина Инга Ивановна, д.б.н., профессор кафедры агрономической, биологической химии и радиологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, iseregina@rgau-msha.ru)

Аннотация: *в статье рассматривается влияние микроудобрений Zn и Ni в почвенных условиях на рост и развитие гороха посевного сорта Немчиновский 50, а также на микробиологическую активность азотфиксирующих микроорганизмов рода (Rhizobiut) описывается актуальность этого исследования, приводятся результаты полевого опыта.*

***Ключевые слова*:** никель, горох, цинк, микроудобрения, азотофиксирующие клубеньки, клубеньковые бактерии, ризобии.

Никель (Ni) является серьезным токсикантом содержащийся в земной коре. [1] При этом в низких концентрациях (при концентрации в почве в пределах от 0,05 до 10 мг/кг) никель является важным элементом, определяющем активность фермента уреазы и участвует в процессе расщепления мочевины до аммиака. [3] Важнейшим стимулирующем действием этого элемента является влияние на процессы фиксации азота азотфиксирующими микроорганизмами и бобовыми культурами. [5] Цинк (Zn) напротив является необходимым микроэлементов, влияющим на рост растений при концентрации от 25 до 100 мг/кг. Цинк также отвечает за образование ауксинов и ДНК, рибосом. Влияет на проницаемость мембран растений, тем самым обеспечивая устойчивость к сухому и жаркому климату, а также бактериальным и грибковым заболеваниям.

Основной особенностью гороха является симбиоз с клубеньковыми бактериями (ризобиями), фиксирующими свободный азот атмосферы, поэтому горох – хороший предшественник для большинства сельскохозяйственных культур [6].Клубеньковые бактерии обладают высокой способностью переводить труднорастворимые фосфорные соединения в более усвояемые формы, что способствует обогащению растений и азотом, и этим элементом [7].Совместное применение небольших доз Ni и Zn способствует получению более высокой урожайности хорошего качества основной продукции гороха посевного “Немчиновский 50”, а также стимуляции азотфиксирующей способности клубеньков гороха и сохранению их количества при стрессовых условиях не нарушая структуры почвы. [2]

Цель исследования состоит в изучении влияния никеля и цинка на урожайность и азотфиксирующую активность гороха посевного Pisum sativum L. сорта Немчиновский 50 в условиях полевого опыта.

Задачи исследования:

- Оценить влияние никеля и цинка на рост, развитие и урожайность гороха сорта “Немчиновский 50” в условиях полевого опыта;
- Проанализировать массу и количество азотфиксирующих клубеньков гороха посевного;
- Изучить как влияют различные дозы никеля и цинка на устойчивость и микробиологическую активность азотфиксирующих активность клубеньков гороха.

Объектами исследования были горох посевной Pisum sativum L., сорт Немчиновский 50 (селекция ФИЦ «Немчиновка»).

Полевой опыт проводился на базе структурных подразделений ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева.

Метод исследования:

В результате проведенных исследований проводили фенологические наблюдения, учет количества и массы клубеньков методом Г.С. Посыпанова, также был проведена оценка математико статических результатов по Доспехову.

Результаты:

В результате исследований масса клубеньков гороха посевного изменялась 16 мг до 36 мг в пользу вариантов, где применялась комплексное внесение Никеля и Цинка в сравнении с фоновым вариантом.

Количество клубеньков также увеличивалось в вариантах, где Никель и Цинк вносились совместно с 19 штук до 38 штук соответственно в сравнении с вариантами, где внесение было по одному из изучаемых микроэлементов, а также где Ni и Zn не вносился.

Заключение:

Таким образом, в результате проведенных исследований можно отметить положительную тенденцию при применении никеля и цинка в предпосевной обработке гороха посевного на рост и развития растения, а также увеличение количества азотфиксирующих клубеньков при совместном применении изучаемых микроэлементов. Проведенное исследование может служить основой для продолжения изучения данной темы с целью получения наиболее благоприятной концентрации никеля и цинка для развития растений гороха посевного в разных условиях выращивания и достижения максимально высоких показателей качества и количества урожая и микробиологических показателей почвенных азотфиксаторов.

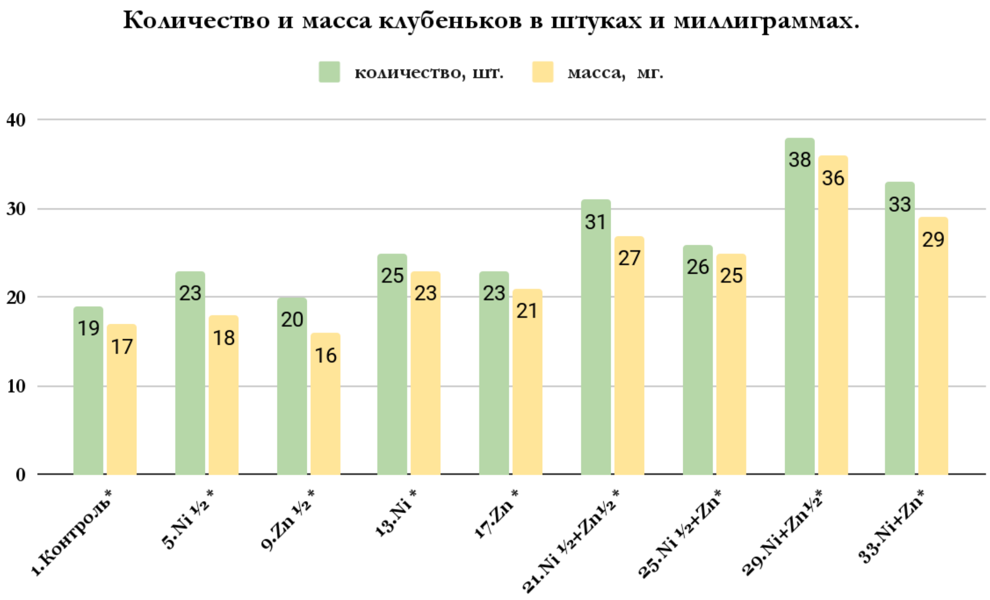


Рисунок 1. Влияние никеля на количество и массу клубеньков гороха сорта *Немчиновский 50* в условиях полевого опыта.

Список литературы:

1. Иванищев, В.В. Никель в окружающей среде и его влияние на растения /В.В. Иванищев // Известия Тульского государственного университета. Науки о Земле. – 2021. – № 2. – С. 38-53. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/nikel-v-okruzhayuschey-srede-i-ego-vliyanie-na-rasteniya).
2. Минайчев, В.В. Влияние ионов цинка и никеля на формирование проростков Pisum sativum L. / В.В. Минайчев, Т.Е. Сиголаева, Д.А. Кузнецов и др. // Известия ТулГУ. Естественныенауки. – 2015. – Вып. 3. – С. 292-304. URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24318879_10893685.pdf
3. Минайчев, В.В. Влияние ионов цинка и никеля на водообеспеченность проростков гороха и образование пигментов фотосинтеза / В.В. Минайчев, Т.Е. Сиголаева, Д.А. Кузнецов, В.В. Иванищев // Известия ТулГУ. Естественные науки. – 2016. – № 1. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ionov-tsinka-i-nikelya-na-vodoobespechennost-prorostkov-goroha-i-obrazovanie-pigmentov-fotosinteza
4. Казнина Н. М., Титов А. Ф. Влияние дефицита цинка на физиологические процессы и продуктивность культурных злаков // Успехи современной биологии. 2019. № 3 (139). С. 280–291.
5. Серегин, И.В. Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения / И.В. Серегин, А.Д. Кожевникова // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 2. – С. 285-308. – EDN HVJEAN. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=9292703
6. Волобуева, О.Г. Эффективность бобово-ризобиального симбиоза при использовании биопрепаратов и регуляторов роста: дис. ... Докт. с-х. наук: 03.01.05 - Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, 2022. – 348 с. URL:

_https://kubsau.ru/science/dep_diss/153832/
7. Макашева, Р.Х. Зерновые бобовые культуры. Горох / Р.Х. Макашева // Культурная флора СССР. – Л.: Колос, 1979. – Т. 4. – Ч. 1. – 325 с. URL: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_010109312/

УДК 631.361

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И УРОЖАЙНОСТЬ СОИ

Капленко Алексей Николаевич, *студент 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, kaplenko-2021@mail.ru.*
Ченцов Василий Николаевич, *педагог дополнительного образования МБОУ «Средней общеобразовательной Ивановской школа», hencov57@mail.ru.*
(Научный руководитель – Мазиров Михаил Арнольдович, доктор биологических наук, профессор кафедры земледелия и методики опытного дела ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, mmazizov@msha.ru)

Аннотация. *Сегодня стоит задача по возделыванию сои по современным технологиям для получения стабильной семенной продукции 2,5-3,5 т/га. Для достижения такой урожайности применяется инокуляция растений высокоэффективными штаммами клубеньковых бактерий, которые обеспечиваю растение биологическим азотом, который уменьшает себестоимость продукции, а также повышает продуктивность сои на 25%.*

Ключевые слова: атува, биологический азот, инокуляция, клубеньковые бактерии, премакс, продуктивность, протеин, соя, урожайность, жир.

Соя – (Glycine hispida). Семейство – бобовые (Fabaceae). Стебель прямостоящий, прочный, сильноветвящийся, образует травянистый куст. Корневая система стержневая. На главном и боковых корнях образуются клубеньки, которые представляют собой разросшуюся под влиянием бактерий ткань корня. Они поглощают из атмосферы молекулярный азот и переводят его в доступную для растения форму. Соцветие у сои кисть. Плод – боб с 2-5 семенами, при созревании не растрескивается [1].

В исследование использовался сорт сои Лидер 10. Оригинатор ООО «АСТ» город Курск. Внесён в Госреестр селекционных достижений РФ в 2020 году по Центрально–Чернозёмному региону. Сорт раннеспелый. Вегетационный период – 105-110 дней. Окраска растения – рыжевато-коричневая, венчик цветка – фиолетовый, семенная кожура – жёлто-зелёная, рубчик тёмно-коричневый. Содержание белка 38,9%, жира 20,5%. Масса 1000 семян- 145-160граммов. Средняя урожайность по Белгородской области составляет 23,9 ц/га, максимальная – 38,8 ц/га [2].

Препараты испытанные в опыте: Атува – это новейший инокулянт, изготовленный специальным методом размножения бактерий по технологии «OSMO – защита. Зарегистрирован в марте 2021года в России. Производитель - компания «Syngenta». Действующее вещество – штаммы клубеньковых бактерий (Bradyrhizobibm japonicum), штамм 5079 и 5080. Форма препарата – стерильная жидкая формуляция. Норма расхода препарата 2л/1т семян [4].

Максим голд (фунгицид) - двухкомпонентный протравитель семян сои и кукурузы от заболеваний, распространяющихся с семенами и почвой. Производитель - компания «Syngenta». Препарат состоит из двух действующих веществ различных классов. Мефеноксам ингибирует образование белков в грибках, подавляет синтез рибосомальной РНК. Препаративная форма концентрат суспензии. Норма расхода препарата для семян сои - 1,25-1,5л/т [3].

Премакс - это улучшитель (экстендер). Производитель - компания «Syngenta». Он применяется вместе с инокулянтом Атува. Препарат обеспечивает бактерии на семенах питанием для поддержания их в активном состоянии после обработки и до момента заселения корневой системы сои, закрепляет бактерии и предотвращает высыхание бактерий на семенах.

Норма расхода при инокуляции – Атува 2л/т + Премакс 1л/т [3].

Исследование проводилось в северо-восточной части Белгородской области на учебно-опытном участке МБОУ «Средняя общеобразовательная Ивановская школа» в 2021-2023 годах по заданию компании ООО «Сингента».

Климат Белгородской области умеренно-континентальный, проявляется в достаточно резких колебаниях температуры и относительно влажности воздуха, также характеризуется жарким летом и холодной зимой. Осадки выпадают неравномерно в течение года и по годам.

За вегетационный период растения в 2021 году выпало осадков 147,8мм или 55 % от среднемноголетних значений. Среднесуточная температура воздуха за период вегетации в среднем составила +18 ^{0}С, а днём - +23 ^{0}С. В 2022 году за период развития сои выпало осадков 250,9мм или 75% от среднемноголетних значений. Среднесуточная температура воздуха за вегетацию в среднем составила +16 ^{0}С, а днём - +22 ^{0}С. Количество выпавших осадков за время вегетации сои в 2023 году составило 376,7мм или 115% от среднемноголетних значений. Среднесуточная температура воздуха за вегетационный период в среднем составила +19 ^{0}С, а днём - +25 ^{0}С. Следовательно, для роста и развития сои наименее благоприятным был 2021 год, а наиболее благоприятным стал 2023 год.

Исследование проводилось на почвах - чернозём выщелочный, содержание гумуса – 2,0%; pH – 5,7; содержание легкогидролизуемого азота – 98 мг/кг, подвижного фосфора и обменного калия – 25 и 68 мг/кг соответственно.

Предшественник – озимая пшеница. Осенью провели обработку почвы мотоблоком на глубину 20-22 см. Перед посевом выровняли почву и провели разбивку делянок. Посев сои провели по схеме 45Х20 см. Опыт сельскохозяйственный провели в 5 вариантах и 3 повторностях. Размер учётной делянки составил 4,5 м^2. Уход за растениями заключался в трёх междурядных обработках: прополке, окучивание и удаление сорняков. Посев семян сои сорта «Лидер 10» на контрольных делянках провели семенами, обработанными чистой водой. Посев семян сои сорта «Лидер 10» на опытных делянках №1 провели семенами, обработанными инокулянтом «Атува». Посев семян сои сорта «Лидер 10» на опытных делянках №2 провели семенами, обработанными инокулянтом «Атува» + препарат Максим Голд. Посев семян сои сорта «Лидер 10» на опытных делянках №3 провели семенами, обработанными инокулянтом «Атува» + препарат Премакс. Посев семян сои сорта «Лидер 10» на опытных делянках №4 провели семенами, обработанными инокулянтом «Атува» + Максим Голд + Премакс. Уборка проводилась в фазе полной спелости. Структурный анализ делали на 10 растениях с каждой делянки и каждого варианта.

Важным фактором при выращивании сои является количество клубеньковых бактерий на её корнях, благодаря которым растение способно накапливать биологический азот, тем самым улучшая окружающую среду.

Подсчёт клубеньков проводили на десяти растениях с каждой делянки, в фазу полной спелости. Выкапывали растения сои в ёмкость отряхивали почву с корней и просеивали её, выбирая опавшие клубеньки, затем обрывали клубеньковые бактерии с корней растения и считали их общее количество, после чего взвешивали массу клубеньков, вычисляя среднее значения.

На контрольном варианте без инокулянта на корнях одного растения в среднем было 98 клубеньков, массой 4,3 грамма. На делянках, обработанных инокулянтом Атува, клубеньков было больше на 42 штуки и на 6,7 грамм по массе. На делянках, обработанных инокулянтом Атува + препарат Максим Голд, клубеньковых бактерий было больше на 54 штуки и на 4,2 грамма по массе. На делянках, обработанных инокулянтом Атува совместно с улучшителем Премакс, клубеньков было больше на 207 штук и на 12,3 грамма по массе. На делянках, обработанных инокулянтом Атува вместе с препаратом Максим Голд и экстендером Премакс, клубеньков было больше на 63 штуки и на 6,4 грамма по массе. На всех опытных делянках количество и масса клубеньковых бактерий была выше по сравнению с контролем на 211 и 286% соответственно.

Так как соя является важнейшей белково-маслиничной культурой мирового значения, важными показателями является содержание протеина и жира. Благодаря данным показателям можно оценивать качество зерна сои.

В опыте был проведён анализ качества зерна сои по следующим показателям: влажность, содержание протеина, наличие жира и товарность.

Влажность при уборке культуры была в пределах от 11,3% при применении Атува + Премакс до 13,2% при применении только инокулянта Атува. Содержание сырого протеина в семенах сои было выше при использовании Атува совместно с Премаксом на 1,5%, другие опытные варианты также превысили содержание белка на 0,6-0,9%, по сравнению с контролем. Выхож жира из семян сои составил от 19 до 21%. Инокулянт Атува с препаратом Премаксом способствовал увеличению содержания масла в семенах сои на 2,3%, по сравнению с контрольным вариантом. Товарность зерна сои была в пределах от 89,2 при использовании только Атува до 94,7, при применении Атува с Премакс.

При выращивании любой культуры в том числе и сои, одним из ключевых критериев является урожайность. Данные о влияние инокуляции как отдельно, так и совместно с другими препаратами на структуру урожая, представлены в таблице.

Инокулянт Атува совместно с улучшителем Премакс повлияли на продуктивные показатели и повысили их на 14-110%. Атува с другими препаратами повлияли на продуктивность в меньшей степени. Использование инокулянт Атува также увеличил массу 1000 семян на 5%, Атува совместно с Максим голд на 6%, Атува вместе с Максим голд и Премакс на 10% и Атува с Премакс на 14%. Урожайность пересчитывалась в ц/га и она была выше у всех опытных вариантов, по сравнению с контролем от 11 до 29%. Урожайность зерна сои при применении инокулянта Атува с экстендером Премакс составила – 30,3 ц/га, что больше по сравнению с контрольным вариантом на 29%.

Таблица

Структура урожая сортов сои в среднем за 3 года (т/га)

Варианты опыта	По-втор-ность	Ко-во продук. узлов, шт.	Колич. боб. на 1раст. шт.	Колич. семян в бобе шт.	Масса 1000 семян гр.	+ - к кон-тро-лю гр.	Уро-жай-ность ц/га	+ - к конт ц/га
1.Контроль Лидер 10 + вода	1	18,5	35,5	2,9	143,9	-	23,1	-
	2	17,6	37,2	2,5	148,6	-	23,8	-
	3	18,3	36,3	2,8	149,5	-	23,2	-
	Сред.	**18,1**	**36,3**	**2,7**	**147,3**	**-**	**23,4**	**-**
2.Опыт Лидер 10 + Атува	1	25,8	44,6	3,6	152,7	-	25,9	-
	2	26,2	42,4	3,8	154,5	-	25,7	-
	3	24,4	45,3	3,5	156,9	-	26,1	-
	Сред.	**25,5**	**44,1**	**3,6**	**154,7**	**+7,4**	**25,9**	**+2,5**
3.Опыт Лидер 10 + Атува + Максим Голд	1	26,8	46,7	4,0	156,1	-	27,3	-
	2	25,9	45,2	3,4	155,2	-	26,4	-
	3	26,2	44,6	3,7	155,7	-	26,3	-
	Сред.	**26,3**	**45,5**	**3,7**	**155,6**	**+8,3**	**26,7**	**+3,3**
4.Опыт Лидер 10 + Атува + Премакс	1	37,3	54,2	4,1	168,2	-	30,3	-
	2	38,0	53,3	3,9	164,4	-	29,4	-
	3	38,9	54,5	4,2	172,3	-	31,1	-
	Сред.	**38,1**	**54,0**	**4,1**	**168,3**	**+21,0**	**30,3**	**+6,9**
5.Опыт Лидер 10 + Атува + Максим Голд + Премакс	1	37,7	48,7	3,6	161,1	-	28,1	-
	2	38,6	55,3	4,0	164,2	-	30,5	-
	3	37,2	53,6	3,5	161,9	-	28,3	-
	Сред.	**37,8**	**52,5**	**3,7**	**162,4**	**+15,1**	**29,0**	**+5,6**

По результатам исследования, мы рекомендуем в Белгородской области выращивать сою с применением инокулянта Атува совместно с препаратом Премакс, которые способствует увеличению клубеньковых бактерий, а они в свою очередь улучшению продуктивных и товарных качеств семян сои.

Список литературы:

1. Федотов В.А., Кадыров С.В. и др. Растениеводство. - М.: Лань, 2020. -325 с.
2. Шитикова А.В. Полеводство. Учебник. – М.: Лань, 2022. -198 с.
3. Характеристика сортов растений, включённых в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию: Официальное издание. – М: ФГБНУ «Росинформагротех», 2020. -490с.
4. Каталог. – М.: Компания «Сингента», 2016. – 327с.

УДК 631.86:631.445.24

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЙ АЗОТОВИТ И ФОСФАТОВИТ НА АГРОХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВЫ

Рудометова Александра Анатольевна, *магистр 2 курса кафедры агрохимии, почвоведения и химии ФГБОУ ВО УдГАУ, luzganovaaleksandra198@gmail.com*
Иудин Владимир Андреевич, *аспирант кафедры агрохимии, почвоведения и химии ФГБОУ ВО УдГАУ, vladimir@iudinva.ru*
(Научный руководитель – Бортник Татьяна Юрьевна, доктор с.-х. н., доцент, заведующий кафедрой агрохимии, почвоведения и химии ФГБОУ ВО УдГАУ, agrohim@udsau.ru)

Аннотация: *В работе изучено воздействие биологических удобрений Азотовит и Фосфатовит на озимую пшеницу сорта Италмас. Показано, что эти вещества улучшают рост растений. При совместном применении биологических удобрений отмечено снижение их эффективности, вероятно, из-за антагонистического взаимодействия компонентов. Также выявлено влияние изучаемых веществ на состав почвенной микробиоты.*

Ключевые слова: Азотовит, Фосфатовит, биологические удобрения, пшеница, дерново-подзолистая супесчаная почва, микрофлора почвы

Применение микробиологических удобрений — перспективное решение для повышения экологической устойчивости и экономической эффективности сельского хозяйства. Азотфиксирующие бактерии, являясь важным компонентом почвенной микробиоты, переводят атмосферный азот в доступные для растений формы. Однако в почвах таежного региона их содержание крайне низкое, что делает интродукцию несвойственных региону штаммов в составе удобрений возможным решением проблемы.

Примером таких микроорганизмов являются бактерии *Beijerinkia fluminensis*, содержащиеся в удобрении Азотовит, и *Paenibacillus mucilagenosus* из удобрения Фосфатовит. Последние, несмотря на выявленную азотфиксирующую способность отдельных штаммов [1], в основном способствуют переводу фосфатов в доступные формы.

Многими исследователями изучалось влияние микробиологических удобрений на рост и развитие сельскохозяйственных растений, а также на свойства почв. Питюрина И.С. изучала, как биоудобрения Азотовит и Фосфатовит влияют на продуктивность картофеля сортов Колобок, Варяг и Кумач; выявлено повышение урожайности клубней на 7,9–40,2 ц/га, а их товарность превысила контрольные значения [3].

Игнатьев А.В. с соавторами исследовали действие Азотовита и Фосфатовита при предпосадочной обработке картофеля и поливе растений в фазе бутонизации. В 2019 году, когда наблюдалась избыточная влажность, совместное использование препаратов повысило урожайность на 6,2–6,4 т/га. В условиях засухи 2020 года Азотовит оказался эффективнее, обеспечив прирост на 9,6–12,2 т/га. При этом использование двух препаратов одновременно для обработки клубней оказалось нецелесообразным, хотя такая обработка снизила содержание нитратов и повысила крахмалистость клубней [5].

Шайхутдинов Ф.Ш. и соавторы на серых лесных почвах Татарстана изучили применение Азотовита и Бактофосфина. Биопрепараты увеличивали содержание минерального азота, подвижного фосфора и калия в почве, а также улучшали её кислотный режим. Это привело к росту урожайности яровой пшеницы: на 0,36 т/га при использовании Азотовита и на 0,62 т/га — при их совместном применении. Экономическая эффективность биопрепаратов оказалась в 10,8 раз выше по сравнению с минеральными удобрениями при норме N40P40 [4].

Бортник Т.Ю. и Игнатьев А.В. изучили действие Азотовита и Фосфатовита на дерново-подзолистой почве при выращивании ячменя. Обработка семян перед посевом увеличила урожайность на 0,43–0,58 т/га, а дополнительное опрыскивание растений в фазах кущения и трубкования повысило этот показатель ещё на 0,49–0,55 т/га. Эти методы показали высокую экономическую и энергетическую эффективность [2].

Цель нашей работы – оценить влияние биологических удобрений Азотовит и Фосфатовит на развитие озимой пшеницы сорта Италмас и изучить их воздействие на почвенную микробиоту, показатели плодородия дерново-подзолистой супесчаной почвы.

Исследование влияния микробиологических удобрений Азотовит и Фосфатовит на озимую пшеницу сорта Италмас проводилось в микробиологической лаборатории на кафедре агрохимии, почвоведения и химии Удмуртского Государственного Аграрного Университета. Был поставлен модельный опыт в пластиковых сосудах в четырехкратной повторности. Для выращивания растений поддерживалась температура +21 ºC, естественное освещение.

Биологические свойства дерново-среднеподзолистой супесчаной почвы изучались методом микробиологических посевов на три среды по методу Коха с разведением почвенной суспензии (10^5). Аммонифицирующие микроорганизмы учитывались на мясопептонном агаре, актиномицеты — на крахмало-аммиачном агаре, грибы — на среде Чапека.

Агрохимические свойства почвы определялись в лаборатории агрохимии Удмуртского Государственного Аграрного Университета. Исследованы показатели: обменная кислотность (ГОСТ 26483-85), содержание гумуса (метод Тюрина, модификация ЦИНАО, ГОСТ 26213-91), подвижного фосфора (P_2O_5) и обменного калия (K_2O) (метод Кирсанова, ГОСТ Р 54650-2011).

Результаты обработаны методом дисперсионного анализа по Доспехову. Почва дерново-подзолистая супесчаная, охарактеризована как нейтральная (pH_{KCl} =6,05) с очень высоким содержанием фосфора (381 мг/кг) и повышенным содержанием калия (144 мг/кг).

Результаты биометрических исследований представлены в таблице 1. Установлено достоверное положительное влияние микробиологических удобрений Азотовит и Фосфатовит на длину надземной части растений озимой пшеницы в фазу кущения; выявлено увеличение на 53 и 55 мм соответственно, при $НСР_{05}$=39. Аналогичным образом оказывалось влияние на длину корней: увеличение составило 21 мм в каждом из случаев, при $НСР_{05}$=7 мм.

Применение удобрения Азотовит оказывало положительный эффект на среднюю массу растения, обеспечивая прибавку 0,15 г. Аналогичное положительное влияние было выявлено и при учете массы надземной и подземной частей растения. В то же время совместное применение изучаемых удобрений приводило к снижению всех показателей (за исключением длины надземной части, где изменения укладываются в статистическую погрешность).

Результаты микробиологических посевов почвенных проб на питательные среды представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние биологических удобрений на рост и развитие растений озимой пшеницы и почвенную микрофлору

Вариант	Длина растений, мм			Масса растений, г			Кол-во колоний микроорганизмов на среде, млн КОЕ/г		
	надземной части	подземной части	Общ.	надземной части	подземной части	Общ.	Чапека	МПА	КАА
Контроль (вода)	449	253	701	0,76	0,26	1,03	0,4	24,6	21,9
Азотовит	502	274	776	0,84	0,34	1,18	0,8	33,6	16,6
Фосфатовит	504	273	777	0,62	0,10	0,72	0,6	16,0	6,5
Азотовит+ Фосфатовит	452	219	671	0,42	0,21	0,62	0,3	28,2	9,7
$НСР_{05}$	34	7	39	0,01	0,01	0,02	0,1	2,3	3,4

Применение микробиологических удобрений Азотовит и Фосфатовит приводило к снижению числа КОЕ микроорганизмов, способных к развитию на крахмало-аммиачной среде; то есть снижалось количество актиномицетов. Использование Азотовита способствовало увеличению числа колоний на мясопептонном агаре (МПА) и среде Чапека.

Видовое разнообразие, изучавшееся при микроскопировании препаратов, полученных из колоний микроорганизмов, не имело принципиальных различий по вариантам, за исключением наличия бактерий рода Paenibacillus в варианте с использованием Фосфатовита на среде МПА.

Полученные результаты в рамках влияния на систему «удобрение-растение» в целом согласуются с иными работами [2-5]. Механизм действия микробиологического удобрения Азотовит непосредственно связан с фиксацией атмосферного азота. К сожалению, прямого подтверждения данного механизма нами не получено (ни в одном из посевов достоверно не обнаружена *B. fluminensis*), несмотря на это, имеется некое косвенное подтверждение: содержание гумуса в почве не изменилось в сравнении с исходным, при этом в контрольном варианте наблюдалась выраженная тенденция к снижению содержания гумуса, что, вероятно, связано с его минерализацией.

Закономерные изменения агрохимических показателей почвы под влиянием биологических удобрений не выявлены.

Негативный эффект от применения смеси биологических удобрений, по-видимому, связан с конкурентными взаимоотношениями между компонентами удобрений и нативными почвенными микроорганизмами. Данное предположение согласуется с обеднением микробиоты, наблюдаемом в посевах почвенных культур.

В результате проведенных исследований работы получены данные, подтверждающие позитивный эффект применения биологических удобрений Азотовит и Фосфатовит на развитие растений пшеницы мягкой сорта Италмас. Данное положительное влияние, по-видимому, определяется улучшением минерального питания растений за счет повышения биодоступности соединений азота и фосфора. Обнаружен потенциальный негативный эффект на состояние нативной микробиоты при интродукции нехарактерных видов. Косвенными методами подтверждена азотфиксация компонентами удобрения Азотовит. Подтверждены антогонистические взаимодействия между компонентами удобрений Азотовит и Фосфатовит.

Список литературы:

1. Wang D. et al. Genomic insights and functional analysis reveal plant growth promotion traits of Paenibacillus mucilaginosus G78 // Genes. – 2023. – Т. 14. – №.2. – С. 392.
2. Бортник т. Ю., Игнатьев А. В. Эффективность биологических удобрений азотовит и фосфатовит при возделывании ячменя в условиях вятско-камской провинции //плодородие. – 2021. – №. 5 (122). – с. 80-83.
3. Питюрина И. С. Влияние биоудобрений на продуктивность и морфологические признаки интенсивных сортов картофеля, выращенных в условиях Нечерноземной зоны //Вестник аграрной науки. – 2024. – №. 3 (108). – С. 26-32.
4. Шайхутдинов Ф. Ш. и др. Эффективность применения бактериальных удобрений Азотовит и Бактофосфин на серых лесных почвах Республики Татарстан //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – №. 3 (23). – С. 29-34.
5. Эффективность биологических удобрений Азотовит и Фосфатовит при возделывании картофеля на дерново-подзолистых почвах Удмуртской Республики / А.В. Игнатьев [и др.] //Пермский аграрный вестник. – 2021. – №. 2 (34). – С. 31-41.

Секция 2.
Биология и эколого-географические закономерности почвенного микробиома. Роль микроорганизмов в почвообразовании и эволюции почвенного покрова естественных, антропогенных и сельскохозяйственных экосистем

УДК 631.4

МЕЛИОРАЦИЯ. ВЛИЯНИЕ ФОСФОГИПСА НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ И КИСЛОТНОСТЬ ПОЧВ

Артемьев Дмитрий Анатольевич, магистрант 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, artemjew.dmitrij@mail.ru

Аннотация: *Статья посвящена влиянию фосфогипса на почву, изменению ее микробиологического состава.*

Ключевые слова: фосфогипс, микроэлементы, качество, кислотность, засоленность, структура почв.

Мелиорация – комплекс мероприятий, направленных на улучшение качественного состава почв. Фосфогипс является отличным мелиорантом, так как содержит до 38% Ca, которые способствует структурированию почв, снижению ее плотности и засоления, насыщает фосфором и серой. (https://avatars.mds.yandex.net/i?id=361e62c06929ccc741ec7d119a40bfa0_l-5269624-images-thumbs&n=13).

Рисунок.

Фосфогипс незаменим для мелиорации солонцовых и солонцеватых почв, так как при внесении его в почву происходит вытеснение из почвенного поглощающего комплекса ионов Na и замена их ионами Ca.

В результате:

- улучшаются физические и физико-химические свойства почвы;
- облегчается ее обработка;
- улучшается аэрация.

Преимущества фосфогипса в мелиорации:

- доступность;
- дешевизна;
- длительное последействие – фосфогипс вносится один раз в несколько лет;
- безопасность.

Таблица

Химический состав фосфогипса:

Наименование	**% содержания**
SO3	30
AlO3	5
SiO2	25
H2O	25
CaO	10
F	1
Fe2O3	2
P2O5	2

В качестве мелиоранта фосфогипс рекомендуется вносить в объеме 4-25 т/га 1 раз в 5-6 лет. Наиболее точные схемы и дозировки внесения рассчитываются в зависимости от состава почвы после проведения агрохиманализа.

Фосфогипс выступает не только мелиорантом, так же способствует насыщению почвы элементами питания, особенно серой, дефицит которой наблюдается в Российской Федерации во многих местах. Сера помогает растениям усваивать макро- и микроэлементы из почвы и удобрений, принимает участие в метаболических процессах и фотосинтезе. Помимо серы, фосфогипс содержит кальций, влияющий на формирование клеточных стенок и обеспечивающий активность ферментов, и небольшое количество фосфора, который благотворно влияет на развитие сильной корневой системы.

Фосфогипс, благодаря наличию в нем множества необходимых элементов, используется на различных видах почвы для улучшения плодородности. Используемые технологические схемы внесения фосфогипса на солонцовых почвах способствуют их рассолонцеванию и расщелачиванию, а использование на деградированных почвах и рисовых системах ведет к повышению запасов подвижных форм фосфора (Бекбаев Р., 2017; Калиниченко В. П., 2017) [1]. При внесении 1 т/га фосфогипса нейтрализованного в качестве сложнокомпонентного органоминерального удобрения в почву, примерно, поступает (кг): Ca —

265, S — 215, P2O5– 20 и SiO2– 9,8 (Шеуджен А. Х., Бондарева Т. Н., 2015) [2]. Поэтому фосфогипс является поликомпонентым удобрением для сельскохозяйственных культур.

Список литературы:
1. Бекбаев, Р. Мелиоративная эффективность фосфогипса на орошаемых землях бассейна рек Аса-Талас / Р. Бекбаев // Международный сельскохозяйственный журнал. – 2017. – №1. – С. 2.
Калиниченко В. П., 2017
2. Шеуджен А. Х., Онищенко Л. М., Бондарева Т. Н., Есипенко С. В. Фосфогипс нейтрализованный — высокоэффективное поликомпонентное удобрение на посевах зерновых культур // Тр. КубГАУ, 2015. No 1(52). С. 2.

УДК 332.368

Оценка активности почвенной микробиоты в рекультивируемых почвах

Барабанов Илья Вячеславович, *студент 4 курса Института Мелиорации Водного Хозяйства и Строительства имени А.Н. Костякова, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Ilya1381@yandex.ru*
Домашенков Денис Александрович*, студент 4 курса Института Мелиорации Водного Хозяйства и Строительства имени А.Н. Костякова, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, domashenkovdenis@mail.ru*
(Научный руководитель – Таллер Евгений Борисович, к.с-х.н., доцент кафедры экологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, etallereb@rgau-msha.ru)

Аннотация: *в статье рассматривается полевой метод определения активности почвенной микробиоты, путем определения целлюлозолитической активности почвы и соответственно представлены по ней результаты. Также представлена схема рекультивации загрязненной почвы органическими и неорганическими рекультивантами.*

Ключевые слова: почвенная микробиота, активность почвенной микробиоты, рекультивируемые почвы.

В настоящее время в сельском хозяйстве довольно актуальным является поиск эффективного метода рекультивации почв после применения технологий интенсивного земледелия, связанных с внесением значительных доз различных агрохимикатов

Рекультивация почв — это комплекс мер и мероприятий по восстановлению плодородия почв, экологического состояния почв для дальнейшего целевого использования и производства экологической безопасной продукции.[2]

Активность почвенной микробиоты -это интенсивность биологических процессов в почве, она зависит от наличия или поступления в почву органического вещества. Почвенная микробиота, обеспечивает нормальное функционирование почвы, очищая её от органических и неорганических загрязнителей (пестициды, тяжелые металлы, ксенобиотики, ПАВ). От жизнедеятельности почвенной микробиоты во многом зависит плодородие почв. Один из вариантов определения активности почвенной микробиоты – это полевой метод определения целлюлозолитической активности почв.

Об эффективности проведенных рекультивационных работ можно судить по микробиологической активности почв. Для выяснения этого вопроса был заложен полевой опыт на производственной базе ВНИИА им. Д.Н. Прянишникова в Домодедовском районе, Московской области.

Цель опыта – изучить эффективность действия фосфогипса, известковой муки и навоза крупного рогатого скота (далее КРС) по показателю целлюлозолитической активности загрязненных агрохимикатами почв.
Перед закладкой опыта был проведен агрохимический анализ почвы, было также установлено остаточное количество пестицидов и содержание тяжелых металлов. Был произведен расчет количества вносимых органических и неорганических рекультивантов. Опыт был заложен на трёх участках, по 18 делянок с шестью вариантами внесения рекультивантов. Размер делянки 2,5 х 4 метра. В таблице представлена схема опыта.

Таблица – Схема опыта

1 вариант: навоз КРС 30т/га	Известь 3т/га	контроль
2 вариант: навоз КРС 30т/га+ известь 1,5т/га	Фосфогипс 3т/га	навоз КРС 30т/га
3 вариант: навоз КРС 30т/га+ фосфогипс 1,5т/га	контроль	навоз КРС 30т/га+ известь 1,5т/га
4 вариант: известь 3т/га	навоз КРС 30т/га	навоз КРС 30т/га+ фосфогипс 1,5т/га
5 вариант: фосфогипс 3т/га	навоз КРС 30т/га+ известь 1,5т/га	Известь 3т/га
6 вариант: контроль	Навоз КРС 30т/га+ фосфогипс 1,5т/га	Фосфогипс 3т/га

Целлюлозолитическая активность почв оценивалась по методу Д.С. Звягинцева. Метод основан на определении интенсивности разложения льняной ткани, помещенной в почву на определенный промежуток времени. Количество ткани, разложившееся за время опыта, используется как показатель целлюлозолитической активности почвы. Ткань помещалась в почву на глубину 10 см на 30 суток, по всем шести вариантам на 18 делянках.

Для агроэкосистем Д.С. Звягинцевым предложена шкала интенсивности разрушения клетчатки: целлюлозолитическая активность в полевых условиях, в % очень слабая <10; слабая –10-30; средняя, – 30-50; сильная – 50-80; очень сильная >80%. [3]

Результаты полевого исследования по определению целлюлозолитической активности почв показали, по вариантам опыта следующие значения:

1 вариант: делянка с навозом КРС – 29,1%, следовательно, целлюлозоразрушающая способность почвы слабая.

2 вариант: делянка с навозом КРС + известь – 31,9%, следовательно, целлюлозоразрушающая способность почвы средняя.

3 вариант: делянка с навозом КРС + фосфогипсом- 31,8%, следовательно, целлюлозоразрушающая способность почвы средняя.

4 вариант: делянка с известью – 27,1%, следовательно, целлюлозоразрушающая способность почвы слабая.

5 вариант: делянка с фосфогипсом – 26,37%, следовательно, целлюлозоразрушающая способность почвы слабая.

вариант: делянка с контролем – 18,3%, следовательно, целлюлозоразрушающая способность почвы слабая.

Коэффициент вариации составил 6-8%, что значит степень рассеивания данных считается незначительной.

Можно заключить, что делянки куда вносился навоз КРС + известь и навоз КРС + фосфогипс, показали большие значения целлюлозолитической активности почв, это, видимо, обусловлено тем, что органическое вещество навоза - хорошо доступный источник пищи и энергетический материал для почвенной микрофлоры, поэтому усиливаются микробиологические процессы в почве. В целом, если сравнивать результаты по целлюлозоразрушающей способности с контролем, то видно, что везде, где вносились рекультиванты – микробиологическая активность увеличивается. Это в определенной степени позволяет считать, что рекультивация загрязненных почв путем внесения органических, неорганических и комбинируемых рекультивантов будет эффективной.

Список литературы:

1. Агафонова В. А., Попова В. П. Перспективы применения методов почвенной метагеномики для определения качества почв садовых ценозов //Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2021. – №. 67. – С. 203-225.
2. Евдокимова Г. А. Почвенная микробиота как фактор устойчивости почв к загрязнению //Теоретическая и прикладная экология. – 2014. – №. 2. – С. 17-24.
3. Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы. – МГУ, 1987. 256 с.

УДК 631.4

ОЛИГОТРОФИКАЦИЯ ПОЧВЕННОЙ ЭКОСИСТЕМЫ, КАК МЕТОД УПРАВЛЕНИЯ ПОЧВЕННЫМ МИКРОБНЫМ СООБЩЕСТВОМ; ПОИСК ПОДХОДОВ И ИНДИКАТОРОВ ДЛЯ НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ПРОЦЕССАМИ

Батуев Д.И., *магистрант, биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, BatuevDI@my.msu.ru*
Семенов А.М., *д.б.н., доцент, в.н.с., биологический факультет, кафедра микробиологии, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, amsemenov@list.ru*
Семенов В.М., *д.б.н., доцент, с.н.с., Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, v.m.semenov@mail.ru*

Семенов М.В., *к.б.н., с.н.с., Федеральный Исследовательский Центр, Почвенный институт имени В.В. Докучаева, semenov_mv@esoil.ru*

Аннотация. *Представлены некоторые микробиологические и молекулярно-биологические методы анализа почвенного микробного сообщества, после изменения трофического статуса почвенной экосистемы - олиготрофикации, как способ управления почвенным микробным сообществом.*

Ключевые слова: олиготрофикация, почвенные экосистемы, микробные сообщества, qPCR, Дыхание почвы.

Олиготрофикация – это процесс преобразования почвенных экосистем (ПЭ), включая агроэкосистемы в состояние, характеризующееся низкой концентрацией доступных легкоусвояемых биофильных элементов (как азот, фосфор, калий и даже углерод), но высоким общим содержанием этих и других элементов, а также высоким разнообразием и обилием сапротрофной микробиоты (Semenov,1991; Seneckin et al., 2010;). Процесс направлен на создание устойчивых и здоровых почвенных экосистем, которые более устойчивы к нарушающим воздействиям и более эффективно конкурентно подавляют фитопатогенные и другие паразитарные микроорганизмы благодаря доминированию сапротрофов (Семенов и соавт. 2016). Управление экосистемами, включая почвенные, условиями их трофики (олиготрофикации), представляет собой сложный и важных процесс, влияющий на биологическое разнообразие, т. е., «через» биоразнообразие и изменение устойчивости экосистем к природно-климатическим и антропогенным воздействиям (Семенов и соавт. 2011). Исследование направлено на оценку последствий изменения трофики ПЭ как путем внесения различных органических или минеральных воздействий на микробные сообщества ПЭ - эвтрофикация, так и поведения обратного процесса - олиготрофикация. Анализ заключался в количественной оценке в исследуемых вариантах, численности бактерий, архей и микромицетов методом qPCR и оценке активности микробных сообществ в виде базального и субстрат-индуцированной дыхательной активности почвы.

Цель сообщения: наиболее общими микробиологическими методами выявить реакцию почвенного микробного сообщества на изменения трофического статуса почвенной экосистемы в виде длительной олиготрофикации.

Анализу подверглись почвенные образцы из различных вариантов многолетнего эксперимента, которые в настоящее время подвергаются олиготрофикации. Такие почвы с 2011 по 2019 год сначала экспериментально подвергались эвтрофикации. С 2019 года, т.е., 5 лет назад, прекращено внесения органических веществ и минеральных элементов в эти ПЭ и тем самым проводилась олиготрофикация. Виды органических веществ и минеральных элементов, вносимых в почву ежегодно в для эвтрофикации, и их дозировки были такими: контроль (без внесения органических веществ и минеральных элементов); дозы вносимых минеральных элементов: N1P1K1 (N90P75K100); N2P2K2 (N180P150K200); N3P3K3 (N270P225K300); N4P4K4 (N360P300K400); дозы вносимых органических веществ: 25т/га; 50т/га; 75т/га; 100т/га. (Семенов и соавт. 2023)

Были применены методы: определение субстрат-индуцированного дыхания; базального дыхания; определение qPCR.

Наблюдения за активностью микробных сообществ почв осуществляли методом субстрат-индуцированного дыхания (СИД). Образцы почвы инициировались с глюкозой (10 мг/г почвы). Интенсивность выделения СО2, анализировались газохроматографически с последующим расчетом СИД. Для определения базального дыхания (БД) образцы почвы инициировали внесением воды, СО2 определяли также газохроматографически. Для проведения qPCR из почвенных образцов была выделена ДНК, проведено секвенирование, с получением количественных значений численности архей, бактерий, грибов в исследуемых вариантах.

Полученные результаты показали, что микробная активность, определяемая как СИД, на момент завершения эвтрофикации (2019г.) в вариантах с внесением минеральных элементов демонстрировала снижение интенсивности СИД. Это снижение было пропорционально увеличению вносимых концентраций минеральных добавок (эвтрофикация). В этих почвах, подвергавшихся пятилетней олиготрофикации (2019-2024гг.) наблюдалось восстановление СИД до уровня контроля. В участках подвергавшихся эвтрофикации за счет внесения органических веществ, произошло, на момент завершения эвтрофикации(2019г.), существенное повышение интенсивности СИД, но при проведении пятилетней олиготрофикации уровень СИД снизился, однако он остался выше контрольных значений, что можно объяснить накоплением органического вещества в этих участках и увеличением количества микроорганизмов (табл).

Результаты БД демонстрируют, что длительная эвтрофикация почв минеральными добавками не привела к каким-то изменениям БД, но в результате олиготрофикации наблюдается какое-то увеличение БД в почвах подвергавшихся минеральной эвтрофикацией. Участки, подвергавшиеся эвтрофикации органическими веществами к 2019 году, показали колоссальный рост БД, коррелирующий с увеличением концентрации органических добавок, как это наблюдалось при определении СИД. Однако после пятилетней олиготрофикации, показатели БД снизилась до уровня контроля, что не наблюдалось при определении СИД.

Количественный анализ микробных популяций (архей, бактерий), полученный методом qPCR, на момент завершения эвтрофикации минеральными элементами выявил, что с увеличением концентрации минеральных элементов численность бактерий и архей снизилась (рис). Однако, после пятилетней олиготрофикации этих же участков, численность архей значительно возрастает, превышая контрольные показатели, в то время как количество бактерий остается примерно на одном уровне. Определение численности архей и бактерий при эвтрофикации почв органическими веществами показала значительное увеличение численности архей, как и бактерий, с увеличением концентрации вносимой органики. После пятилетней олиготрофикации отмечается незначительно снижение количества архей, но значительно снижение количества бактерий.

Результаты анализа микромицетов методом qPCR показали, что их реакция на минеральную эвтрофикацию, как и на органическую, аналогична реакции бактерий, то есть при увеличении концентраций минеральных добавок численность микромицетов остается на уровне контрольных значений, тогда как при внесении органических добавок наблюдается значительный рост численности микромицетов. При олиготрофикации почв, независимо от того, была ли она вызвана минеральной или органической эвтрофикацией, практически восстановила численность микромицетов до контрольного уровня.

Таблица

Численное значение СИД на момент завершения эвтрофикации(2019г.) и после пятилетней олгитрофикации(2024г.)

Года / Показатели	**2019**		**2024**	
	СИД, мкг С-СО2/г почвы/ч	ст. отклонение	СИД, мкг С-СО2/г почвы/ч	ст. отклонение
Контроль	236,65	23,04	274,27	66,01
N1P1K1	214,10	18,44	249,82	46,05
N2P2K2	134,01	12,93	224,46	37,68
N3P3K3	116,82	8,00	227,52	11,80
N4P4K4	121,48	3,99	199,67	0,15
ОргВещ. 25 т/га	423,96	23,60	316,11	12,04
ОргВещ. 50 т/га	459,51	21,16	318,98	8,15
ОргВещ. 75 т/га	647,44	36,69	425,00	50,46
ОргВещ. 100 т/га	849,93	104,55	329,14	51,73

Таким образом, применяемые методы для выявления и оценки результатов олиготрофикации почвенных экосистем позволяют определить изменения, происходящие в почвенных экосистемах. Определение дыхательной активности позволяет оценивать текущие процессы в почвенных экосистемах. Метод qPCR помогает выявлять изменения в микробном сообществе, накопление результатов аналогичных исследований создаст основу для прогнозирования развития почвенных экосистем. В целом, метод управления почвенными микробными сообществами через их трофику, например, олиготрофикацию почвенных экосистем, можно отнести к применимым и результативным.

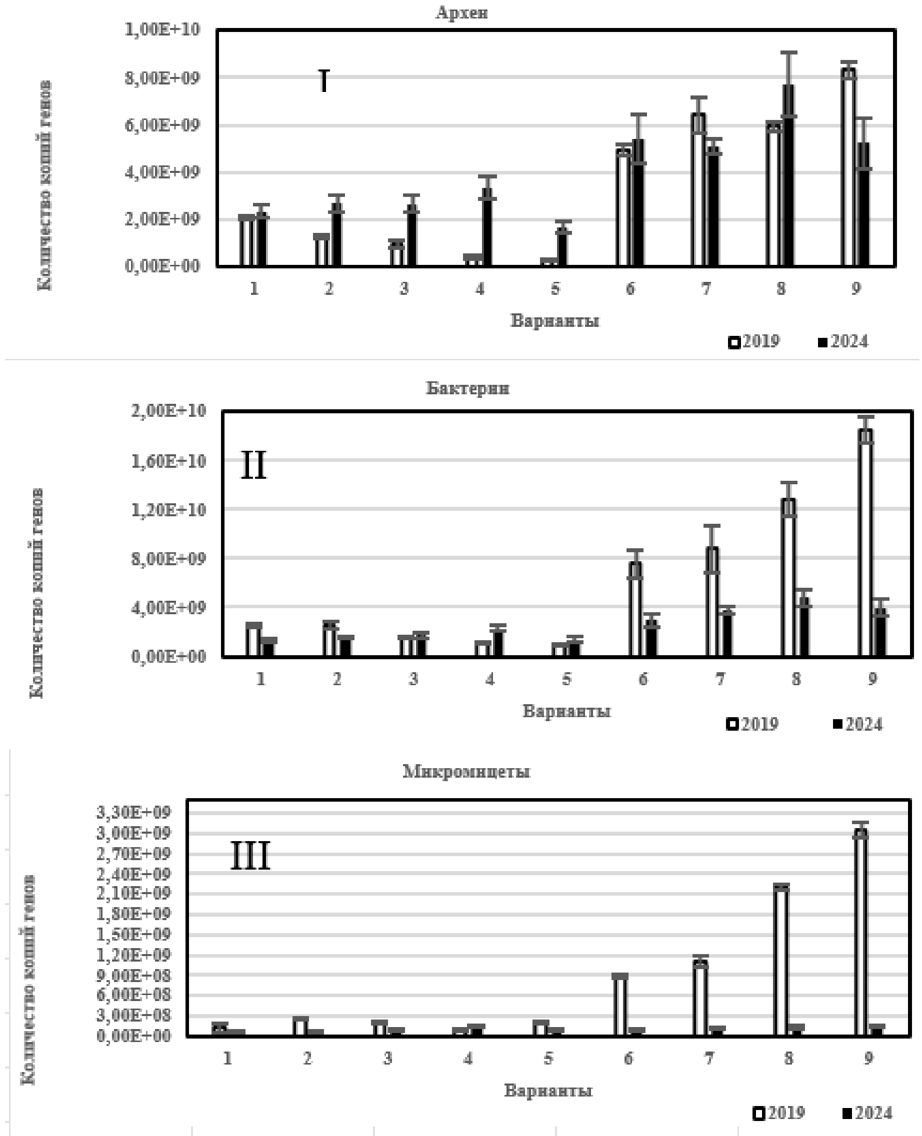


Рис. Соотношение численностей архей (I), бактерий (II) и микромицетов (III) в почвенных образцах в 2019г., и 2024 г., где 1 – Контроль, без внесения веществ. 2 - N1P1K1 (N90P75K100). 3 - N2P2K2 (N180P150K200). 4 - N3P3K3 (N270P225K300). 5 - N4P4K4 (N360P300K400). 6 - Органические добавки, 25 т/га. 7 – орг. добавки, 50 т/га. 8 – орг. добавки, 75 т/га. 9 – орг. добавки, 100 т/га.

Список литературы:

1. Семенов А. М., Семенов В. М., ван Бругген А.Х.К. Диагностика здоровья и качества почвы // Агрохимия. 2011. № 12. С. 4–20.
2. Семенов А. М., Глинушкин А.П., Соколов М. С. Органическое земледелие и здоровье почвенной экосистемы // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30. № 8. С. 5–8.
3. Семенов В. М., Лебедева Т. Н., Зинякова Н. Б., Соколов Д. А., Семенов М. В. Эвтрофикация пахотной почвы: сравнительное влияние минеральной и органической систем удобрения // Почвоведение. 2023. № 1. С. 58–73.
4. Semenov A.M. Physiological bases of oligotrophy of microorganisms and concept of microbial community // Microbial Ecology. 1991. V. 22. 3. 239–247.

5. Senechkin I. V., Speksnijder A. G. C. L., Semenov A. M., . van Bruggen A. H. C.,. van Overbeek L. S. Isolation and Partial Characterization of Bacterial Strains on Low Organic Carbon Medium from Soils Fertilized with Different Organic Amendments. Microb Ecol. 2010. V. 60. № 4. P. 829-839.
6. Craine J.M., Elmore A.J., Wang L., Aranibar J. Isotopic evidence for oligotrophication of terrestrial ecosystems // Nature Ecology & Evolution. 2018. V. 2. № 11. P. 1735-1744. doi: 10.1038/s41559-018-0694-0. Epub 2018 Oct 22. PMID: 30349095.

УДК 631.363

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛРТУТИ НА МИКРООРГАНИЗМЫ И РАСТЕНИЯ: МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧНОСТИ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ

Богданова Дарина Сергеевна, *магистр 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, di300910@gmail.com*
Лебедева Ангелина Дмитриевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, lebedeva.angelina13@mail.ru*
Ершова Виктория Дмитриевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, yershova_2004@mail.ru*
Волобуева Ольга Гавриловна, *д.с.-х.н., доцент, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ovolobueva@rgau-msha.ru*

Аннотация: *статья посвящена изучению воздействия метилртути (MeHg), одной из наиболее токсичных форм ртути, на микроорганизмы и растения. Рассматриваются механизмы токсичности MeHg, её накопление в биологических организмах, влияние на метаболизм, рост и развитие, а также экологические последствия загрязнения этой формой ртути.*

Ключевые слова: метилртуть, токсичность, микроорганизмы, растения, биоаккумуляция, биомагнификация, метаболизм, рост, развитие, экосистема.

В современном мире существует большая проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами. Одним из таких является ртуть (Hg). Выделяют следующие формы ртути:

1. Элементарная ртуть (Hg): это жидкий металл при комнатной температуре;
2. Неорганические соединения ртути:
   - Ртуть (I) (Hg_2^{+2}): соединения, в которых ртуть имеет степень окисления +1. Например, хлорид ртути (I) (Hg_2Cl_2);
   - Ртуть (II) (Hg_2^{+}): соединения, в которых ртуть имеет степень окисления +2. Например, хлорид ртути (II) ($HgCl_2$).

3. Органические соединения ртути:
   - Метилртуть (CH_3Hg^+): одна из самых токсичных форм ртути, которая легко накапливается в живых организмах;
   - Диметилртуть (CH_3HgCH_3): ещё одна токсичная форма, но менее распространенная, чем метилртуть.
4. Другие органические соединения ртути: этилртуть.

Одной из форм ртутной модификации является метилртуть (MeHg), обладающая высокой токсичностью и способностью к биоаккумуляции и биомагнификации в различных природных экосистемах.

Метилртуть представляет собой металлоорганический катион с формулой $[CH_3Hg]^+$, и является одним из наиболее токсичных форм, которая легко всасывается живыми организмами (микроорганизмами, растениями, животными и человеком), накапливаясь в их тканях, перемещаясь по пищевой цепи. Этот процесс называется биомагнификацией [1]. Он обладает высокой липофильностью, что позволяет метилртути легко проникать через клеточные мембраны и накапливаться в жировых тканях. В организме она взаимодействует с белками и ферментами, нарушая их функционирование. Также может повреждать ДНК, что приводит к мутациям и канцерогенным эффектам.

Метилртуть влияет на метаболизм, рост и развитие микроорганизмов и растений, что может приводить к нарушению функционирования экосистем. На растения метилртуть воздействует также в качестве подавителя развития и роста, нарушая фотосинтез и транспорт питательных веществ.

Это может приводить к снижению урожайности и изменению состава растительных сообществ.

Для людей существует не менее серьезная опасность ртутной интоксикации. Подвергаться воздействию ртути, человек может через её пары, а также продукты питания. Наибольшее содержание метилртути выявлено в представителях гидробионтах [2]. К ним относятся рыбы, кишечнополостные (губки, стрекающие), иглокожие, большая часть ракообразных и моллюсков. При частом употреблении в пищу водных объектов, у человека может появится ртутная интоксикация, ведущая к серьезным проблемам со здоровьем.

Существуют различные источники ртутного загрязнения. К ним относятся: промышленность, сельское хозяйство, автомобильный транспорт.

При попадании в окружающую среду, ртуть оседает на дне водоемов в донных отложениях, где под действием бактерий преобразуется в органическое соединение - диметилртуть C_2H_6Hg, которая является одним из самых сильных нейротоксинов (поражают нервную систему). Далее диметилртуть переходит метилртуть $[CH_3Hg]^+$. Наличие одной или двух метильных групп повышает растворимость ртути в органических веществах.

В результате накопления, водные обитатели аккумулируют метилртуть, продвигая её дальше по пищевой цепи. Чем выше особь находится в трофические цепи, тем выше концентрация MeHg в её теле. Накопление металла происходит в основном во внутренних органах и в мышечной ткани.

В конце цикла метилртуть улетучивается в атмосферу, где может превращаться в монометилртуть [CH_3Hg] и элементарную ртуть (Hg), которые выпадают вместе с дождевыми осадками и возвращаются в водоемы.

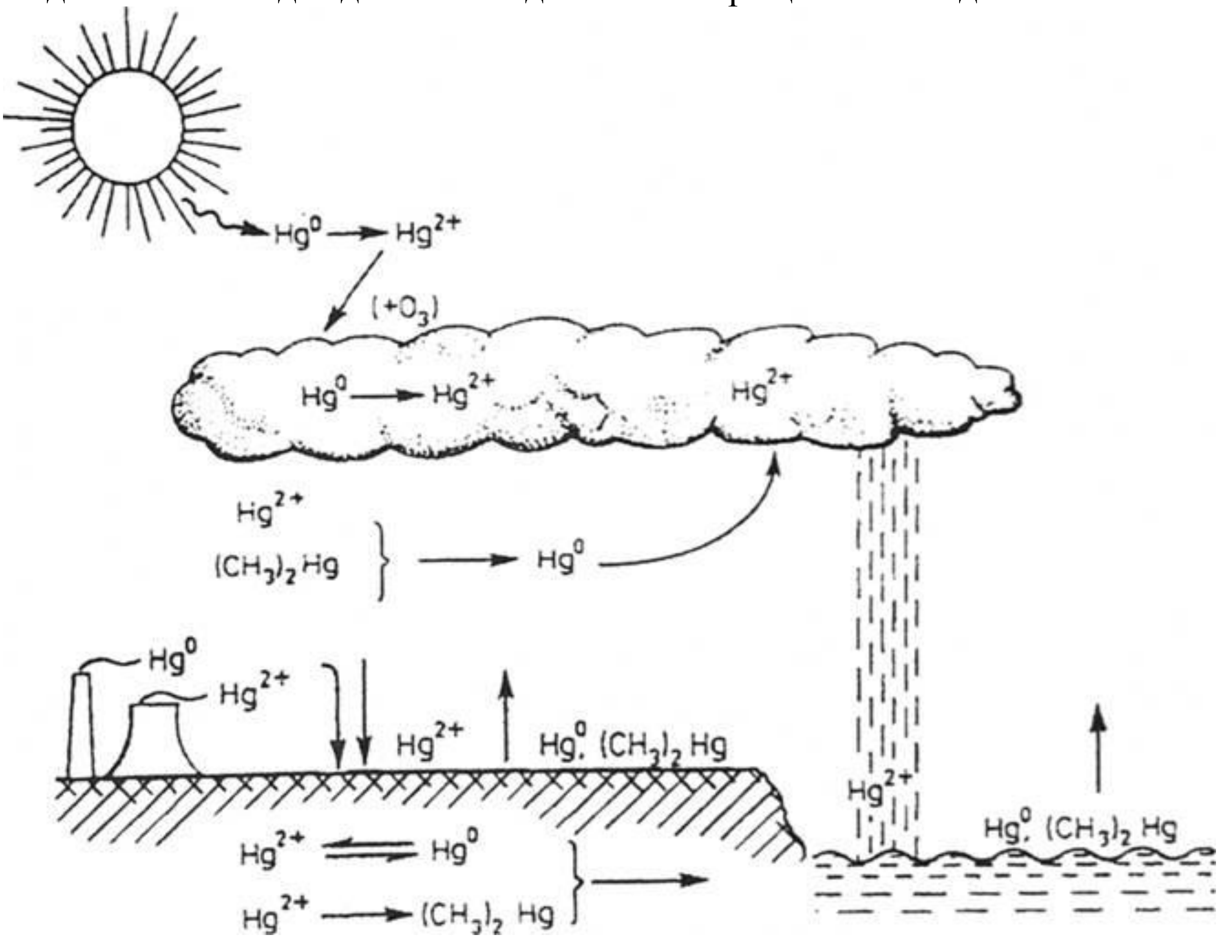


Рис. Круговорот ртути в биосфере

Таким образом, загрязнение водных объектов ртутью представляет серьезную угрозу для экологии. В связи с этим, для решения этой проблемы необходимы комплексные меры, направленные на снижение антропогенного воздействия ртути на окружающую среду.

Список литературы:

1. Багаева Т.В., Ионова Н.Э., Надеева Г.В. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов: учеб.-метод. пособие / Т.В. Багаева, Н.Э. Ионова, Г.В. Надеева. – Казань: Казанский университет, 2013 – 56 с.

2. Крупина М.А., Иванова Д.С. Распределение ртутного загрязнения на территории Вологодской области // Материалы Международной научной конференции. В 3-х томах. Главный редактор С.Ф. Митенева. - Вологда: Вологодский государственный университет (Вологда), 2021. – 475 – 476 с.

3. Теплая, Г.А. Тяжелые металлы как фактор загрязнения окружающей среды (обзор литературы) / Астраханский вестник экологического образования. – 2013. – №1. – 182 – 192 с.

УДК 631.4

ОЦЕНКА И СРАВНЕНИЕ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ *BACILLUS VELEZENSIS* В ОТНОШЕНИИ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM*

Зинченко Анастасия Алексеевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, anasteishazin4enko@yandex.ru*

Жевнова Наталья Андреевна, *к.б.н., с.н.с. лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР, n.zhevnova@mail.ru*

Аллахвердян Валерия Вазгеновна, *м.н.с. лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР, lera_arm@mail.ru*

Евтушенко Анастасия Георгиевна, *студент 2 курса магистратуры биологического факультета ФГБОУ ВО КубГУ, vtshnk@yandex.ru*

Осипян Артур Анатольевич, *студент 2 курса магистратуры биологического факультета ФГБОУ ВО КубГУ, arti.osipyan01@mail.ru*

Аннотация: *По результатам настоящего исследования было выявлено, что штамм B. velezensis BZR 277 проявляет наибольшую антифунгальную активность в отношении следующих грибов: F. graminearum BZR F-4, M. nivale BZR F-5, F. oxysporum BZR F-6 и F. sporotrichioides BZR F-40. Методом тонкослойной хроматографии были выявлены соединения фенольной природы, а также циклические липопептиды.*

Ключевые слова: *Bacillus velezensis, Fusarium,* антифунгальная активность, тонкослойная хроматография, метаболомный профиль.

Введение

Грибы из рода *Fusarium* широко распространены на сельскохозяйственных угодьях по всему миру. Они поражают корни, стебли, колосья и початки, что приводит к снижению урожайности и ухудшению качества зерна. Более того, эти грибы производят различные трихотеценовые микотоксины (например, дезоксиниваленол, зеараленон, фумонизин и др.), которые вредны для людей и животных.

Микроорганизмы, содержащиеся в биопрепаратах, могут обеспечивать растения питательными веществами, способствовать мобилизации макро- и микроэлементов, улучшать здоровье растений, стимулировать рост и развитие, бороться с болезнями, а также улучшать микробиологический состав и свойства почвы. Использование полезных микроорганизмов может улучшить защиту растений и предотвратить заражение несколькими патогенами. Инокуляция растений такими микробами может придать устойчивость к спектру патогенов или вредителей [3].

Целью данной работы является определение антифунгальной активности штаммов-антагонистов перспективных для создания биопрепарата для защиты злаковых культур от болезней, вызванных грибами рода *Fusarium*.

Материалы и методы исследования

В исследовании были использованы штаммы микроорганизмов из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов».

Объектами исследования послужили штаммы *Bacillus velezensis* BZR 277 и *Bacillus velezensis* BZR 519.

В роли патогенов были использованы следующие штаммы: *Fusarium graminearum* BZR F-4, *Microdochium nivale* BZR F-5, *Fusarium oxysporum* BZR F-6 и *Fusarium sporotrichioides* BZR F-40.

Для оценки антифунгальной активности бактериальных штаммов был использован метод встречных культур. В чашку Петри на агаризованную питательную среду высевали агаровый блок с мицелием патогена на расстоянии 1 см от края чашки Петри. Бактериальный штамм при этом наносили методом штриха на расстоянии 6 см от блока патогена. Культуры инкубировали при температуре +28 °С. Варианты опыта были сделаны в трехкратной повторности. Учеты проводили на пятые, десятые, пятнадцатые и двадцатые сутки культивирования. Статистическую обработку данных проводили с применением критерия Дункана многофакторного дисперсионного анализа с помощью пакета программ STATISTICA 13.2.

Для определения метаболомного профиля был использован метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Бактериальные экзометаболиты выделяли путем экстракции этилацетатом (х.ч.) (2:1 v/v) супернатанта, полученного после центрифугирования жидкой культуры бактерий на центрифуге 5810R при 10 тыс.об./мин в течение 30 мин, на ротационном шейкере New Brunswick Scientific Excella E25 в течение 1 ч. После разделения органической и водной части этилацетат упаривали досуха на ротационном вакуумном испарителе IKA RV10 при температуре 40°С. Сухой остаток растворяли в минимальном количестве этилацетата. Полученный раствор был проанализирован методом восходящей тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием кизельгелевых ТСХ-пластин (толщина слоя 2 мм) Merck, подвижная фаза: гексан – этанол 1:1, высота подъема растворителя 12 см. ТСХ-пластины затем были проанализированы под ультрафиолетовым светом при длинах волн 366 нм [2].

Выявление метаболитов с антигрибной активностью проводилось методом биоавтографии. Пластины пропитывались жидкой картофельно-глюкозной средой и суспензией пропагул тест-культуры фитопатогенного гриба *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR – F6, а затем помещались во влажную камеру при температуре 28С на 48 ч. Наличие зон ингибирования роста тест-гриба свидетельствовало о присутствии антигрибных метаболитов [1].

Полученные результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований со штаммами-антагонистами *B. velezensis* BZR 277 и *B. velezensis* BZR 519 против патогенных штаммов *F. graminearum* BZR F-4, *M. nivale* BZR F-5, *F. oxysporum* BZR F-6 и *F. sporotrichioides* BZR F-40 при помощи метода встречных культур, были получены следующие результаты.

На 5-е учетные сутки бактериальные штаммы проявляли фунгистатический антибиотический антагонизм, при котором ингибирование роста колонии патогена происходит на расстоянии под воздействием антибиотических веществ (с образованием между ними пустой, “стерильной” зоны). А также штаммы активно росли навстречу патогену, то есть проявляли высокую подвижность. Наиболее эффективным на данные учетные сутки являлся штамм *B. velezensis* BZR 519. И только в варианте с *F. sporotrichioides* BZR F-40 эффективнее работал штамм *B. velezensis* BZR 277.

На 10-е учетные сутки штаммы *B. velezensis* действовали по пути фунгистатического антибиотического антагонизма, а также проявляли высокую подвижность. Однако в вариантах с *F. graminearum* BZR F-4 бактерии действовали по механизму фунгистатического алиментарного антагонизма, при котором остановка роста патогена происходит при контакте с колонией антагониста, и образования “стерильной” зоны не происходит. На этом этапе наиболее активно подавлял рост патогена штамм *B. velezensis* BZR 277. Но в варианте с *F. oxysporum* BZR F-6 эффективней действовал штамм *B. velezensis* BZR 519.

На 15-е учетные сутки штаммы бактерий-антагонистов проявляли фунгистатический антибиотический антагонизм и высокую подвижность в вариантах опыта с *F. sporotrichioides* BZR F-40. В вариантах с патогенами *M. nivale* BZR F-5 и *F. oxysporum* BZR F-6 штамм *B. velezensis* BZR 519 действовал по такому же механизму, а штамм *B. velezensis* BZR 277 проявлял фунгистатический алиментарный антагонизм. В вариантах с *F. graminearum* BZR F-4 наблюдалось нарастание мицелия гриба-патогена на бактериальные штаммы, но ещё сохранялся фунгистатический алиментарный антагонизм. Наиболее эффективным на данные учетные сутки являлся штамм *B. velezensis* BZR 277.

На 20-е учетные сутки штаммы бактерий-антагонистов сохраняли те же механизмы действия, что и на 15-е учетные сутки. Наиболее эффективным на данные учетные сутки являлся штамм *B. velezensis* BZR 277.

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием критерия Дункана в рамках многофакторного дисперсионного анализа, осуществляемого с помощью программного пакета STATISTICA 13.2. Различия признавались значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Этот критерий дает возможность оценить достоверность нашего эксперимента.

Таблица

Спектр антифунгальной активности перспективных штаммов бактерий-антагонистов

Штаммы патогенов	Рост мицелия патогена, см			Рост мицелия патогена в контроле
	Штаммы-антагонисты			
	Сутки	BZR 277	BZR 519	
BZR F-4	5	2,5[a]	2,8[a]	5,3[c]
	10	3,7[a]	3,4[a]	8,0[b]
	15	3,9[a]	3,5[a]	9,0[b]
	20	4,2[a]	4,1[a]	9,0[b]
BZR F-5	5	2,7[a]	2,9[b]	3,1[b]
	10	3,4[a]	3,3[a]	8,0[b]
	15	3,5[a]	3,3[a]	8,0[b]
	20	3,7[a]	3,3[a]	8,0[b]
BZR F-6	5	1,6[a]	2,7[b]	3,0[b]
	10	2,2[a]	3,6[b]	6,8[d]
	15	3,5[a]	3,5[a]	7,7[c]
	20	3,8[a]	3,7[a]	7,9[c]
BZR F-40	5	3,5[a]	3,2[a]	3,9[a]
	10	3,9[a]	3,3[a]	8,0[b]
	15	4,0[a]	3,2[a]	8,0[b]
	20	4,1[a]	3,3[a]	8,0[b]
- Разные буквы в контроле и варианте указывают на достоверные различия ($p < 0,05$) по критерию				

После проведения теста Дункана мы можем утверждать, что полученные нами данные достоверны и могут быть использованы для дальнейшего анализа.

Исходя из полученных нами данных, можно сделать вывод о том, что после учета на 20-е сутки культивирования более эффективным штаммом-антагонистом против следующих патогенов *F. graminearum* BZR F-4, *M. nivale* BZR F-5, *F. oxysporum* BZR F-6 и *F. sporotrichioides* BZR F-40 являлся бактериальный штамм *B. velezensis* BZR 277.

Для определения метаболомного профиля исследуемых бактериальных штаммов были использованы метод тонкослойной хроматографии и метод биоавтографии.

В результате анализа хроматограмм образцов под ультрафиолетовым светом (366 нм) можно сделать вывод о присутствии в этилацетатных экстрактах супернатантов ЖК бактерий *B. velezensis* BZR 277 и *B. velezensis* BZR 519 соединений фенольной природы (голубое свечение) (Rf 0,52-0,60), а также циклических липопептидов (зеленое свечение) (Rf 0,82-0,90).

На биоавтограммах всех вариантов опыта с тест-культурой гриба F. oxysporum var. orthoceras BZR F-6 обнаруживалась довольно значительная по площади зона полного подавления роста тест-гриба (фунгицидность) (Rf 0,94-0,98) (неидентифицированные антигрибные соединения).

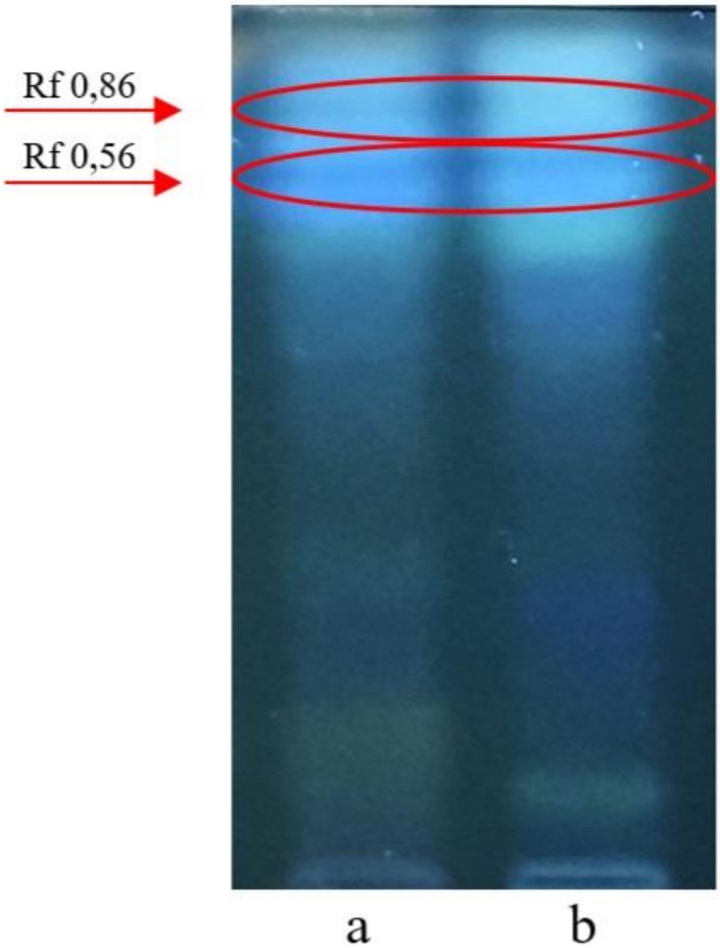


Рисунок - Тонкослойные хроматограммы метаболитов бактерий под ультрафиолетом 366 нм (а - *B. velezensis* BZR 277, b - *B. velezensis* BZR 519)

Вывод

По результатам проведенного опыта, по оценке антифунгальной активности бактериальных штаммов методом встречных культур, на 20-е учетные сутки наиболее эффективным против следующих патогенов: *Fusarium graminearum* BZR F-4, *Microdochium nivale* BZR F-5, *Fusarium oxysporum* BZR F-6 и *Fusarium sporotrichioides* BZR F-40 являлся штамм *Bacillus velezensis* BZR 277.

В результате анализа хроматограмм образцов был сделан вывод о присутствии в этилацетатных экстрактах супернатантов ЖК бактерий *Bacillus velezensis* BZR 277 и *Bacillus velezensis* BZR 519 соединений фенольной природы, а также циклических липопептидов.

На биоавтограммах всех вариантов опыта с тест-культурой гриба *Fusarium oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6 были обнаружены довольно значительные по площади зоны неидентифицированных антигрибных соединений.

Список литературы:

1. Аллахвердян В. В., Сидорова Т. М., Асатурова А. М. Перспективные штаммы бактерий рода Bacillus в защите растений от возбудителей фузариоза и контаминации микотоксинами // Юг России: экология, развитие. 2022. №2 (63).
2. Сидорова Т. М., Асатурова А. М., Хомяк А. И., Томашевич Н. С. Выделение и характеристика антигрибных метаболитов штаммов Bacillus Subtilis BZR

336g и Bacillus Subtilis BZR 517 модифицированным методом биоавтографии // С.-х. биол., Сельхозбиология, S-h biol, Sel-hoz biol, Sel'skokhozyaistvennaya biologiya, Agricultural Biology. 2019. №1.
3. Asaturova A.M., Zhevnova N.A., Tomashevich N.S., Sidorova T.M., Khomyak A.I., Dubyaga V.M., Nadykta V.D., Zharikov A.P., Kostyukevich Yu.I., Tupertsev B.S. Evaluation of Bacillus velezensis biocontrol potential against fusarium fungi on winter wheat// Agronomy. 2022. Vol. 12, No. 8. P. 1956.

УДК 631.461:631.445.24

ВЛИЯНИЕ АГРОФИТОЦЕНОЗОВ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВ НА МИКРОБИОМ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Карпова Алина Юрьевна*, к. с.-х. н., доцент кафедры агрохимии, почвоведения и химии ФГБОУ ВО УдГАУ, alinap30@yandex.ru*
Кадышева Мария Эдуардовна*, магистрант 2 курса агрономического факультета ФГБОУ ВО УдГАУ, mashabulda@mail.ru*

Аннотация: *Представлены результаты изучения влияния возделывания агрофитоценозов многолетних трав на основе люцерны изменчивой на микробиом дерново-подзолистой почвы. Наибольшая урожайность сухого вещества в 2023 г. получена в травосмеси люцерны с лядвенцем (6,13 т/га), в 2024 г. – в одновидовом посеве лядвенца (7,00 т/га). Бобово-злаковые травосмеси благоприятно влияют на микробиом дерново-подзолистой почвы.*

Ключевые слова: люцерна изменчивая; травосмеси; урожайность; дерново-подзолистая почва; микробиом почвы.

Люцерна, как представитель семейства Бобовые, растёт в симбиозе с клубеньковыми бактериями, обладающими высокой способностью к фиксации атмосферного азота. Учеными доказано [3], что комбинированные посевы бобовых и мятликовых трав продлевают продуктивность агрофитоценозов относительно одновидовых посевов, так как в травосмесях биологически зафиксированный азот передаётся от бобовых компонентов к мятликовым. По данным многих учёных, многолетние травы улучшают агрофизические свойства почвы и ведут к накоплению органического вещества, в результате чего активизируются микробиологические процессы в почве [5].

Цель исследований – изучить изменение микробиома дерново-подзолистой почвы под агрофитоценозами многолетних трав 4 и 5 года пользования.

Задачи исследований:

1. Определить кормовую продуктивность агрофитоценозов многолетних трав в 4 и 5 годы пользования.
2. Выявить влияние изучаемых травосмесей на количество микроорганизмов в почве.

Материалы и методы. Исследования были проведены на опытном поле Удмуртского НИИСХ – филиала УдмФИЦ УрО РАН в 2023 [1] и 2024 г. в полевом опыте, который включает различные комбинации бобовых и мятликовых трав. За основу травосмесей взята люцерна изменчивая сорта Виктория. Травосмеси включают такие травы, как лядвенец рогатый сорта Солнышко, а также мятликовые травы – овсяница луговая сорта Свердловская 37, кострец безостый сорта Свердловский 38, фестулолиум сорта ВИК 90. Полевой опыт включает всего 9 вариантов (таблица) в четырёхкратной повторности с систематическим расположением делянок. Учётная площадь делянки на корм – 10 м^2. Уборка агрофитоценозов проводилась два раза за вегетацию: в фазе начала цветения основного компонента – люцерны изменчивой и в первой половине августа. Многолетние травы были посеяны в 2019 г., в 2023 и 2024 изучались 4-й и 5-й годы пользования травостоем.

Учёт микробиома проводили путём посева почвенной суспензии в разведении 10^5 на плотные питательные среды по методу Коха. Численность аммонифицирующих бактерий учитывалась на мясо-пептонном агаре, амилолитоков – на крахмало-аммиачном агаре, микромицетов – на среде Чапека [2].

Полевые исследования проведены на территории Завьяловского района Удмуртской Республики. Гидротермический коэффициент в 2023 г. составил 0,62 (засушливый вегетационный период), а в 2024 г. – 1,2 (достаточное увлажнение). Опыт заложен на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве. При закладке опыта почва характеризовалась следующими показателями: содержание гумуса низкое (2,2%), обменная кислотность нейтральная (pH_{KCl} 6,13), степень гидролитической кислотности очень низкая (1,42 ммоль/100 г), сумма поглощённых оснований средняя (12,96 ммоль/100 г), содержание подвижного фосфора по Кирсанову очень высокое (346 мг/кг), а подвижного калия – среднее (101 мг/кг). Почвенные образцы отбирались после второго укоса трав с помощью агрохимического бура БОП-3. Полученные данные статистически обработаны методом дисперсионного анализа по Доспехову.

Результаты исследований. Урожайность сухой массы изучаемых агрофитоценозов за 2023 и 2024 годы исследований в сумме за два укоса представлена в таблице.

Таблица

Урожайность сухой массы многолетних трав 4 и 5 г.п. в сумме за два укоса, т/га

Вариант	Урожайность сухой массы, т/га	
	2023 г.	2024 г.
1. Люцерна (к)	5,75	6,88
2. Лядвенец	4,80	7,00
3. Люцерна + лядвенец	6,13	6,68
4. Люцерна + кострец	4,80	5,99
5. Люцерна + овсяница	5,50	5,61
6. Люцерна + фестулолиум	5,03	5,76
7. Люцерна + лядвенец + кострец	5,13	5,91
8. Люцерна + лядвенец + овсяница	4,33	5,61
9. Люцерна + лядвенец +фестулолиум	4,68	5,72
$НСР_{05}$	0,52	0,49

Урожайность сухой массы травосмесей в четвёртый год пользования в сумме за два укоса составила 4,34-6,13 т/га, а в пятый год – 5,61-7,00 т/га.

В 2023 г. агрофитоценозы люцерны с лядвенцем, а также с овсяницей не обеспечили увеличения урожайности сухой массы относительно контроля – люцерны в одновидовом посеве (5,75 т/га). Остальные агрофитоценозы достоверно уменьшили продуктивность на 0,64-1,41 т/га по сравнению с контролем при $НСР_{05}$ = 0,52 т/га.

В 2024 г. получена более высокая урожайность сухой массы трав, чем в 2023 г. Это связано, в первую очередь, агрометеорологическими условиями

Однако не один из вариантов с подсевом трав существенно не повысил урожайность сухой массы в сравнении с одновидовым посевом люцерны. Наибольшую урожайность показали варианты люцерна (6,88 т/га), лядвенец (7,00 т/га) и люцерна + лядвенец (6,68 т/га). Другие изучаемые травосмеси значительно снизили продуктивность на 0,89-1,27 т/га относительно контроля при $НСР_{05}$ = 0,49 т/га.

Многолетние травы в целом благоприятно воздействуют на все свойства почвы, в том числе на её микробиом, за счёт корневых выделений и пожнивно-корневых остатков. Сочетание бобовых трав с мятликовыми способствует увеличению числа бактерий [4]. При микробиологическом исследовании использовались разные питательные среды для выявления основных групп микробиома – аммонифицирующие бактерии, амилолитики и микромицеты. На Рисунке представлена общая численность всех изучаемых групп микроорганизмов по вариантам за два года.

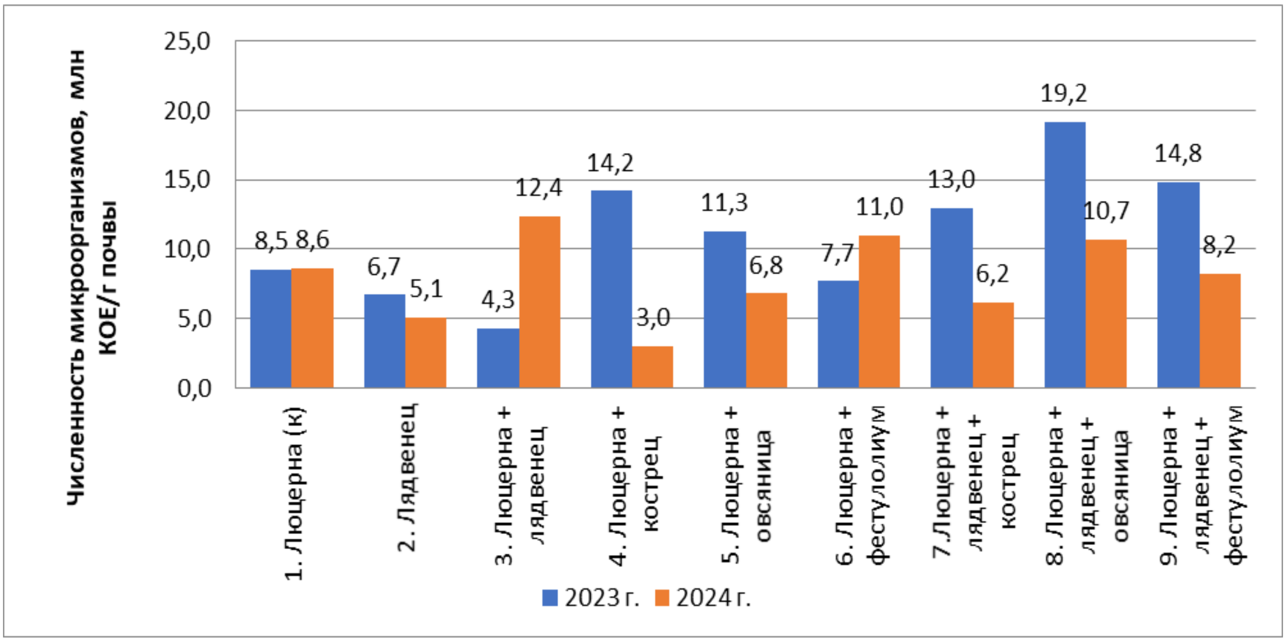


Рисунок – Влияние агрофитоценозов на качественный и количественный состав микроорганизмов, млн КОЕ/г почвы

В целом по опыту на 4 г.п. травосмесями в дерново-подзолистой почве наблюдалось большая численность микроорганизмов, чем на 5 г.п. Однако разница по вариантам находится в пределах ошибки опыта ($F_{факт.} < F_{05}$). На гистограмме заметна тенденция к увеличению численности микроорганизмов в 2023 г. в вариантах с многокомпонентными травосмесями – люцерна + лядвенец + злаковые травы (кострец/ овсяница/ фестулолиум); люцерна + кострец.

Все изучаемые группы микроорганизмов важны в почве, так как отвечают за минерализацию органических веществ, осуществляют микробиологические процессы в круговоротах азота, фосфора и других элементов питания растений, участвуют в процессах гумусообразования. Кроме того, актиномицеты и микромицеты вырабатывают антибиотики, которые негативно действуют на патогенные организмы.

При микроскопическом изучении культивируемых микроорганизмов были определены следующие: среди палочковидных бактерий наиболее часто встречались представители родов *Bacillus, Clostridium, Pseudomonas;* среди актиномицетов – *Streptomyces, Mycobactrerium;* среди микромицетов – *Aspergillus, Penicillium.* Также на среде Чапека встречались почвенные дрожжи.

Выводы. Таким образом, продуктивность сухой массы травосмесей в четвёртый год пользования в сумме за два укоса составила 4,34-6,13 т/га, а в пятый год – 5,61-7,00 т/га. В 2023 г. двух- и трёхкомпонентные агрофитоценозы достоверно уменьшили продуктивность на 0,64-1,41 т/га по сравнению с контролем при $НСР_{05}$ = 0,52 т/га, а наибольшая урожайность получена при сочетании люцерны с лядвенцем. В 2024 г. наибольшая урожайность сухой массы была получена с одновидовых посевов люцерны и лядвенца (6,68-7,00 т/га).

Травосмеси бобово-мятликовых культур при длительном использовании способствуют росту численности активных групп микроорганизмов в дерново-подзолистой почве относительно одновидовых посевов трав.

Список литературы:

1. Влияние длительного возделывания агрофитоценозов многолетних трав на микрофлору дерново-подзолистой почвы / А. Ю. Карпова, Ж. С. Нелюбина, Н. И. Касаткина, М. Э. Бульда // Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии. – 2024. – № 1(77). – С. 11-18.
2. Карпова, А. Ю. Общая и почвенная микробиология / А. Ю. Карпова. – Ижевск: Ижевская государственная сельскохозяйственная академия, 2020. – 80 с.
3. Лазарев Н. Н. Люцерна в системе устойчивого кормопроизводства / Н.Н. Лазарев, О.В. Кухаренкова, Е.М. Куренкова // Кормопроизводство. 2019. № 4. С. 18-25.
4. Трофимова, Л. С. Многолетние травы и микроорганизмы в растениеводстве Дальнего Востока / Л. С. Трофимова // Агронаука. – 2023. – Т. 1, № 2. – С. 46-52.
5. Труфанов, А. М. Биологические свойства почвы при возделывании культур по интенсивным технологиям / А. М. Труфанов, Т. И. Афанасьева // Вестник АПК Верхневолжья. – 2022. – № 4(60). – С. 21-29.

УДК 631.4

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНВЕРТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АМИЛОЛИТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЕ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ОЗИМЫХ И ПРОПАШНЫХ КУЛЬТУР БЕССМЕННО И В СЕВООБОРОТЕ

***Козлов Андрей Владимирович**, д.б.н., доцент, заведующий кафедрой микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a_v_kozlov@mail.ru*

***Коржов Иван Владимирович**, аспирант второго года обучения кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А, Тимирязева, ivan_korzhov@mail.ru*

***Любкевич Федор Владимирович,** студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, fedor-lyubkevich@gmail.com*

***Дубинкин Никита Андреевич,** студент 3 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, dubinkinnikita758@gmail.com*

***Алина Дарья Александровна,** студент 3 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, dariaalina056@gmail.com*

***Аннотация:** Проанализировано влияние способов возделывания культур – бессменная культура и под севооборотом на ферментативные процессы, связанные с циклом углерода, путем изучения ферментативной активности инвертазы в дерново-подзолистых почвах Длительного полевого опыт РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Определялась активность ферментов на участках с посевами озимой пшеницы, на участках с посевами картофеля, а также на контрольном участке. Образцы отбирались в двукратном повторении весной 2023 года.*

Ключевые слова: монокультура, севооборот, ферментативная активность, инвертаза, дерново-подзолистая почва.

Ферментативная активность многопрофильная характеристика почв. Почвенный микробиом – это важнейшая составляющая почвы, как биологической системы. Биота почвы является важным компонентом круговорота многих биогенных элементов нашей планеты: азота, углерода и др. Микроорганизмы, как и другие живые организмы реагируют на изменения в окружающей среде. Поэтому, активность почвенных микроорганизмов может являться своеобразным индикатором общего состояния почвы. Как наиболее адекватно отражающий изменений свойств почв этот показатель успешно применяется при мониторинге динамики почв в условия естественно-эволюционного развития и в результате антропогенных (агрогенных и техногенных) трансформаций.

Ферменты – биологические катализаторы, которые синтезируются живыми организмами и используются ими для осуществления биохимических превращений в своих организмах и вне их. Почва является наиболее разнообразной средой по наличию ферментов. Это связано с тем, что в почве преобладает число микроорганизмов, производящих биологические катализаторы. Но, ферменты в почве синтезируют не только микроорганизмы, также почвенные животные и растений. Все вместе они составляют ферментативную активность почвы.

Ферменты почвы играют важную роль в биохимических процессах, потому что они катализируют множество реакций почвенного цикла. Циклы углерода, азота, фосфора – во многих реакциях принимают участие ферменты. Активность ферментов почвы может являться индикаторов состояния и качества почвы, ее устойчивости. Стоит отметить, что любые вмешательства в биологические процессы, которые происходят в почве, например обработка почвы или внесение удобрений, вызывает отклик у почвенной биоты. Из этого следует, что такой показатель, как ферментативная активность, достаточно быстро реагирует на изменение состояния почвы.

Другая важная роль ферментов заключается в ускорении разрушения органического вещества почвы и синтеза вторичного, а также обогащение почвы биогенными элементами и гумусом. Таким образом, видно, что ферменты, выделяемые почвенными микроорганизмами и животными, играют важнейшую биохимическую роль в круговороте веществ в природе.

Для исследования, описываемого в данной работе, был выбран фермент, который участвует в ускорении реакций цикла углерода в почве. Так как углерод – элемент, являющийся основой для многих веществ почвы, то цикл углерода влияет на большинство биологических процессов, которые происходят в почве. Главным образом, разложение органического вещества. Активность фермента инвертазы может быть интерпретирована как индикатор интенсивности процессов минерализации органического вещества почвы.

Фермент инвертаза относится к классу гликозидаз и играет важную роль в различных биологических процессах, включая гидролиз дисахаридов и полисахаридов. Инвертаза связывается с молекулой сахарозы и разрывает гликозидную связь между глюкозой и фруктозой, что приводит к образованию свободных моносахаридов. Этот процесс требует наличия воды (гидролиз). Активность инвертазы зависит от различных факторов, включая pH, температуру и концентрацию субстрата. Оптимальные условия могут варьироваться в зависимости от источника фермента.

Объектами исследования служили образцы почвы, отобранные с опытного поля Длительного полевого опыта РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. С опытных полей образцы почвы отбирали согласно ГОСТ Р 58595-2019. Точечные пробы отбирались буром. Отобранные объединенные пробы помещали в пакеты вместе с этикеткой. Почва опытного участка: дерново-слабоподзолистая, старопахотная (более 200 лет под пашней), от природы кислая и заплывающая.

Дерново-подзолистые почвы имеют кислую реакцию по всему профилю, высокую (20-70%) ненасыщенность основаниями. Содержание гумуса может достигать 7-9%, но падение его содержания с глубиной очень резкое, а в составе гумуса преобладают фульвокислоты. Верхние горизонты дерново-подзолистых почв обеднены полуторными окислами и обогащены кремнеземом.

Результаты. В работе были проанализированы образцы с нескольких опытных полей Длительного полевого опыта РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева:

Озимая рожь: монокультура и в севообороте;

Картофель: монокультура и в севообороте.

Проведя расчеты, можно выявить некоторые закономерности. Далее будут использоваться единицы измерения инвертазы почвы – мг глюкозы/г/24 ч.

В вариантах с бессменным выращиванием можно выделить следующие изменения. В варианте с озимой рожью в варианте с минимальным содержанием азота можно заметить повышение инвертазной активности до 27,25. Это является существенным отличием от контроля (14,35). В варианте с полным набором минеральных удобрений (NPK) и добавлением органических удобрений наблюдалась существенная прибавка в инвертазной активности до 33,62. Вместе с этим, в аналогичных вариантах под картофелем выделили следующее. Вариант с минимальным содержанием удобрений показал значения 18,37, что существенно меньше контроля (44,81). Вариант с полным внесением минеральных и органических удобрений показал 48,10, что ненамного превышает показатели варианта-контроля.

В вариантах под севооборотом можно было наблюдать иную картину. Под озимой рожью вариант с минимальным внесением минеральных удобрений и вариант с внесением полного комплекса минеральных и органических удобрений оказались близкими по значениям – 18,85 и 18,83 соответственно. Данные значения существенно превышают показатели контроля (7,62).

В вариантах с картофелем под севооборотом все три показателя оказались близкими по значению. В варианте с минимальным внесением минеральных удобрений определили инвертазную активность на уровне 6,35, тогда как в варианте с полным комплектом минеральных и органических удобрений значения достигли 7,10. Данные значения несильно отклоняются от контроля (5,31).

Можно сделать вывод, что внесение полного комплекта удобрений благоприятно влияет на развитие почвенной микробиоты и стимулирует ее активность. Следовательно, показатели ферментативной активности повышаются.

Сравнили показатели инвертазной активности при разных способах возделывания, но при одинаковых вариантах внесения удобрений. В вариантах с озимой рожью с минимальным внесением удобрений показатели при бессменном возделывании достигли 27,25, тогда как под севооборотом 18,85. В вариантах с полным комплектом удобрений под монокультурой значения на уровне 33,62, тогда как под севооборотом они составляют 18,83.

Аналогичная ситуация наблюдалась в вариантах с картофелем. В вариантах с минимальным внесением удобрений при бессменном возделывании показатель достиг отметки 18,37, тогда как под севооборотом 6,35. В вариантах с полным комплектом удобрений при бессменном возделывании получился результат на уровне 48,10, тогда как под севооборотом результаты были на уровне 7,10.

Таким образом, можно сделать вывод, что возделывание культур под севооборотом снижает уровень инвертазной активности почвы.

Список литературы:

1. Магда Е.В., Мазиров М.А., Зинченко М.К. Активность каталазы и инвертазы при различной интенсивности механической обработки почвы // Владимирский земледелец. 2022. №2. С. 24-30.

УДК 631.4

ТЕНДЕНЦИИ ИЗМЕНЕНИЯ БАЗАЛЬНОГО ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ПРОПАШНЫХ КУЛЬТУР И ТРАВ В УСЛОВИЯХ ОРГАНИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЗЕМЛЕДЕЛИЯ

Козлов Андрей Владимирович, *д.б.н., заведующий кафедрой микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.kozlov@rgau-msha.ru*

Рыжаков Никита Викторович, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, disgustingbollocks@gmail.com*

Аннотация: *В статье рассматриваются изменения базального дыхания почвы при выращивании пропашных культур и трав в условиях органической системы земледелия. Исследование выполнено с использованием метода определения потенциального дыхания почвы по Галстяну. Результаты показывают тенденции изменения дыхательной активности почвы под различными сельскохозяйственными культурами при наличии и отсутствии применения органических удобрений.*

Ключевые слова: базальное дыхание, органическое земледелие.

Выделение CO_2 почвой считается признанным интегральным показателем биологической активности, скорости преобразования и уровня развития микроорганизмов. Показатель дыхания почвы широко применяется как индикатор воздействия пестицидов, тяжёлых металлов и других вредных веществ, что придаёт этому показателю особую важность в органическом земледелии, где запрещено использование химических средств защиты растений и необходимо избегать близости к источникам загрязнения. [1].

Целью работы было сравнение базального дыхания образцов почвы, взятых с 7 различных полей органического хозяйства, на которых находились: кукуруза, картофель, люцерна, занятые пары.

Объекты и методы: в июле 2024 года были отобраны образцы дерново-подзолистой почвы с 7 полей ООО ”Шульгино” в Волоколамском районе Московской области. С каждого поля было отобрано по 4 небольших образца из верхнего горизонта почвы. Для определения показателей использовался метод определения потенциального дыхания почвы по Галстяну.

Существует несколько источников выделения CO_2 в почве: микробиологическое дыхание, дыхание корней растений, химические процессы и разложение органического вещества [2].

Основными источниками почвенного дыхания из вышеперечисленного списка являются дыхание корней растений и микроорганизмов почвы. Остальные источники дыхания имеют значительно меньшую роль.

Дыхание микроорганизмов подразделяется на дыхание ризосферных (и ризоплановых) микроорганизмов, перерабатывающих корневые выделения, и дыхание собственно почвенных микроорганизмов, не относящихся к ризосфере, которые разлагают гумус, растительные остатки и минеральные компоненты почвы [1].

Метод определения потенциального дыхания по Галстяну удобен тем, что позволяет легко исследовать отобранные образцы почвы и, в первую очередь, помогает сравнить деятельность почвенных микроорганизмов.

Значения интенсивности дыхания почвы Д получились близкими для всех вариантов. Минимальное значение оказалось у варианта с кукурузой – 14,36 мг CO_2/10 г. абсолютно-сухой почвы/24 часа, максимальное значение оказалось на поле с многолетней люцерной – 16,10 мг CO_2/10 г. абсолютно-сухой почвы/24 часа.

В двух вариантах кукурузы на силос без навоза и вместе с ним наибольший средний показатель оказался у варианта с применением органических удобрений. В варианте без внесения органических удобрений значения интенсивности дыхания варьировались от 13,66 до 14,77 мг CO_2/10 г. абсолютно-сухой почвы/24 часа. У варианта с применением органических удобрений этот показатель изменялся в значениях от 14,26 до 15,22 мг CO_2/10 г. абсолютно-сухой почвы/24 часа.

В двух вариантах на картофеле, однако, такая закономерность не продолжилась и в варианте без применения органических удобрений показатель дыхания почвы оказался выше, но не сильно – 15,29 против 15,21 мг CO_2/10 г. абсолютно-сухой почвы/24 часа у варианта с применением органических удобрений.

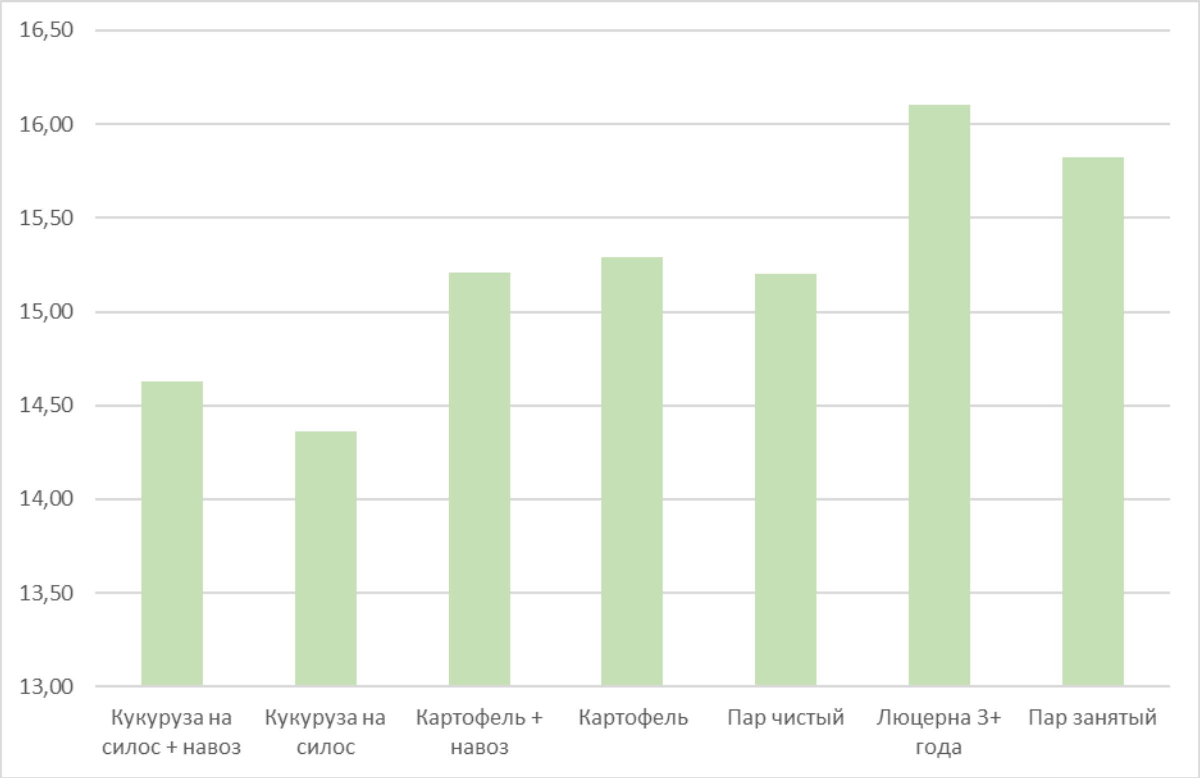


Рисунок. Интенсивность дыхания почвы, мг CO_2/10 г. абсолютно-сухой почвы/24 часа

Наибольший средний показатель оказался у вариантов с люцерной и занятым паром – 16,10 и 15,82 мг CO_2/10 г. абсолютно-сухой почвы/24 часа соответственно. На обоих вариантах вегетационный период у культур был более продолжительным, чем у кукурузы с картофелем, которые были посеяны и посажены в год отбора почвенных образцов.

Список литературы:

1. Методы почвенной микробиологии и энзимологии в экосистемных исследованиях: учебно-методическое пособие для вузов / А.В. Козлов. – М.: Плодородие, 2023. – 152 с.
2. Schlesinger, W. H., Andrews, J. A. Soil Respiration and the Global Carbon Cycle // Biogeochemistry. 2000. T. 48, № 1. C. 7–20.

УДК 631.5:633.854.78

Минерал бишофит ($MgCl_2•6H_2O$) является источником высокий урожаев подсолнечника

Я.З. Палязова
А.О. Аллаева преподователь кафедры агрохимия и почвоведении Туркменский сельскохозяйственный институт
Д. Тайлыева, студент 2 курса, Туркменский сельскохозяйственный институт
Л. Худайбердыева, студент 3 курса, Туркменский сельскохозяйственный институт

Аннотация. *В научных исследованиях, проведенных в Туркменском сельскохозяйственном институте, на научной основе изучено влияние минерального водного раствора бишофита на урожайность и показатель маслянистости гибрида подсолнечника «Санлука». Исследования проводились в полевых условиях на умеренно засоленных почвах. Готовили 2,0%, 4,0% и 6,0% водный раствор минералов бишофита плотностью 1,30-1,32 т/м3 и обрабатывали этим раствором семена подсолнечника перед посадкой. Для сравнения в опытном варианте также высаживали рассаду, не обработанную каким-либо препаратом.*

Ключевые слова: подсолнечник, бишофитный минерал, гибрид санлука, корзинка подсолнечника, урожайность.

*Введение.*Удобрения играют важную роль в выращивании здоровых растений в сельском хозяйстве. Результаты многочисленных исследований, проведенных к настоящему времени, подтверждают, что использование органических удобрений в сочетании с минеральными дает лучшие результаты. В сельском хозяйстве подсолнечник, отличающийся производством высококачественного масла, также имеет высокую потребность в органических и неорганических удобрениях.

Одним из основных требований при выращивании подсолнечника в почвенно-погодных условиях Туркменистана является правильное и полное установление его режима удобрений. Подсолнечник считается фитомелиорантной культурой, способной произрастать на почвах Дашогузского велаята Туркменистана с разным уровнем засоления и давать обильные урожаи. По этой причине в целях снижения засоления почв и предотвращения вторичного засоления почв налажен посев подсолнечника и солеустойчивых культур кормовых культур.

В Туркменском сельскохозяйственном институте, расположенном в Дашогузском велаяте Туркменистана, проводятся различные виды научно-исследовательской работы в этой области. Иными словами, влияние органических удобрений на повышение урожайности подсолнечника, особенно на повышение его масличности, тщательно изучается на научной основе путем регулярных полевых экспериментов.

Наряду с минеральными удобрениями микроэлементы считаются незаменимыми удобрениями для растений. Сегодня соль бишофита, содержащая хлорид магния, также широко применяется в сельском хозяйстве. Минерал Бишфит – минерал, относящийся к классу галогенидов и содержащий в своем составе соль хлорида магния ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$). Минерал бишофит в настоящее время широко используется в качестве сырья в различных областях медицины, металлургии, промышленности, сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности. В научных исследованиях, проведенных в Туркменском сельскохозяйственном институте, на научной основе изучено влияние минерального водного раствора бишофита на урожайность и показатель маслянистости гибрида подсолнечника «Санлука». Исследования проводились в полевых условиях на умеренно засоленных почвах. Готовили 2,0%, 4,0% и 6,0% водный раствор минералов бишофита плотностью 1,30-1,32 т/м3 и обрабатывали этим раствором семена подсолнечника перед посадкой.

Для сравнения в опытном варианте также высаживали рассаду, не обработанную каким-либо препаратом. Затем посадка была завершена. Было показано, что он увеличивает синеву и синеву солнечных сосудов.
Изучено также влияние минеральных водных растворов бишофитов различного процентного содержания на высоту подсолнечника, диаметр корзинки, массу 1000 семян.

То есть 4,0%-ный водный раствор минерала бишофита показал хороший результат при высоких указанных показателях. Высота стебля подсолнечника составила 1,90 см, диаметр корзинки - 24,6 см, масса 1000 семян - 71 грамм в варианте с применением 4,0% минерального раствора бишофита. Эти значения составили 1,76 см, 19 см и 65,4 грамма соответственно в контрольном варианте. 4,0%-ный водный раствор минерала бишофита использовали в качестве внекорневой подкормки 3 раза за период роста подсолнечника (количество рабочего раствора 250-300 л/га). 1-й раз вносили, когда у подсолнечника появилось 3-4 настоящих листа, 2-й раз, когда начали формироваться корзинки, 3-й раз, когда опали желтые лепестки корзинок.

В результате это оказало большое влияние на увеличение урожайности подсолнечника в период интенсивного роста и, в частности, на повышение устойчивости подсолнечника к инфекционным заболеваниям. При использовании 4,0% водного раствора минерала бишофит в качестве регулярной внекорневой подкормки рассады подсолнечника перед посадкой и в период роста были получены следующие результаты:

- увеличился метаболизм растения и активность аскорбиновой кислоты в проводящих тканях;
- в тех корзинках увеличивалась скорость опыления и оплодотворения, уменьшалось число пустых семян и увеличивалось число плодородных семян;
- содержание подсолнечного масла увеличилось на 5,3% по сравнению с контрольным вариантом;
- Урожайность подсолнечного масла с поля, засеянного гибридом «Санлука» из 1 подсолнечника, составила 935 кг.

Так, гибрид подсолнечника «Санлука», предназначенный для производства масла, был посажен в умеренно засоленной почве Дашогузского велаята, а при внесении в качестве удобрения 2,0%, 4,0% и 6,0% водного раствора минерала бишита по всем показателям среди вариантов Ан. водный раствор минерала бишита показал высокие результаты. Количество семян подсолнечника, зараженных мучнистой росой, было выше на контрольном варианте подсолнечника. Это доказывает, что минерал бишофит также важен для повышения устойчивости подсолнечника к болезням.

Список литературы:

1. Абдуллаев, Иброхим Нуманович, et al. "Совершенствование технологических методов при устройстве фундаментов глубокого заложения." Scientific progress 3.1 (2022): 526-532.

2. Бочковой А.Д. Пивненко О.В. О перспективах крупноплодных форм среди сорто-образцов масличного подсолнечника // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2008. – Вып. I (138) - с.15-19.
3. Бочковой А.Д. Новые гибриды подсолнечника // Российские семена. – 1993. – Вып. I. - с.15-32.
4. Виноградов, Д. В. Агробиологические особенности выращивания гибридов подсолнечника в условиях Нечерноземной зоны / Д.В. Виноградов, М. П. Макарова // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. – Вып. 1. – С. 11-15.
5. Кулыгин В.А., Зинченко В.Е., Влияние удобрений на урожайность подсолнечника при разных способах обработки почвы // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2017. № 4 (66).
6. Макарова, М. П. Агроэкологические аспекты формирования агроценозов подсолнечника в условиях Рязанской области / М. П. Макарова, Д. В.

УДК 631.363

ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКА МИКРОБНОГО БИОРАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ ВОЗМОЖНА ЧЕРЕЗ КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ИХ ЭЛЕКТРОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ

Реут Елизавета Сергеевна, *магистрант 1 курса ФГБОУ ВО «КубГУ», reutelizaveta9@gmail.com.*
Волченко Никита Николаевич*, к.б.н., доцент по специальности «Микробиология», доцент ФГБОУ ВО «КубГУ».*
Худокормов Александр Александрович*, к.б.н., доцент, заведующий кафедрой генетики, микробиологии и биохимии ФГБОУ ВО «КубГУ».*
Круглова Мария Николаевна*, б/у.с., б/у.з., преподаватель, ФГБОУ ВО «КубГУ».*
Моисеева Елена Владимировна*, б/у.с., б/у.з., преподаватель, ФГБОУ ВО «КубГУ».*
(Научный руководитель – Самков Андрей Александрович, кандат биологических наук, доцент кафедры генетики, микробиологии и биохимии КубГУ, andreysamkov@mail.ru)

Аннотация: *В полевых условиях для экспресс-оценки биоразнообразия микробных сообществ может быть использован анализ их совокупной электрогенной активности с использованием сборки МТЭ микролитрового масштаба, электросигналы которых обрабатываются по принципу индекса Шеннона. Обнаружена корреляция уровня биодеструкционной активности микробиоценоза и биоразнообразия, определенного этим методом.*

Ключевые слова: микробный топливный элемент, биоразнообразие, индекс Шеннова, имидаклоприд, сообщества микроорганизмов, электрогенез.

Почва является сложной системой, объединяющей различные физиологические группы микроорганизмов, которые обеспечивают биологический круговорот веществ. Микроорганизмы участвуют в формировании почвы и поддерживают её устойчивость перед природными и антропогенными воздействиями. Одним из ключевых факторов состояния почвенного покрова и как результат высокого выхода сельскохозяйственного продукта является благоприятное состояние микробиологического профиля экосистемы. Это подчёркивает значимость экологических исследований микробных сообществ как в теоретическом, так и в практическом плане. Различные виды микроорганизмов и их взаимодействие играют ключевую роль в формировании почвы и обеспечении минерального питания растений.

В экосистемах микроорганизмы находятся в сообществах, часто встречаются некультивируемые объекты (VBNC). Они не могут быть выращены на стандартных питательных средах в лабораторных условиях из-за стрессового состояния, что не даёт возможность изучения их физиологических свойств, поэтому их оценка может производится только на основе морфологии или генома. Некультивируемыми может быть большинство бактерий, а также некоторых видов грибов (*Brettanomyces bruxellensis* и *Cryptococci sneoformans*). Список некультивируемых микроорганизмов включает множество патогенов человека, включая *Campylobacter jejuni, Helicobacter pyloriu* и т.д. [4]. Данные факты приводят к необходимости разработки и усовершенствования методов оценки разнообразия микроорганизмов в сообществах, не производя выделение отдельных микробов в чистые культуры.

Исследование заключается в использовании компактной экспресс-системы микроМТЭ для выявления биоразнообразия микробиоценозов донных отложений как дополнительное устройство оценки в условиях полевых сборов данных.

Целью данного исследования являлась экспресс-оценка микробного биоразнообразия микробиоценозов через комплексный анализ их электрогенной активности при мультисубстратной стимуляции в топливных элементах безмембранного типа.

Микробный топливный элемент (МТЭ) — это биоэлектрохимическая ячейка на основе жизнедеятельности микроорганизмов. В анодной камере в процессе анаэробного дыхания микроорганизмы преобразуют органические вещества, в результате чего образуются электроны. Затем электроны перемещаются на катод по электрической цепи, а протоны через протонообменную мембрану переходят в катодную камеру. Здесь кислород восстанавливается как конечный акцептор процесса, образуя воду. МТЭ представляют собой инновационный метод очистки экосистем и способны эффективно производить электроэнергию [5].

В ходе исследования создана оптимальная конструкция миниатюрных микробных топливных элементов для оценки биоразнообразия сообществ донных отложений на основе электрогенной активности микроорганизмов. Минимальный набор субстратов, позволяющий отличить чистую культуру от сложного сообщества по совокупности биоэлектрохимических сигналов является набор из 14 веществ. Выбор субстратов основывался на точке их входа в реакцию и действии данного вещества. Например, глюкоза, включающаяся в энергетический обмен в электрон-транспортном и субстратном фосфорилировании, является источником энергии, вызывающим, прежде всего, интенсивный рост бродильщиков, которые не образуют избыточного количества восстановительных эквивалентов, необходимых для передачи заряда на анод и как следствие образования электрического тока. Напротив, пируват может включаться на стадиях окислительного декарбоксилирования и далее, обеспечивая более выраженный выход тока в МТЭ [1]. Отклик электрогенной активности сообществ микроорганизмов проявлялся на все субстраты в разной степени, что говорит о разнообразии сообществ микроорганизмов. Показатель электрогенеза с добавлением субстрата ПАВ был максимален в пробах донных отложений озера Карасун, заметно что при долгом хранении донных отложений снижается данный показатель. Стандартное отклонение по субстратам отмечено максимальное для донных отложений озера Карасун (Краснодар, Россия) и составило 0,46 мкА и минимальное для донных отложений озера Карасун длительного хранения – 0,19 мкА.

Анализ получаемых данных производился по модифицированной формуле индекса Шеннона на основе показателей электрогенной активности сообществ микроорганизмов. Выявлена оптимальная конструкция миниатюрных микробных топливных элементов с рабочим объёмом анодной камеры 0,4 мл, обеспечивающий напряжение до 266,44 мВ. [2].

При выбранных параметрах метрики самое высокое биоразнообразие было зафиксировано в микробном сообществе донных отложений озера Карасун (Краснодар, Россия) –показатель индекса Шеннона составил 2,45, для донных отложений реки Афипс (Афипский, Россия) – 2,37, в случае донных отложений озера Карасун с обедненной микрофлорой, хранившихся в течение 9 лет, индекс составил–1,39. Наибольший показатель электрогеннеза наблюдался у аминокислот – 1,89 мкА, углеводов – 1,86 мкА и ПАВ – 1,74 мкА.

Исследование биоразнообразия микроорганизмов в сообществах позволяет не только понять структуру и сложность биоценоза, но и оценить влияние человеческой деятельности на экологическую нишу и способность экосистемы справляться с антропогенным загрязнением.

Имидаклоприд — это инсектицид, который относится к классу неоникотиноидов, используемый в сельском хозяйстве. Он обладает широким спектром действия и эффективен как при системном, так и при контактном применении [3]. Из-за угрозы, которую несёт загрязнение окружающей среды разными агрохимикатами (особенно для почв), важно оценить вред от деятельности человека. Это поможет создать эффективные стратегии для решения этой проблемы.

Чтобы установить связь между биоразнообразием и уровнем антропогенного воздействия на биоценоз, были рассчитаны индексы биоразнообразия Шеннона для пяти типов образцов с разной степенью биодеградации исследуемого модельного загрязнителя в донных отложениях озера Карасун. Выяснилось, что индекс Шеннона увеличивается вместе с ростом процента биодеградации имидаклоприда. Наибольшему проценту биодеградации (84%) соответствовал индекс Шеннона 2,74, а наименьшему показателю (28%) — индекс 0,31.

Имидаклоприд существенно влияет на биоразнообразие. При первичном попадании загрязнителя в среду показатель биоразнообразия (индекс Шеннона) уменьшается, но затем постепенно увеличивается по мере адаптации микроорганизмов к новым условиям окружающей среды. Степень биодеградации имидаклоприда определяет, как снижение индекса Шеннона, так и его постепенное восстановление с течением времени.

Индексы Шеннона, рассчитанные на основе показателя электрогенной активности микробных сообществ, демонстрируют положительную корреляцию с процентом биодеградации модельного загрязнителя — имидаклоприда (коэффициент корреляции Пирсона составляет +0,87). Эта зависимость может быть использована для оценки уровня загрязнения окружающей среды и/или потенциала биодеструкции местного микробиоценоза.

Список литературы:

1. Влияние питательных субстратов, различающихся точкой входа в энергетический метаболизм бактерий, на энергетический выход мембранного топливного элемента / А. А. Самков, Н. Н. Волченко, А. А. Лазукин, А.А. Худокормов VI Съезд биофизиков России: сборник научных трудов//Краснодар: Кубанский государственный университет, 2019. – С. 230–231.

2. Патент № 2335543 Российская Федерация, C12Q 1/02 (2006.01). Способ мультисубстратного тестирования микробных сообществ и его применение: № 2006124312/13: заявлено 2006.07.07: опубликовано 2008.10.10 // М. В. Горленко, А. С. Терехов, П. А. Кожевин; заявитель и патентообладатель ООО «Экологический центр «Экотерра». – 18 с.: ил.

3. ChenY.-R., Tzeng D. T. W., Yang E.-C. Chronic Effects of Imidacloprid on Honey Bee Worker Development-Molecular Pathway Perspectives // International Journal of Molecular Sciences:электронныйжурнал. 2021. URL: https://www.mdpi.com/1422-0067/22/21/11835 (датаобращения: 01.11.2024).

4. Comparative investigation on microbial community and electricity generation in aerobic and anaerobic enriched MFCs / X.-c. Quan, Y.-p. Quan, K. Tao [et al.] // Bioresource Technology. – 2013. – Vol. 128 –P.259-265.

5. Santoro, C. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review/C. Santoro, C. Arbizzani, B.Erable, I. Ieropoulos // Journal of Power Sources –2017. – Vol. 356. –P. 225-244.

УДК 631.4

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЗАЦИИ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА ИХ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ ВНЕСЕНИИ

***Травников Игорь Дмитриевич**, магистр 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*

***Храпоничев Пётр Владимирович**, магистр 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*

***Ярохно Арсений Александрович**, магистр 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*
(Научный руководитель – Козлов Андрей Владимирович, д.б.н., заведующи кафедрой микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева a_v_kozlov@mail.ru)

***Аннотация:** Минеральные удобрения играют важную роль в сельском хозяйстве, так как они содержат макро- и микроэлементы, которые являются ключевыми компонентами в процессах фотосинтеза, образования белков, витаминов и других биологически активных веществ. Благодаря этому улучшается рост побегов, листьев, корней и плодов, а также повышается устойчивость растений к засухе и болезням.*

Ключевые слова: Биологизация, минеральные удобрения, Bacillus subtillis, почва, микробиологическая активность.

На протяжении многих столетий сельское хозяйство играет огромную роль в жизни каждого человека. Оно имеет большое значение в экономическом развитии страны, создает множество рабочих мест, является фактором культурной и социальной жизни страны и самое главное – обеспечивает человека продуктами питания. Сельское хозяйство постоянно улучшается и оптимизируется для повышения его эффективности, и одним из наиболее популярных методов является внесение минеральных удобрений.

Минеральные удобрения – это источник различных необходимых питательных элементов для растений, в первую очередь фосфора, калия и азота, а затем железа, кальция, серы и магния. Если в почве полностью отсутствует даже один из вышеперечисленных элементов, то растение не сможет нормально развиваться и расти [1]. Все потому, что в процессе фотосинтеза образуются сложные органические вещества, в преобразовании которых необходимо участие минеральных элементов, а также они в разных соотношениях нужны растениям для образования своих органов, таких как стебель, цветки, плоды, листья и так далее [2].

Современные минеральные удобрения, производимые химической промышленностью, делятся на три основные категории:

- Фосфорные (суперфосфат, фосфоритная мука, двойной суперфосфаты и так далее). Фосфор играет ключевую роль в образовании и функционировании клеточных мембран, а также участвует в процессах энергетического обмена и передачи генетической информации.
- Азотные (сульфат аммония, хлористый аммоний, аммиачная, натриевая и кальциевая селитры). Азот является одним из основных компонентов хлорофилла, который участвует в фотосинтезе - процессе преобразования солнечной энергии в химическую энергию. Азот также необходим для синтеза белка, нуклеиновых кислот и других важных биологических молекул.
- Калийные (сульфат калия, хлористый калий и другие калийные соли). Калий является важным компонентом клеточного сока и участвует в регуляции водного режима растений. Он также влияет на процессы фотосинтеза, транспорта сахара и образования белков.

Также к минеральным удобрениям относятся соли и соединения, имеющие в своем составе бор, магний и марганец [3,4].

Существует несколько способов повысить эффективность применения минеральных удобрений. Мы рассмотрим один из них – это биологизация бактериями Bacillus Subtillis.

Биологизация минеральных удобрений — это процесс преобразования синтетических удобрений в более доступную для растений форму путем использования живых организмов. Этот процесс играет важную роль в повышении эффективности использования удобрений и улучшении плодородия почвы. Сам процесс биологизации заключается в нанесении микробиологических препаратов на гранулы минеральных удобрений [5]. Положительный эффект от биологизации проявляется в повышении использования растениями элементов питания минеральных удобренийи увеличении доступности почвенных запасов калия и фосфора.

Помимо повышения уровня плодородия, биологизация минеральных удобрений позволяет снизить загрязнение окружающей среды, вызванное использованием химических удобрений. Химические удобрения могут проникать в грунтовые воды и загрязнять их, а также вызывать эвтрофикацию водоёмов. Биологизация минеральных удобрений позволяет снизить количество используемых химических удобрений и уменьшить риск загрязнения окружающей среды. В целом, биологизация является важным направлением в современном сельском хозяйстве. Она позволяет улучшить эффективность использования удобрений, улучшить плодородие почвы и снизить загрязнение окружающей среды. Дальнейшие исследования в этой области могут привести к созданию новых технологий, которые ещё больше повысят эффективность использования удобрений и улучшат качество продукции.

Перейдем к практической составляющей работы. Исследования состояли из двух частей: полевого опыта и лабораторных исследований. Полевой опыт был проведен на полях территории РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, а лабораторные исследования – на кафедре микробиологии РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева.

Полевой мелкоделяночный опыт закладывался на полевой опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева напротив учебного корпуса № 15 вдоль улицы Верхняя аллея. Почвенный контур составлял 2,5 га. Почва опыта - дерново-среднеподзолистая легкосуглинистая. Весь опыт состоял из 70 вариантов в 4-х кратной повторности с общим количеством делянок – 280. Площадь делянок – 2м2. Расположение вариантов – систематическое. В описанном в данной работе исследовании была использована лишь часть данного полевого опыта, состоящая из 9 вариантов с общим количеством делянок – 36. Суть исследований заключалась в посевах почвенных образцов на различные питательные среды с целью определения количества некоторых видов микроорганизмов, активности некоторых ферментов, а так же выделения СО2.

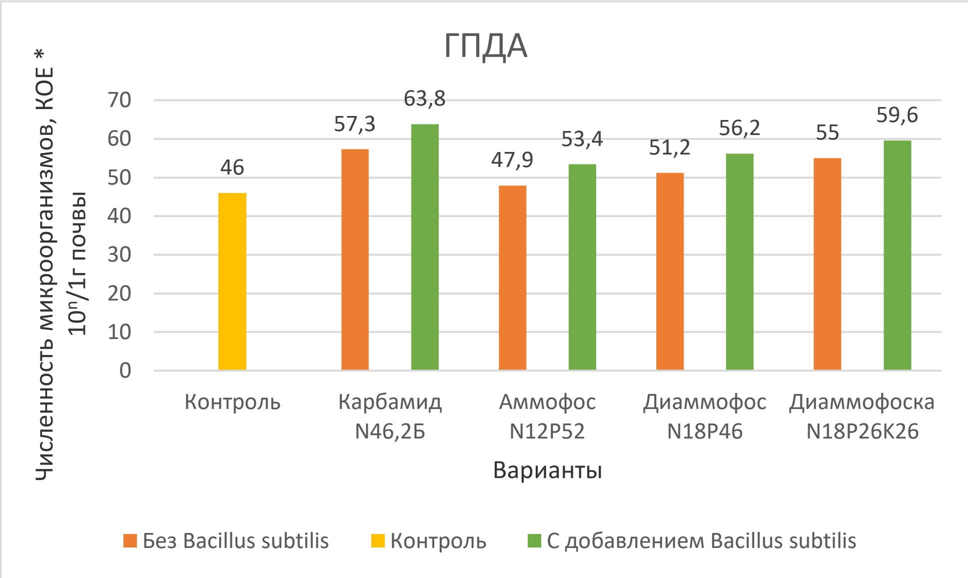
Для проведения данных посевов были использованы следующие питательные среды: ГПДА (глюкозо-пептонно-дрожжевой агар), МПА (мясопептонный агар), КАА (крахмало-аммиачный агар), АГК (агар Гетчинсона-

Клейтона), агар Муромцева (АМУР) и питательная среда НАТ (нитритный агар Теппера).

Посев производится на заранее приготовленную питательную среду бактериологической петлей. Петлю необходимо продезинфицировать путем прокаливания в пламени горелки, перед тем как взять ей почвенный образец. Далее петлю с образцом заранее приготовленной почвенной суспензией необходимо перенести на питательную среду. После нанесения образца убираем чашку Петри в термостат, поддерживающий необходимую температуру для культивации микроорганизмов (28°С или 37°С, в зависимости от культивируемых микроорганизмов). Далее, после окончания культивации (ее продолжительность так же зависит от вида микроорганизмов), получаем результат анализа путем визуальной оценки – пересчитываем проросшие микроорганизмы или их колонии. Для удобства пересчета и ускорения данного процесса следует использовать маркер, нанося им точки на уже посчитанные колонии. Результат записать.

После проведения лабораторных исследований мы можем сделать следующие выводы:

1. Большинство проведенных анализов на микробиологическую активность почвы наглядно показывают ее повышение при внесении различных удобрений, будь то незначительное и плавное как при анализе на АГК, или резкое и ощутимое, как при анализе на ГПДА, МПА и АМУР. Следовательно, стоит сделать вывод о том, что рассматриваемые удобрения положительно влияют на микробиологическую активность почвы. Стоит отметить анализы на среды МПА и ГПДА, в которых прослеживается превосходство действия карбамида N46,2Б и аммофоса N12P52 над остальными удобрениями. Так же среди всех исследований выделяется культивация автохтонных микроорганизмов на среде НАТ, так как все биологизированные варианты исследуемых удобрений демонстрируют меньший рост показателей, чем их обычные варианты. В целом, наибольший рост показали микроорганизмы, трансформирующие неорганические фосфаты (среда АМУР) – в среднем на 211%, а наименьший – автохтонные микроорганизмы (среда НАТ) – в среднем на 12%.



2. Следующим этапом шла оценка изменения активности перечня ферментов, находящихся в почве в условиях применения тех же самых удобрений, а также оценка их влияния на выделение СО2 из почвы. По ее результатам можно отметить влияние исследуемых минеральных удобрений на активность большинства ферментов, причем отмечается тенденция именно ее повышения. Исключением является фермент пероксидаза, активность которого снижается с применением карбамида и аммофоса. Анализ выделения углекислого газа из почвы показал стабильный рост данного показателя при применении обычного вида удобрений, но в то же время его неизменности или снижения при использовании биологизированных удобрений.

3. Также необходимо сделать вывод о преимуществах, либо же недостатках биологизации удобрений Bacillussubtilis. В подавляющем большинстве случаев данный метод повышения эффективности минеральных удобрений действительно работает, так как после его использования повышается активность подавляющего большинства микроорганизмов и ферментов, что ведет к улучшению почвенной микробиоты, а точнее ее влияния на почвенное плодородие, и, вследствие, качества и объема сельскохозяйственного урожая. Помимо повышения показателей активности присутствует пример ее снижения – фермент пероксидаза. Но даже в этом случае биологизация влияет положительно, так как она снижает пагубное действие этого фермента.

Список литературы:

1. Ринькис Г. Я. Оптимизация минерального питания растений. – М. Зиатне. - 1972. – С. 52-63.
2. Ананьева, Н.Д. Микробиологические аспекты самоочищения иустойчивости почв / Н.Д. Ананьева; Отв. ред. Звягинцев. – М.: Наука, 2003. 223 с.
3. Сабо Е.Д. Биологическая активность дерново-подзолистыхсуглинистых

почв и методы их микробиологической характеристики / Е.Д.Сабо, О.В. Кормилицина // научная статья. – Москва, 2016. – С. 12.
4. Матюк Н.С., Шевченко В.А., Соловьев А.М., Полин В.Д.Активность микроорганизмов дерново-подзолистой почвы в различныхагроэкосистемах // Плодородие. - 2020. - № 2. - С. 61–62.
5. Завалин А.А.Биологизация минеральных удобрений как способ повышения эффективности их использования/ Завалин А.А., Чеботарь В.К., Ариткин А.Г., Сметов Д.Б. // учебное пособие, – Санкт-Петербург, 2013. – С. 218-221.

УДК 631.4

ДЕЙСТВИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ УДОБРЕНИЙ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ АГРОЦЕНОЗА

Шубина Екатерина Александровна *магистрант 1 курса института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева. Kethsu@mail.ru*
Коржов Иван Владимирович *аспирант 2 курса института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева. Ivan_korzhov@mail.ru*

Аннотация. *В статье приведены результаты исследований о действии агротехнических приемов, изучаемых в Длительном полевом опыте на биологические показатели почвы.*

Ключевые слова: Длительный полевой опыт, хроматография, бессменные посевы, севооборот, культура, удобрения, базальное дыхание, субстрат-индуцированное дыхание, метаболический коэффициент.

Биологическая активность почвы - совокупность биологических процессов, протекающих в почве. Биологическая активность основана на способности живых организмов почвы осуществлять процессы разложения и синтеза веществ. Уровень биологической активности зависит от количественного и качественного состава почвенных организмов (бактерий, актиномицетов, дрожжей, простейших, водорослей, червей и др.). Чем интенсивнее выделение углекислого газа из почвы, тем активнее происходят в ней биологические процессы, тем лучше условия для возделывания культур и выше их потенциальная урожайность. Основным интегральным показателем активности биологических процессов и экологического состояния почв является интенсивность почвенного дыхания. Дыхание почвы является одной из важнейших экологических функций. Почвенное дыхание характеризует функциональное состояние экосистемы в целом в каждый конкретный момент времени и является параметром функционирования.

В условиях специализации сельскохозяйственного производства, возделывания зерновых и других культур очень важно учитывать микробиологические изменения, происходящие в почве, а также, интенсивность выделения из почвы углекислого газа, так как эти показатели считаются чувствительными индикаторами, реагирующими на изменение условий среды обитания. Определение биологической активности почвы наряду с изучением физико-химических свойств является важнейшим диагностическим признаком ее состояния.

Объекты и методы:

Объектами исследования служили образцы почвы, отобранные с опытного поля Длительного полевого опыта РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Почвенные пробы отбирались согласно ГОСТ Р 58595-2019. Почва опытного участка: агродерново-слабоподзолистая, старопахотная (более 200 лет под пашней) (Доспехов, Кирюшин, Братерская, 1975). Схема отбора проб представлена в таблице 1.

Базальное дыхание почвы (БД) и субстрат-индуцированное дыхание (СИД) почвы определяли методом газовой хроматографии на хроматографе Chrom5 с детектором по теплопроводности. Подготовка проб проводилась согласно процедуре, приведенной в статье (Альсаед и др., 2023).

Таблица 1 – Схема отбора образцов

БЕССМЕННО						
	пар	рожь	картофель	ячмень	клевер	лен
NPK	1	2	3	4	5	6
NPK+навоз	7	8	9	10	11	12
Без удобрений	13	14	15	16	17	18
	По извести					

СЕВООБОРОТ						
	картофель	ячмень	клевер	лен	пар	рожь
NPK	19	20	21	22	23	24
NPK+навоз	25	26	27	28	29	30
Без удобрений	31	32	33	34	35	36
	Без извести					

БД и СИД рассчитывали по формуле:

$$\text{дыхание} = \frac{12 * 0{,}000041605460 * (\text{концCO2}ppm - 400) * (15 - V\text{п} - V\text{в})}{m\text{п} * t\text{и}}$$

(Vп): Объём почвы, (Vв): объём воды, (mп): масса почвы, (tи): время инкубации (Шумилова, Куимова, 2013).

Углерод микробной биомассы (Смик) почвы рассчитывали по формуле (Роговая и др., 2016):

Смик (мкг С г–1 почвы) = СИД (мкл CO_2 г–1 почвы ч–1) × 40,04 + 0,37.

Для оценки биологической активности рассчитывали метаболический коэффициент, который представляет собой отношение базального дыхания к субстрат-индуцированному дыханию (Роговая и др., 2016).

Результаты и обсуждение:

Микробная биомасса является значительным индикатором стрессов, которые вызывает сельскохозяйственное использование почвы или ее загрязнение. Расчетные показатели количества микробной биомассы представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание углерода микробной биомассы в вариантах опыта с бессменным возделыванием сельскохозяйственных культур и в севообороте, мкг/г почвы

БЕССМЕННО						
	пар	рожь	картофель	ячмень	клевер	лен
NPK	844	2045	1103	1785	2152	2233
NPK+навоз	2081	3976	2179	2798	2224	1821
Без удобрений	215	1722	439	1291	1013	951
	По извести					

СЕВООБОРОТ, мкг/г почвы						
	пар	рожь	картофель	ячмень	клевер	лен
NPK	1865	2269	699	1318	1614	861
NPK+навоз	1946	3776	2009	2574	3112	1076
Без удобрений	942	843	484	744	1534	439
	Без извести					

Максимальные значения углерода микробной биомассы наблюдались в вариантах с применением комплекса минеральных и органических удобрений как при бессменном возделывании культур, так и при чередовании культур в севообороте. Такие значения наблюдались в варианте с возделыванием озимой ржи и применением удобрений – почти 4000 мкг/г почвы.

Оценка влияния внесения минеральных удобрений на биологическую активность дерново-подзолистой почвы длительного полевого опыта давалась по метаболическим коэффициентам, рассчитанным по отношению показателя базального дыхания к показателю субстрат-индуцированного дыхания. Данные представлены в таблице 3.

Оптимальные значения метаболического коэффициента находятся в пределах 0,2-0,3 (Ананьева, 2003). В случае если показатель снижается, то почва содержит недостаточное количество доступного органического вещества и микробное сообщество находится в состоянии покоя. Если значение показателя стремится к единице, то все микроорганизмы почвы находятся в активном состоянии. Бессменное выращивание сельскохозяйственных культур, особенно без применения удобрений, негативно влияет на функционирование микробного сообщества и биологическую активность почвы. В условиях севооборота значения метаболического коэффициента лежали в пределах от 0,13 до 0,41. Большинство вариантов опыта с чередованием культур показали метаболический коэффициент от 0,17 до 0, 33. Данные показатели являются оптимальными и демонстрируют хорошее функционирование микробного сообщества в условиях севооборота.

Таблица 3 – Метаболические коэффициенты в вариантах опыта под монокультурой и в севообороте

БЕССМЕННО						
	пар	**рожь**	**картофель**	**ячмень**	**клевер**	**лен**
NPK	0,51	0,27	0,45	0,32	0,30	0,28
NPK+навоз	0,28	0,21	0,20	0,16	0,30	0,17
Без удобрений	0,54	0,37	0,59	0,30	0,58	0,29
	По извести					
СЕВООБОРОТ						
	пар	**рожь**	**картофель**	**ячмень**	**клевер**	**лен**
NPK	0,17	0,26	0,36	0,39	0,24	0,34
NPK+навоз	0,27	0,30	0,38	0,17	0,32	0,33
Без удобрений	0,13	0,23	0,30	0,41	0,43	0,37
	Без извести					

Выводы

1. Количество микробной биомассы находилось в пределах от 439 мкг/г почвы до 3976 мкг/г почвы. Максимальные значения углерода микробной биомассы наблюдались в вариантах с применением комплекса минеральных и органических удобрений, как при бессменном возделывании культур, так и при чередовании культур в севообороте. Самые высокие значения были выявлены в варианте с возделыванием озимой ржи в севообороте с применением удобрений.

2. Бессменное выращивание сельскохозяйственных культур, особенно без применения удобрений, негативно влияет на функционирование микробного сообщества и биологическую активность почвы. При оптимальном значении метаболического коэффициента 0,2 при монокультуре он достигал уровня 0,6. Большинство вариантов опыта с чередованием культур в севообороте показали более благоприятный метаболический коэффициент как на фоне без удобрений (0,13-0,41), так при внесении NPK (0,17-0,39) и NPK+навоз (0,17-0,38).

3. Внесение комплекса минеральных и органических удобрений повышает уровень микробиологической активности почвы. В вариантах с применением

удобрений показатели метаболического коэффициента достигали 0,30-0,33. Такие значение показывают нормальное функционирование микробного сообщества почвы.

Список литературы:

1. Альсаед, Н. Оценка длительного воздействия бессменного выращивания различных сельскохозяйственных культур на микробные сообщества почвы / Н. Альсаед, О. В. Селицкая, Л. А. Поздняков, И. А. Заверткин, Е. А. Шубина // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2024. – №. 2. – С. 5–24. https://doi.org/10.26897/0021-342X-2024-2-5-24
2. Ананьева, Н. Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв / Н. Д. Ананьева. – М.: Наука, 2003. – 223 с.
3. Доспехов, Б. А. Изменение агрохимических свойств дерново-подзолистой почвы по профилю под влиянием 62-летнего применения удобрений и периодического известкования / Б. А. Доспехов, Б. Д. Кирюшин, А. Н. Братерская // Известия ТСХА. – 1975. – №. 6. – С. 30–40.
4. Роговая, С. В. Микробный компонент почв и его дыхательная активность в хвойных лесах северо-западного Приладожья / С.В. Роговая, Е.Ю. Елсукова, Н.Д. Ананьева // Вестник Санкт-Петербургского университета. Науки о Земле. – 2016. – №. 6. – С. 129–137.
5. Шумилова, Л. П. Изучение микробного сообщества городских почв методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии / Л. П. Шумилова, Н. Г. Куимова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – №. 50. – С. 121–125.

УДК 631.4

ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГТЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ В УСЛОВИЯХ ПЕСТИЦИДНОЙ НАГРУЗКИ НА АГРОЦЕНОЗ ПРОПАШНОЙ КУЛЬТУРЫ И ОДНОЛЕТНИХ ТРАВ

Ярохно Арсений Александрович*, магистрант 1 курса института Агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, PRIRODA_700@mail.ru*
Козлов Андрей Владимирович*, д.б.н., доцент, заведующий кафедрой микробиологии и иммунологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a_v_kozlov@mail.ru*

Аннотация: *в проделанной работе было оценено влияние пестицидной нагрузки на микробиологическую активность дерново-подзолистой почвы при выращивании пропашной культуры и однолетних трав и выявления оптимальных доз их применения без конкретного ущерба микроорганизмам.*

Ключевые слова: почва, микробиология, удобрения, гербициды, пропашные культуры, однолетние травы, среды.

Исследования проходили в Калужской области, для оценки микробиологической активности использовались пропашная культура и однолетние травы, а именно картофель и вико – овсянная травосмесь. Во время выращивания данных культур, помимо минеральных удобрений использовались такие гербициды, как сильвошанс, шатун, меташанс – мощные гербициды против сильной засоренности, по классу опасности 3 – для человека безопасны. После отбора почв проводились лабораторные исследования, для нашей работы использовались такие питательные среды, как глюкозо-пептон-дрожжевой агар (ГПДА), мясо-пептон агар (МПА), крахмало-аммиачный агар (КАА), агар Гетчинсона-Клейтона (АГК), НАТ и среда Ананьевой.

В проведенных исследованиях численность сапротрофных микроорганизмов учитывалась на средах ГПДА и МПА. ГПДА одна из универсальных сред на которой учитываются все культивируемые сапротрофы в почве (амонифицирующие, целлюлозолитические и прочие). Для МПА характеризуется процесс преобразования аммиачного азота и крахмала (превращение белковых веществ в почве) [1].

По результатам проведённых исследовании было установлено, что наибольшая численность среди всех сапротрофных микроорганизмов обнаружена на ГПДА, что вполне закономерно – данная среда учитывает максимальное количество метаболически активных микроорганизмов из групп сапротрофных. По результатам вика-овса в варианте с паром, численность составляла 86,8 КОЕ*10^7/1 г почвы, в последующих вариантах численность микроорганизмов принимает отрицательную линию тренда - во втором варианте (где у нас была посажена культура) численность снизилась на 27% (63,1 КОЕ*10^7/1 г почвы), а в третьем варианте (вика-овес + гербицид) по сравнению с первым вариантом показатели уменьшились на 36% (55,4 КОЕ*10^7/1 г почвы), что вполне можно объяснить влиянием гербицидной нагрузки [1].

Обратную тенденцию мы можем наблюдать по результатам с картофелем, где изначально численность микроорганизмов в варианте с паром составляла 75,3 КОЕ*10^7/1 г почвы, тогда как после посадки и периода бутонизации показатели выросли на 47% (110,7 КОЕ*10^7/1 г почвы), это говорит о свойствах пропашной культуры, аэрация повышается - кислород легче поступает в почву (в отличии от однолетних трав, где культура растет пластом и почвенная дернина с трудом пропускает через себя кислород); однако в третьем варианте после применения гербицидов численность микроорганизмов сократилась резко на 60% (30,2 КОЕ*10^7/1 г почвы), данные микроорганизмы чувствительно реагируют к гербицидной нагрузке [2].

Если рассматривать численность микроорганизмов, учитываемых на МПА, то мы будем наблюдать подобную схему, где у вика-овса идет постепенное уменьшение численности с каждым вариантом, у картофеля второй вариант с культурой резко возрастает и третий после применения гербицидов начинает падать.

Следующие исследования мы проводили на средах КАА и АГК. Крахмало-аммиачный агар – среда для культивирования микроорганизмов, способных проводить деструкцию олиго-, полисахаридов и иммобилизацию азота, т. е. способных потреблять минеральный азот. Агар Гетчинсона-Клейтона – среда для культивирования аэробных целлюлозолитических микроорганизмов.

На крахмало-аммиачном агаре (КАА) при возделывании вика-овсяной травосмеси в первом варианте численность микроорганизмов составила 16,2 КОЕ*10^6/1 г почвы, после посева культуры показатели выросли на 77% (28,6 КОЕ*10^6/1 г почвы), это говорит о том что данная культура является сидератом и хорошим накопителем азота, который потребляют микроорганизмы из данной группы; а после применения гербицидов количество микроорганизмов ещё возрастает в 4 раза и составляет 65,5 КОЕ*10^6/1 г почвы, такое повышение - результат того что, помимо гербицидов были внесены минеральные удобрения [2].

По результатам с картофелем наблюдается такая же система, где в варианте с паром численность микроорганизмов составляет 11,8 КОЕ*10^6/1 г почвы, а в варианте с культурой численность увеличилась в 3,6 раза (42,3 КОЕ*10^6/1 г почвы) и при применении гербицида повышение произошло в 6 раз (70,7 КОЕ*10^6/1 г почвы).

По результатам исследования на агаре Гетчинсона-Клейтона (АГК), закономерность роста численности микроорганизмов получается идентичной, как и на крахмало-аммиачной среде (КАА). Где при возделывании вика-овса с первого по третий вариант линия тренда получается возрастающей, пар - численность микроорганизмов равен 32,8 КОЕ*10^4/1 г почвы, второй вариант увеличение численности на 59% (49,6 КОЕ*10^4/1 г почвы), после гербицидной обработке возрастает на 85% (60,8 КОЕ*10^4/1 г почвы), гербицид ускоряет разложение целлюлозы, и стимулирующее действие на целлюлозоразлагающую активность более значительно в аллювиально-луговых почвах, где соответственно и выращивалась травосмесь.

При возделывании картофеля численность микроорганизмов на среде АГК в первом варианте составило 28,4 КОЕ*10^4/1 г почвы, во втором варианте численность увеличилась в 2,5 раза (71,1 КОЕ*10^4/1 г почвы) и при внесении гербицида показатель увеличился 3,3 раза (95 КОЕ*10^4/1 г почвы), для разложения целлюлозы потребовался минеральный азот, в данном варианте это усиленно так как это пропашная культура [3].

Нитритный агар Теппер учитывает автохтонную группу микроорганизмов, которые трансформируют гумусовые соединения. На фоне вика-овса можно наблюдать закономерное уменьшение численности микроорганизмов, примерно на 63% (1,19 КОЕ*10^3/1 г почвы), так как травосмесь способствует замедлению разложения гумусовых соединений, а на фоне пестицидной нагрузки она увеличивается на 26% (4,06 КОЕ*10^4/1 г почвы), как было сказано ранее, помимо гербицидов мы вносили комплекс минеральных удобрений, что дало толчок к росту данной группы микроорганизмов.

На фоне картофеля мы наблюдаем обратную тенденцию, резкий скачок в 2,4 раза (4,82 КОЕ*10^3/1 г почвы), возвращаемся к свойствам пропашной культуры и усиленной аэрации, то, чего нет у однолетних трав. На фоне картофеля и гербицида закономерно наблюдать рост численности микроорганизмов, который оказался в 3,3 раза (6,65 КОЕ*10^3/1 г почвы). При пропашной культуре численность автохтонных микроорганизмов увеличивается, т. к. гумус трансформируется и разлагается.

Ферментативная активность почвы изменялась по типу изменения численности микроорганизмов. Если рассматривать протеолитическую активность почвы, то как и аммонифицирующая микробиота, после применения гербицидов активность снизилась на 57% у однолетних трав и 79% у пропашной культуры. Инвертазная активность на фоне культур и гербицидов, наоборот, выросла - однолетние травы в 2 раза, картофель в 3 раза, это означает, что в почве высокое содержание легкогидролизуемого углерода, который, непосредственно, является источником энергии для многих гетеротрофов почвы. Про целлюлазную активность можно сказать тоже самое, на фоне культуры и гербицидов активность повысилась – вико-овсяная травосмесь на 23%, картофель на 50% - активность повысилась из-за попадания в почву большого количества растительных остатков, после гербицидной обработки. Агротехническая нагрузка ускоряет полную минерализацию клетчатки в пашне, вследствие чего активизируется почвенное дыхание, и приземный слой воздуха насыщается углекислым газом, что способствует оптимизации углеродного питания культурных растений. Полифенолоксидазная и пероксидазная активность почвы после гербицидной нагрузки снизилась, у однолетних трав на 10-15%, у картофеля на 47%. Как правило, активность полифенолоксидазы с увеличением содержания гумуса постепенно повышается, а активность пероксидазы – резко снижается.

Список литературы:

1. Козлов, А.В. Методы почвенной микробиологии и энзимологии в экосистемных исследованиях: учебно-методическое пособие / А.В. Козлов. – М.: РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2023. – С.60.
2. Козлова Ю.Е. Микробиологический мониторинг состояния дерново-подзолистых почв после прекращения применения минеральных удобрений / Ю.Е. Козлова // научная статья. – 2002. – С. 18-38.
3. Козлов А.В. Значение микроорганизмов в поддержании устойчивости почв к воздействию антропогенных факторов / А.В. Козлов, О.В. Селицкая // научная статья – 2013. – С. 4-12.

Секция 3.
Теоретические и прикладные вопросы физиологии и биохимии взаимоотношений микроорганизмов и растений, вопросы биотехнологии растений

УДК 631.363

ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭНДОФИТОВ ПЛОДОВ ЯБЛОНИ ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ОЖОГА ПЛОДОВЫХ *ERWINIA AMYLOVORA*

Агаркова Надежда Алексеевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, agarkova.nadezhda2023@yandex.com*
Дренова Наталия Васильевна, *старший научный сотрудник ФГБУ «Всероссийского центра карантина растений», drenova@mail.ru*
Ерёмина Ульяна Валентинова, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, veu-q@yandex.ru*
Шукова Анастасия Сергеевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, shukvaa@gmail.com*
Селицкая Ольга Валентиновна, *к.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru*

Аннотация: *приведены результаты исследования эндофитов плодов яблони. Отобраны 27 изолятов, проявляющих антагонизм к Erwinia amylovora. Выраженным антагонизмом обладают бактерии рода Priestia, Pantoea, Microbacterium, Staphylococcus.*

***Ключевые слова*:** яблоня, Erwinia amylovora, ожог плодовых культур, эндофиты, биопрепараты.

Введение:

Растения являются средой обитания для различных микроорганизмов, называемых эндофитами. В плодах яблони были обнаружены микроорганизмы *родов Acinetobacter, Bacillus, Sarocladium, Penicillium, Harmiscium* и *Fusarium* и др. [1, 3, 5]. Между эндофитами и патогенами может возникать антагонизм, знание об антагонистических свойствах определенных микроорганизмов может стать основой для разработки биопрепаратов [1]. На данный момент основные стратегии борьбы с бактериальным ожогом плодовых культур (возб. *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al.) включают уничтожение зараженных деревьев, обработку медьсодержащими и другими пестицидами, а в некоторых странах - растворами антибиотиков. Биопрепараты потенциально менее затратны и наносят меньший вред окружающей среде [4].

Целью исследования является изучение разнообразия эндофитов плодов яблони и их потенциала в разработке биопрепаратов.

Материалы и методы исследования:

Объектом исследования являлись плоды яблони 11 сортов из коллекции ФНЦ Садоводства: Алладин, Антоновка, Брусничное, Весялина, Грушовка Московская, Кубанское Багряное, Луч, Памяти Хитрово, Чаравница, Червонец.

Чтобы избежать контаминации образцов эпифитными микроорганизмами, плоды яблони погружали в 70%-ный спирт, затем промывали их стерильной водой, обсушивали стерильными салфетками.

От каждого сорта в стерильный стакан отбирали 1 г ткани из внутренней части плодов, затем добавляли 10 мл фосфатно-солевого буфера (PBS). Встряхивали на шейкере в течение 10 минут. Проводили глубинный посев на среду ПДГА без разведения и с разведениями 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, в двух повторностях каждое. Инкубировали при 25°С в течение 14 суток.

У каждого сорта выявляли отдельные морфотипы колоний, определяли обилие и частоту встречаемости. Выделяли чистые культуры. Методом совместного культивирования на питательных средах R2A и 925 определяли антагонистическую способность изолятов по отношению к *E. amylovora* [2].

Идентификацию бактерий и дрожжей проводили методом секвенирования по Сэнгеру продуктов амплификации с универсальными праймерами 27F/907R и ITS4/ITS5 соответственно.

Для получения продукта с праймерами 27F/907R реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 2 мкл ДНК, 1 мкл каждого праймера и 5 мкл «5xScreenMix-HS» буфера (ЗАО «Евроген», РФ). Реакцию проводили в приборе BioRad C1000 Touch по следующей программе: 5 мин - 95° С; 35 циклов: 15 с - 95° С, 30 с - 58° С, 1 мин - 72° С; 5 мин при 72° С.

Для ПЦР с праймерами ITS4/ITS5 (ЗАО «Евроген», РФ) реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 5 мкл ДНК, 1 мкл каждого праймера и 5 мкл «Mas DDMix 2025» буфера (Диалат ltd, РФ). Реакцию проводили в приборе BioRad C1000 Touch по следующей программе: 3 мин - 94° С; 35 циклов: 30 с - 94° С, 30 с - 52° С, 1,5 мин - 72° С; 5 мин при 72° С.

После амплификации образцы разделяли путем электрофореза в 1,5 % агарозном геле.

Результаты и обсуждение:

Всего с чашек было отобрано 95 изолятов, из них 27 показали антагонизм к *E. amylovora* по крайней мере на одной среде (таблица). Из них 6 штаммов относится к роду *Pantoea*, по 3 – к родам *Staphylococcus* и *Proteus*, остальные рода представлены в меньшей мере. Также был выделен изолят дрожжей рода *Metschnikowia.*

На обеих испытанных средах антагонистические свойства наблюдались у бактерий родов *Pantoea, Priestia, Microbacterium, Staphylococcus.* Эти изоляты были выделены из плодов сортов Антоновка, Луч, Президент и Грушовка Московская.

Наиболее активный рост наблюдался у изолятов рода *Proteus mirabilis,* выделенного из плодов сорта Алладин. Концентрация составляет 4x10^4 КОЕ/г. Также обильный рост наблюдался у *Microbacterium* (Грушовка Московская), *Pantoea agglomerans (vagans)* (Луч) *и Staphylococcus* (Луч), *Providencia* (Чаравница).

У *Staphylococcus warneri* на среде R2A наблюдается вариабельность по антагонистической активности против *Erwinia amylovora*.

Таблица

Потенциальные антагонисты *Erwinia amylovora*

№ п/п	Образец	Результат секвенирования	Антагонизм		КОЕ/г
			R2A	925	
1	Алладин	*Pantoea agglomerans*	+-	-	$2*10^2$
2		*Proteus mirabilis*	+-	-	$4*10^4$
3		*Staphylococcus epidermidis*	+-	-	$5*10^3$
4	Антоновка	*Micrococcus*	+-	-	$5*10^0$
5		*Pantoea agglomerans*	+	+	$2*10^2$
6	Брусничное	*Microbacterium*	+-	-	$1*10^1$
7		*Sphingomonas*	+-	-	$5*10^0$
8	Грушовка Московская	*Metschnikowia**	+-	+	$5*10^0$
9		*Microbacterium*	+-	+	$5*10^3$
10		*Micrococcus*	+-	-	$5*10^1$
11		*Pseudomonas*	+	-	$5*10^0$
12	Луч	*Pantoea agglomerans (vagans)*	+-	+	$6*10^3$
13		*Bacillus*	+	-	$6*10^2$
14		*Paenalcaligenes suwonensis*	+-	-	$5*10^0$
15		*Pantoea agglomerans*	+-	-	$6*10^2$
16		*Proteus mirabilis*	+-	-	$5*10^1$
17		*Staphylococcus*	+-	-	$5*10^3$
18		*Staphylococcus epidermidis*	+	+	$9*10^1$
19		*Staphylococcus warneri*	+/ -	+	$3*10^1$
20	Памяти Хитрово	*Brevibacillus centrosporus*	+-	-	$7*10^1$
21		*Pantoea*	+-	-	$3*10^2$
22		*Priestia aryabhattai*	+-	+	$5*10^0$
23		*Providencia rettgeri*	+-	-	$5*10^0$
24		*Pantoea agglomerans*	+-	-	$5*10^1$
25	Президент	*Priestia*	+	+	$6*10^1$
26		*Proteus mirabilis*	+-	-	$5*10^1$
27	Чаравница	*Providencia*	+-	-	$5*10^3$

«-» – не подавляет рост E. amylovora, «+-» – есть слабо выраженное подавление роста E. amylovora, «+» -- полностью подавляет рост E. amylovora.

**У рода Metschnikowia антагонизм также наблюдался на левановой среде.*

Однако среди видов родов *Paenalcaligenes*, *Proteus*, *Providencia* и *Staphylococcus* встречаются патогены человека, поэтому эти штаммы в дальнейшие исследования включены не будут.

Заключение:

Из 11 исследуемых сортов эндофиты, обладающие антагонизмом к *Erwinia amylovora*, были обнаружены у 5 сортов. Наибольшее количество антагонистов было выделено из сорта Луч – 8 изолятов. Среди них самый многочисленный – *Proteus mirabilis* (КОЕ/г = $4*10^4$).

Для дальнейших исследований по разработке биопрепаратов отобраны 8 изолятов родов *Bacillus, Microbacterium, Micrococcus, Priestia, Sphingomonas и Metschnikowia* (дрожжи), обладающих антагонистическими свойствами к *Erwinia amylovora*.

Исследование проводится в рамках Государственного задания, рег. № НИОКТР 123042100020-5.

Список литературы:

1. Дубровский М. Л. и др. Современные достижения в исследованиях эндофитной микробиоты яблони //Наука и Образование. – 2021. – Т. 4. – №. 2.
2. Егоров Н.С. Микробы антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. – Высшая школа, 1965. – 212 с.
3. Шабля А. С., Ванькова А. А., Дренова Н. В. Биоразнообразие эндофитных микроорганизмов плодов яблони (Malus domestica) //VIII Пущинская конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов», Школа-конференция молодых ученых, аспирантов и студентов «Генетические технологии в микробиологии и микробное разнообразие»: сборник тезисов. М.: ГЕОС, 2022. 294 с. ISBN 978-5-89118-859-4. – 2022. – Т. 6.
4. Emeriewen O. F. et al. Towards map-based cloning of FB_Mfu10: identification of a receptor-like kinase candidate gene underlying the Malus fusca fire blight resistance locus on linkage group 10 //Molecular breeding. – 2018. – Т. 38. – С. 1-14.
5. Vankova A. A. et al. Endophytic microorganisms of apple fruit (Malus domestica) //BIO Web of Conferences. – EDP Sciences, 2021. – Т. 39. – С. 07004.

УДК 579.64

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ЗЕЛЕНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ С ЦЕЛЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ В АГРОБИОТЕХНОЛОГИИ

Батаева Анна Дмитриевна, *студент 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, adbataeva2006@yandex.ru*
Григорян Лилит Норайровна, *к.б.н., ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева», lilyagrigoryan90@mail.ru*
Батаева Юлия Викторовна, *д.б.н., доцент, профессор кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, aveatab@mail.ru*

Аннотация: *В работе исследованы фитостимулирующие свойства зеленых водорослей рода Scenedesmus и почвенных цианобактерий рода Anabaena в лабораторных опытах и в условиях тепличного грунта на растениях огурца Cucumis.*

Ключевые слова: цианобактерии, водоросли, урожайность, *Cucumis*.

Для решения экологических проблем, связанных с применением в сельском хозяйстве химических удобрений и пестицидов, и вследствие этого, нарушением почвенных экосистем, ухудшением качества продукции, необходимо использовать экологически чистые биопрепараты. Зеленые микроводоросли и цианобактерии активно стимулируют рост растений, защищают от болезней, увеличивают плодородие почвы, повышают всхожесть и прорастание семян за счет фиксации азота, выделения макро и микроэлементов, биологически активных веществ, способствующих росту растений [1, 2, 4, 5].

Целью работы было исследование фитостимулирующих свойств зеленых водорослей и почвенных цианобактерий в лабораторных опытах и в условиях тепличного грунта.

В лабораторном опыте с редисом наибольшая всхожесть обнаружена в варианте с обработкой водорослями рода *Scenedesmus* - 100% [3]. Обработка семян редиса цианобактериями показала высокий результат всхожести 98% и 95,3%, в сравнении с отрицательным контролем 88,7% (обработка водопроводной водой) и положительными контролями – эпином (93,3%) и препаратом НВ-101 (91,3%).

Опыт по исследованию влияния цианобактерий рода *Anabaena* и зеленых водорослей рода *Scenedesmus* на всхожесть и рост растений огурца *Cucumis* в тепличных условиях проводили на базе филиала ФБГУ «Россельхозцентр» по Астраханской области. Исследования проведены на культуре огурца сорта Форвард, предназначенного для выращивания в тепличных условиях. Это болезнестойкий партенокарпический гибрид с поздним сроком созревания – 60-65 суток. Опыт проводили на естественном инфекционном фоне в двух повторностях и 4 вариантах:

1) контроль отрицательный – обработка водопроводной водой;
2) контроль положительный – обработка фитоспорином (основа *Bacillus subtilis*);
3) обработка зелёными водорослями рода *Scenedesmus* – суспензия 10 мл / 1 растение;
4) обработка цианобактериями рода *Anabaena* – суспензия 10 мл / 1 растение.

Способы обработок состояли из полива под корень (первые 3 обработки) и опрыскивания (следующие 3 обработки) и заключались в следующем:

1. Полив под корень через 1 день после высадки рассады в тепличный грунт в фазу 2-3 настоящих листьев;
2. Полив под корень в стадии активного роста растений (через 8 дней после первой обработки);
3. Полив под корень в фазу цветения и бутонизации (через 8 дней после второй обработки);
4. Опрыскивание в фазу образования завязи и молочной спелости (через 14 дней после третьей обработки);
5. Опрыскивание в фазу активного плодоношения (через 14 дней после четвертой обработки);

6. Опрыскивание в фазу сбора урожая (через 14 дней после пятой обработки).

Цианобактерии рода *Anabaena* культивировали на среде BG-11, водоросли *Scenedesmus* – на среде Прата. Концентрация клеток водорослей составила $2{,}75\times10^6$ кл/мл. Сухой вес биомассы цианобактерий составил 4,6 г/л.

Максимальную урожайность наблюдали в варианте опыта с цианобактериями. При учете морфометрических показателей, наибольшая высота растений и количество листьев наблюдалось в варианте с отрицательным контролем, а количество бутонов – в варианте с обработкой зелеными водорослями рода *Scenedesmus*.

Наибольшая урожайность огурцов обнаружена в варианте с обработкой цианобактериями и составила 47,2 кг, в сравнении с отрицательным (16,5 кг) и положительным (31,1 кг) контролями (табл. 1).

Таблица 1

Урожайность растений огурца при обработке водорослями и цианобактериями

Варианты опыта	**Общая урожайность (кг)**
Отрицательный контроль (обработка водопроводной водой)	16,5±0,3
Положительный контроль (обработка эталонным биопрепаратом Фитоспорин)	31,1±0,5
Обработка зелеными водорослями рода *Scenedesmus*	41,9±0,7
Обработка цианобактериями рода *Anabaena*	47,2±0,5

В ходе лабораторного опыта по изучению влияния исследуемых микроогранизмов на вирусы растений, томаты заражали ВМТо и ВОМ. В листья круговыми движениями втирали инокулюмы ВМТо и ВОМ. Через неделю были видны симптомы заболевания растений. Контрольные растения опрыскивали дистиллированной водой, опытные – суспензиями водорослей и цианобактерий. Заражение вирусами оценивали по визуальным признакам и с помощью иммунострипов. Результаты исследований показали, что растения, опрыскиваемые и поливаемые суспензией зеленых водорослей рода *Scenedesmus*, имели минимальное количество симптомов вирусов на растениях. Иммунострипы показали отсутствие вирусов.

Биотестирование в опыте с дафниями показало отсутствие токсичности исследуемых водорослей и цианобактерий.

В результате проведенных исследований получены данные не только о положительном влиянии водорослей и цианобактерий на рост и развитие растений, но и ингибирующее действие на вирусы. Исследуемые микроорганизмы являются перспективными агентами с фитостимулирующими и противовирусными свойствами для использования в качестве биоудобрений и средств защиты растений.

Список литературы:
1. Батаева Ю.В., Похиленко В.Д. Фунгицидная и антиоксидантная активность циано-бактериальных сообществ, выделенных из природной среды // Экологические системы и приборы. 2023. № 11. С. 10-23. DOI 10.25791/esip.11.2023.1409.
2. Батаева Ю.В., Григорян Л.Н. Экологические особенности и адаптационные возможности цианобактерий пустынных экосистем (обзор) // Почвоведение. 2024. № 3. С. 451-469. DOI 10.31857/S0032180X24030069.
3. Батаева Ю.В., Андреева М.П., Батаева А.Д., Трофимов А.В., Курмалиев И.Р., Вагин Я.Д., Бареева Д.Д. Исследование токсичности микроводорослей и цианобактерий и оптимизация условий их культивирования с целью разработки биопрепарата для сельского хозяйства // Экологические системы и приборы. 2024. № 1. С. 62-69. DOI 10.25791/esip.1.2024.1427.
4. Способ стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов в аридной зоне: пат. 2634387. Рос. Федерация. № 2015143855; заявл. 13.10.15; опубл. 26.10.17 г., Бюл. № 11. 9 с.
5. Bataeva Yu.V., Sinetova M.A., Kurashov E.A., Krylova J.V., Kolombet L.V., Grigoryan L.N. Characterization of biological activity and evaluation of exogenous metabolites of cyanobacteria ‘*Anabaena*' sp. IPPAS B-2020 // Microbiology. 2024. Vol. 93. № 5. P. 537-550. DOI 10.1134/S0026261724604871.

УДК 58.071

ИССЛЕДОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКОРИЗЫ В СОВРЕМЕННОМ РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

***Бердникова Людмила Анатольевна**, студент 2 курса Института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Mb20052005@gmail.com*
***Вусык Анна Дмитриевна**, студент 2 курса Института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Aannavusyk2002@gmail.com*
(Научный руководитель – Тараканов Иван Германович, д.б.н., профессор, профессор кафедры физиологии растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Plantphys@rgau-msha.ru)

***Аннотация**: научные исследования за последние десятилетия убедительно доказывают, что микоризные грибы укрепляют устойчивость растений к неблагоприятным факторам окружающей среды, значительно повышая урожайность и улучшая качество почвы. Данная статья посвящена анализу влияния механизмов взаимодействия растений с микоризными грибами и возможности внедрения данных знаний в агропроизводство.*

***Ключевые слова:** микориза, корневой симбиоз, сельское хозяйство, биостимулятор.

Микориза – важное симбиотическое образование, состоящее из растительных и грибных организмов (рис.). Около 80% наземных растений может образовывать микоризы различных типов.

Рисунок – Микоризные ассоциации как мультитрофный симбиотический комплекс (по Brundrett et al., 1996)

Начало изучению данного явления положил Ф.И. Каменский в 1881. В своих трудах он указал, что корни подъельника (*Monotropa hypopitys*) оплетены гифами грибов и именно через них в растение поступают минеральные вещества из почвы. Термин «микориза» был введен немецким ученым-биологом Альбертом Бернардом Франком в 1885 году. Первое анатомическое описание арбускулярной микоризы было дано А. Шлихтом в конце 19 века, также данный ученый указывал, что микориза не образуется у водных растений.

В современной науке исследования микоризных ассоциаций охватывают множество направлений, которые изучают эту проблему на всех уровнях организации живой материи. Для сельского хозяйства важна возможность грибных организмов в составе микоризы существенно влиять на жизнедеятельность растений.

Традиционно считается, что наиболее распространенные и изученные типы микоризы (эктомикориза (ЭКМ), эрикоидная микориза (ЭРМ) и арбускулярная микориза (АРМ)) имеют разное значение в азотном питании растений-хозяев. Так, ЭРМ и ЭКМ обеспечивают до 80% потребности растений в азоте, тогда как вклад АРМ ограничивается 20%. Вместе с тем эти величины могут заметно варьировать в зависимости от многих факторов, таких как видовой состав микоризных грибов, физиологическое состояние симбионтов, почвенные условия, включая доступность азота [4]. Но особенно важна роль микоризы в обеспечении питания растений фосфором.

Подавляющее большинство наземных растений ассоциировано с арбускулярными микоризами (АМ), которые образуются грибами типа Glomeromycota. Гифы Гломеромицетов проникают в клетки корня растительного организма, что служит примером образования эндомикоризы [1].

Грибы АМ демонстрируют отсутствие специфичности в своих взаимодействиях с растениями-хозяевами и являются облигатными симбионтами, что означает, что их рост и развитие невозможны без участия растения-хозяина. Эти грибы играют важную роль в минеральном обеспечении растений, особенно в условиях, когда доступность фосфора в почве низкая. Поскольку соединения фосфора имеют ограниченную подвижность в почве, влияние АМ на фосфорное питание особенно актуально как в бедных, так и в среднеокультуренных грунтах. Активность грибов АМ также наблюдается в хорошо окультуренных почвах, особенно у растений с высоким симбиотическим потенциалом.

Грибы АМ оказывают общее стимулирующее воздействие на растения благодаря поступлению в ткани последних продуктов метаболизма гриба, включая ряд фитогормонов. Это приводит к существенному увеличению урожайности сельскохозяйственных культур. Растения обеспечивают микосимбионтов глюкозой, что является необходимым условием для их выживания, учитывая их облигатный симбиотический характер. В ответ грибы АМ защищают растения от корневых патогенов, действуя через синтез антибиотиков, конкуренцию за ресурсы или путем стимуляции иммунных реакций у хозяина.

Можно считать, что данный тип микоризы является наиболее значимым для растениеводства. Большинство сельскохозяйственных культур образуют именно его.

На данный момент классификация грибных организмов и методы систематики постоянно претерпевают изменения. По одной из современных версий исследователей наиболее актуальными методами определения таксономических групп грибов как на видовом, так и на надвидовом (роды и семейства) уровнях организации являются NGS (next generation sequencing) и ДНК-штрихкодирование. Также отмечается необходимость развития морфологической идентификации. Ученые считают, что это позволит изучать филогенетику грибов на более глубоком уровне [5]. Дальнейшие исследования таксономии типа Glomeromycota играют большую роль для углубления и уточнения знаний об АМ.

Значимость микоризы для растений обусловливает растущий интерес ученых к исследованиям механизмов, которые управляют формированием и развитием эффективного симбиоза. В настоящее время активно проводятся эксперименты, направленные на разработку методов повышения активности АМ для создания эффективных биопрепаратов на их основе.

Исследования показывают, что АМ выделяют специфические метаболиты, в том числе биологически активные соединения, которые способствуют улучшению усвоения минералов растениями. Эти метаболиты способны изменять структуру корневой системы, стимулируя образование новых корней и корневых волосков, что увеличивает площадь поглощения воды и питательных веществ [2].

Кроме того, грибковые метаболиты, такие как фитоалексины и гормоны, оказывают прямое влияние на физиологические процессы в растениях. Например, стимуляция синтеза ауксинов и цитокининов, происходит в результате взаимодействия с микоризными грибами. Это приводит к ускорению клеточного деления и росту тканей. Таким образом, растения становятся более устойчивыми к стрессам, включая засуху и болезни, что также способствует улучшению их роста.

Одним из самых популярных и распространенных (по данным поисковой системы Яндекс) препаратов является «Микориза кормилица», который состоит из мицелия и спор гриба рода Glomus, колонизированных фрагментов корней, торфа.

В большом ряде современных исследований используется данное биоудобрение для постановки опытов. Например, ученые Башкирского государственного университета отмечают, что биопрепарат «Кормилица Микориза» повышает рост и микоризацию (частоту, интенсивность колонизации и обилие арбускул в корневой системе) корней культурных растений (пшеница, горох, лук). Биопрепарат «Кормилица Микориза рекомендован для разных видов растительных организмов, однако от вида растения может зависеть эффект действия биопрепарата, так же, как и сами арбускулярные микоризные грибы могут оказывать разные воздействия на растительные организмы [3].

Выводы

Микоризные грибы типа Glomeromycota являются интересным объектом для изучения. Они образуют арбускулярные микоризы, в составе которых положительно влияют на рост и развитие связанных с ними растений.

Климатические изменения и эрозия почвы приводят к ухудшению состояния экосистем и, как следствие, к снижению урожайности. Поэтому использование физиологически активных метаболитов микориз может помочь в поддержании уровня продуктивности экосистем, а также в их восстановлении.

Благодаря своим уникальным свойствам микориза служит ключом к устойчивому сельскому хозяйству. Дальнейшие исследования в этой области обеспечат развитие инновационных методов, способствующих созданию более эффективных агросистем.

Список литературы:

1. Finlay R., Ryan F. Микоризы в наземных экосистемах: экологические, физиологические и молекулярно-генетические аспекты микоризных симбиозов // Редакция сборника «Микология сегодня». – 2007. – С. 142.
2. Smith S. E., Read D. J. Mycorrhizal symbiosis. – Academic press, 2010.
3. Курамшина З. М., Свиридова К. В. Влияние биоудобрения на основе микоризных грибов на рост и микоризацию корней культурных растений // Успехи современного естествознания. – 2021. – № 12. – С. 39-43.
4. Макаров М. И. Роль микоризы в трансформации соединений азота в почве и в азотном питании растений (обзор) // Почвоведение. – 2019. – № 2. – С. 220-233.
5. Юрков А. П. и др. Молекулярно-генетическая идентификация грибов арбускулярной микоризы // Экологическая генетика. – 2018. – Т. 16. – № 2. – С. 11-23.

УДК 579.222

ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ ЯЧМЕНЯ ИСПОЛЬЗОВАТЬ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЙ

Вахнина Анастасия Сергеевна, *магистрант 2 курса биологического факультета, ФГБОУ ВО СГУ имени Н.Г. Чернышевского, anastasivahnina@yandex.ru (Научный руководитель - Глинская Елена Владимировна, к.б.н., доцент кафедры микробиологии и физиологии растений ФГБОУ ВО СГУ имени Н.Г. Чернышевского, elenavg-2007@yandex.ru)*

Аннотация: *В работе изучена способность ассоциативных микроорганизмов растений ячменя использовать углеродсодержащие соединения, встречающиеся в растениях, в качестве источника питания: моносахариды, олигосахариды, полисахариды, спирты, глюкозиды. Все штаммы бактерий способны ферментировать глюкозу, D-ксилозу, мальтозу, D-рибозу.*

Ключевые слова: ассоциативные микроорганизмы, *Hordeum vulgare*, ферментативная активность, адаптационный потенциал, PGPR-бактерии

Растения и обитающие на них бактерии оказывают тесное влияние друг на друга. Ассоциативные микроорганизмы выделяют гормоны, стимулирующие рост растений, превращают молекулярный азот в доступные формы, снижают концентрацию этилена, защищают от фитопатогенов. Растения, в свою очередь, являются средой обитания для бактерий, а также участвуют в их распространении. Продукты жизнедеятельности макроорганизма используются в качестве источника питания для микроорганизмов.

Цель исследования – изучение способности бактерий к расщеплению различных источников углерода.

В работе были изучены бактерии, выделенные из филлосферы, эндосферы и ризосферы растений ячменя обыкновенного *Hordeum vulgare* L. (1753), произрастающего на территории Саратовской области. Способность к расщеплению субстратов была исследована с помощью сред Гисса и системы API 50 CH (Франция). Изученные вещества встречаются в растениях в свободном состоянии, а также в составе сложных соединений, выполняющих роль структурных компонентов. Из исследованных веществ амигдалин, глюкоза, фруктоза, сахароза и инулин встречаются в растениях в клеточном соке [1].

Результаты исследований показали, что 100 % штаммов микроорганизмов способны расщеплять глюкозу, D - ксилозу, мальтозу,
D – рибозу (таблица). Глюкоза в растениях присутствует в свободном состоянии, а также участвует в образовании сахарозы, камедей, гликозидов и таких полимеров, как крахмал и клетчатка. Мальтоза содержится в прорастающих семенах злаковых растений [2, с. 62]. Ксилоза у растений находится в пектиновых веществах, гликозидах, камеди, гемицеллюлозе [3, с. 94].

Таблица

Способность бактерий к расщеплению углеродсодержащих соединений

	Виды микроорганизмов								
	Bacillus amiloliquefaciens	*Bacillus cereus*	*Bacillus luciferensis*	*Bacillus mycoides*	*Bacillus pseudomycoides*	*Bacillus subtilis*	*Bacillus thuringiensis*	*Paenibacillus polymyxa*	*Pantoea agglomerans*
Арабиноза	+	-	+	+	-	-	-	+	+
Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D - ксилоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L ксилоза	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Крахмал	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D - маннит	+	-	-	-	-	-	-	+	-
D - рибоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	-
D - сорбит	+	-	-	-	+	+	+	-	-

56 % микроорганизмов способны ферментировать арабинозу, которая часто встречается в растениях в составе сложных соединений: пентозанов, гемицеллюлоз, пектиновых веществ, камедей [4].

Способностью ферментировать L – ксилозу и D-маннит обладают 22% штамма. Маннит широко распространен у растений.

Ферментами для расщепления D-сорбита обладают 44 % исследуемых штаммов. В растениях шестиатомный спирт сорбит выполняет транспортную, энергетическую и защитную функции [5]. 89 % бактерий ферментируют крахмал и сахарозу.

Исследуемые микроорганизмы не способны разлагать такие моно- и олигосахара, как гентиобиоза, D-мелецитоза, D-мелибиоза, D-раффиноза, D-трегалоза, D-тураноза, D-целлобиоза, D-галактозу, D-ликсозу, D-маннозу, L-рамнозу, L-сорбозу, D-тагатозу, D-фруктозу, D-фукозу, L-фукозу.

Изученные бактерии не способны использовать в качестве источника углеродного питания амигдалин, арбутин, гликоген, глицерин, дульцитол, инозит, инулин, метил-αD-глюкопиранозид, маннопиранозид, метил-βD-ксилопиранозид, салицин, эритритол, D-адонитол, D-арабит, L-арабит, N-ацетилглюкозамин.

Изучение способности бактерий использовать различные субстраты расширяет теоретическую базу о взаимосвязи ассоциантов с макроорганизмом. Бактерии с высоким ферментативным потенциалом могут быть использованы в различных отраслях производства.

Список литературы:

1. Полонский В. И., Карпюк Т. В. Ботаника с основами физиологии растений. Ч.1 Анатомо-морфологические и физиологические особенности растений: учебное пособие. Красноярск: КГАУ, 2022. 366 с.
2. Зенькова М. Л. и др. Исследование нутриентного профиля пророщенного зерна мягкой пшеницы, выращенной в Беларуси. М: Хранение и переработка сельхозсырья, 2020. № 3. С. 58-68.
3. Касьянов З. В. и др. Анализ химического состава и противовоспалительная активность полисахаридного комплекса листьев бодяка разнолистного. Калининград: Медико-фармацевтический журнал «Пульс», 2018. Т. 20, № 8. С. 94-98.
4. Царевская В. М., Нечаева Е. Х., Салтыкова О. Л. Биохимия растений: учебное пособие. Кинель: СГАУ, 2022. 126 с.
5. Pleyerova I. et al. Versatile roles of sorbitol in higher plants: luxury resource, effective defender or something else? Planta, 2022. Vol. 256 (1), № 13.

УДК 631.461

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РОЛЬ МИКРОБНЫХ БИОСТИМУЛЯТОРОВ В СМЯГЧЕНИИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ, СВЯЗАННЫХ С ГЛОБАЛЬНЫМ ПОТЕПЛЕНИЕМ

Вусык Анна Дмитриевна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, annavusyk2002@gmail.com*
Бердникова Людмила Анатольевна*, студент 2 курса Института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Mb20052005@gmail.com*

Аннотация*: Изменения климата приводят к абиотическим стрессам, оказывающим негативное влияние на сельскохозяйственную отрасль. Использование микробных биостимуляторов, образующих симбиотические связи и способствующих синтезу АЦК-дезаминазы и ферментов, расщепляющих активные формы кислорода, имеет потенциал для смягчения последствий термического стресса и поддержания экологического баланса в агроэкосистемах.*

Ключевые слова: тепловой стресс, устойчивость к стрессу, устойчивое земледелие, микроорганизмы, микробные биостимуляторы.

Температура играет ключевую роль в экосистеме, воздействуя на физиологические процессы и рост растительного мира. Сельское хозяйство оказывается в непростой ситуации из-за изменения климата, поскольку его эффективность зависит от состояния почвы, систем орошения и климатических условий. Различные погодные аномалии, такие как наводнения и засухи, а также климатические стрессы, негативно сказываются на аграрной отрасли.

В 2024 году зафиксированы рекордные уровни концентрации трех главных парниковых газов: углекислого газа, метана и закиси азота. Согласно данным Национального управления океанических и атмосферных исследований США (NOAA), средний уровень CO_2 в мае 2024 года составил 423,43 частей на миллион (ppm), что на 2,91 ppm выше по сравнению с 2023 году [6]. В отличие от таких компонентов атмосферы, как кислород и азот, углекислый газ обладает свойством поглощать тепло, излучаемое Землей, затем снова излучая его во всех направлениях. Примерно половина этого тепла уходит в космос, а остальная часть возвращается на поверхность планеты, способствуя усилению парникового эффекта. И хотя газ по-прежнему составляет всего 0,04% атмосферы, без него естественный парниковый эффект Земли был бы слишком слабым, чтобы поддерживать среднюю глобальную температуру поверхности выше нуля. Однако, увеличивая количество углекислого газа в атмосфере, люди усиливают парниковый эффект, что приводит к повышению атмосферной температуры. Согласно наблюдениям Лаборатории глобального мониторинга NOAA, в 2021 году только углекислый газ был ответственен примерно за две трети общего нагревающего воздействия всех парниковых газов, произведенных человеком.

Таяние и разрушение вечной мерзлоты предоставляют микроорганизмам возможность доступа к ранее недоступным углеродным запасам, что приводит к выбросу углекислого газа и метана в атмосферу. Эрозия прибрежной мерзлоты способствует поступлению значительного объёма углерода в океан, что может вызвать увеличение эмиссии углекислого газа в результате микробной минерализации, что, в свою очередь, усиливает последствия изменения климата.

Высокие температуры также оказывают влияние на физиологию растений: они ускоряют процессы дыхания и транспирации листьев, а также изменяют распределение фотосинтезирующей активности. При повышении температуры растворимость углекислого газа уменьшается более значительно, чем растворимость кислорода. Это приводит к снижению концентрации углекислого газа в хлоропластах, поскольку способность воды удерживать газ напрямую зависит от температуры. Чем выше температура, тем меньше углекислого газа может быть растворено в воде. Кроме того, растения могут закрывать устьица, чтобы сократить потерю воды из-за транспирации в условиях повышенной температуры [4]. Уменьшение углекислого газа в хлоропластах приводит к снижению эффективности фотосинтетических процессов, поскольку углекислый газ является ключевым компонентом для синтеза глюкозы в процессе фотосинтеза. Это может привести к снижению продуктивности растений, уменьшению биомассы и замедлению роста. В условиях нехватки углекислого газа растения могут также испытывать стресс, что делает их более уязвимыми к болезням и вредителям.

Существует растущий интерес к применению микробов, ассоциированных с растениями, для продвижения устойчивого земледелия и смягчения воздействия климатических изменений на сельскохозяйственное производство. В частности, микробные биостимуляторы вызывают серьезный интерес ввиду того, что растения обитают в сложной среде, где взаимодействуют разнообразные микроорганизмы в филлосфере, ризосфере и эндосфере. Эти симбиотические организмы играют ключевую роль в многих основных процессах, включая питание и продуктивность растений, а также помогают им выживать в условиях биотических и абиотических стрессов [5].

При тепловом стрессе наблюдаются изменения в гормональном фоне растений, что в первую очередь проявляется в повышенной выработке этилена. Реакции растений на данное воздействие могут быть смягчены благодаря активности бактерий, способных расщеплять 1-аминоциклопропан-1-карбоновую кислоту (АЦК), которая является ключевым предшественником в синтезе этилена. Этилен — это важнейший фитогормон, избыток которого запускает процесс старения, вызывает опадение листьев и созревание плодов [2]. При введении в почву штаммов бактерий, стимулирующих рост растений (СРРБ), содержание бактериальной индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) продолжает поддерживать развитие растений. Таким образом, бактерии, синтезирующие ИУК и АЦК-дезаминазу, могут использовать АЦК как источник углерода и энергии, одновременно замедляя процессы старения и увеличивая устойчивость растений к различным стрессовым факторам, таким как засуха, избыток влаги и экстремальные температуры [3].

Известно, что активные формы кислорода (АФК) являются естественными продуктами метаболизма растений, но под воздействием стрессовых факторов их уровень в клетках и тканях может значительно увеличиваться. Окислительный стресс возникает при воздействии большинства негативных факторов окружающей среды. Уровень синтеза ферментов, способствующих разрушению АФК (таких как супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза), может быть повышен у растений, находящихся под колонизацией полезных бактерий, таких как *Pseudomonas* и *Bacillus*, а также микоризных грибов, таких как *Septoglomus deserticola* и *Septoglomus constrictum* [1]. На российском рынке одним из значимых препаратов является АТЛАНТ Псевдомонада (ООО «БИОМ-ПРО», Россия). Этот биопрепарат не только стимулирует рост, но и способствует улучшению свойств почвы, обеспечивая растениям устойчивость к тепловым стрессам. Он содержит клетки бактерий *Pseudomonas fluorescens*, которые играют важную роль в фитостимуляции и повышении плодородия почвы.

Аналогичным образом, *Bacillus* spp. были разработаны не только как биопестициды (например, *Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus firmus, Bacillus pumilus, Bacillus licheniformis, Bacillus sphaericus* и *Bacillus subtilis*), но и как биостимуляторы. Примером являются 33 Богатыря (БашИнком, Россия) и Фитоспорин–М (БашИнком, Россия). Хотя эти микроорганизмы используются во многих методах лечения, смягчение последствий теплового стресса обычно не упоминается как одно из их преимуществ.

Помимо бактерий также симбиоз арбускулярной микоризы (АМ) может смягчить засуху и температурные стрессы у растений. В исследовании изучалось влияние грибов АМ, *Septoglomus deserticola* и *Septoglomus constrictum* на устойчивость растений томата к комбинированному воздействию засухи и теплового стресса [1]. В условиях жары и засухи оба грибковых симбионта могли смягчать окислительный стресс за счет снижения перекисного окисления липидов, уровня перекиси водорода и улучшения активности антиоксидантных ферментов листьев и корней, однако более высокие показатели были у растений с *S. constrictum*. В условиях засухи и комбинированного стресса инокуляция *S. constrictum* увеличила устьичную проводимость, водный потенциал листьев и относительное содержание воды, в то время как эти улучшения у растений с *S. deserticola* не были очевидны. В конечном итоге инокуляция АМ, особенно *S. constrictum*, оказала положительное влияние на устойчивость растений томата к засухе и тепловому стрессу [1].

Микроорганизмы играют важнейшую роль в стимуляции роста растений и повышении их устойчивости к различным стрессам, что имеет огромное значение как для современных агрономических практик, так и для экологических подходов. Их воздействие на доступность питательных веществ и способность смягчать негативные условия крайне актуально в ситуациях неблагоприятного климата. Применение микробных биостимуляторов позволяет не только увеличить урожайность, но и поддерживать экологический баланс в агроэкосистемах, снижая тем самым необходимость в использовании пестицидов и токсичных металлов в сельском хозяйстве. Однако, при долговременном применении этих биостимуляторов важно проводить тщательный анализ, чтобы предупредить возможные негативные последствия для экологии, такие как инвазивность микроорганизмов, способная конкурировать с местными видами и изменять биоразнообразие среды обитания. Непредсказуемые изменения в популяциях микроорганизмов могут повлечь за собой экосистемные нарушения, снижая устойчивость и гармонию экосистемы. Кроме того, человеческая деятельность, влияющая на соотношение связанного и выделенного углерода, усугубляет климатические изменения. В то же время, внедрение микроорганизмов в агрономию предоставляет реальную возможность для решения возникающих антропогенных проблем и оптимизации производственных процессов в сельском хозяйстве.

Список литературы:

1. Duc N. H., Csintalan Z., Posta K. Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants //Plant Physiology and Biochemistry. – 2018. – Т. 132. – С. 297-307.
2. Glick B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world //Microbiological research. – 2014. – Т. 169. – №. 1. – С. 30-39.
3. Olanrewaju O. S., Glick B. R., Babalola O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria //World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2017. – Т. 33. – С. 1-16.
4. Sangiorgio D. et al. Facing climate change: application of microbial biostimulants to mitigate stress in horticultural crops //Agronomy. – 2020. – Т. 10. – №. 6. – С. 794.
5. Vandenkoornhuyse P. et al. The importance of the microbiome of the plant holobiont //New Phytologist. – 2015. – Т. 206. – №. 4. – С. 1196-1206.

6. Национального управления океанических и атмосферных исследований США (NOAA) [Электронный ресурс] - URL: https://gml.noaa.gov/ccgg/trends/global.html (дата обращения: 30.09.2024).

УДК 579.64

НОВЫЕ ШТАММЫ PAENIBACILLUS POLYMYXA ДЛЯ БИОКОНТРОЛЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Гуляева Алина Юрьевна, *магистрант 1 курса ПИШ, Национальный исследовательский университет ИТМО, auguliaeva@gmail.com*
Празднова Евгения Валерьевна, *д.б.н., зав. лабораторией молекулярной генетики микробных консорциумов ЮФУ, prazdnova@sfedu.ru*
Мазанко Мария Сергеевна, *к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментального мутагенеза ЮФУ, Mary.bio@list.ru*

Аннотация: *в статье описаны новые штаммы Paenibacillus polymyxa, обладающие антагонистической активностью в отношении фитопатогенных грибов Fusarium и Aspergillus. Исследование новых штаммов с противогрибковой активностью в отношении фитопатогенов представляет собой важный шаг к созданию устойчивых систем защиты растений на основе биофунгицидов.*

***Ключевые слова*:** противогрибковая активность, *Paenibacillus polymyxa*, почвенные микроорганизмы, Fusarium, Aspergillus.

Введение

Фитопатогенные грибы являются одной из основных причин заболеваний сельскохозяйственных растений, что приводит к значительным экономическим потерям и снижению урожайности. Химические фунгициды, которые традиционно используются для контроля фитопатогенов, вызывают проблемы устойчивости, загрязняют окружающую среду и могут быть токсичны для человека [1]. Поэтому поиск природных антимикробных агентов становится важной задачей агробиотехнологии. Целью данной работы стало выделение новых почвенных штаммов спорообразующих микроорганизмов и оценка их антагонистической активности против фитопатогенных грибов.

Материалы и методы

Пробы почв были отобраны на целинных, залежных, и антропогенно-измененных почвах в г. Ростове-на-Дону и Ростовской области. Всего для данного исследования было использовано 8 проб почв сельскохозяйственного назначения, отобранные в п. Рассвет Аксайского р-на; ООО им. Кирова, пос. Песчанокопский Песчанокопского района), на условно-чистых территориях (Ботанический сад г. Ростова-на-Дону) и в районе бывшего шламонакопителя - пересохшего оз. Атаманское. Озеро Атаманское находится в левобережной пойме р. Северский Донец и с начала 50-х годов использовалось в качестве резервуара для сброса промстоков предприятия легкой промышленности [2].

Пробы почвы отбирали методом конверта (ГОСТ 17.4.4.02–84) на глубине – 0–20 см. Непосредственно перед посевом почвы подвергались обработке: механически разрушались агрегаты микроколоний, удалялись лишние элементы (корни, неразложившиеся остатки растительности, обломки камней). Для лучшего дезагрегирования почвы увлажнялись. Пробы растирали резиновым пестиком в фарфоровой ступке в течение 5–7 минут до пастообразного состояния. Перед работой с пробой пестик и ступка стерилизовали спиртовым раствором. Почвенные суспензии готовили путем разведения образцов почв в воде в соотношении 1:9 и помещали на колбы-качалки в шейкер в течение 30 минут. Затем суспензия подвергалась десятикратным разведениям, использовали 2 и 3 разведения. Для отбора только спорообразующих бактерий образцы инкубировали в сухожаровом шкафу в течение 20 минут при 90°С. Затем пробирки с суспензиями оставляли остывать в течение 10–15 минут. На поверхность твердой среды МПА вносили 100 мкл почвенной суспензии, которая затем растиралась шпателем Дригальского. Чашки инкубировали в течение трех дней при температуре 37 °С, после чего производился учет колоний и получение чистых культур микроорганизмов.

Изучение фунгицидной активности штаммов

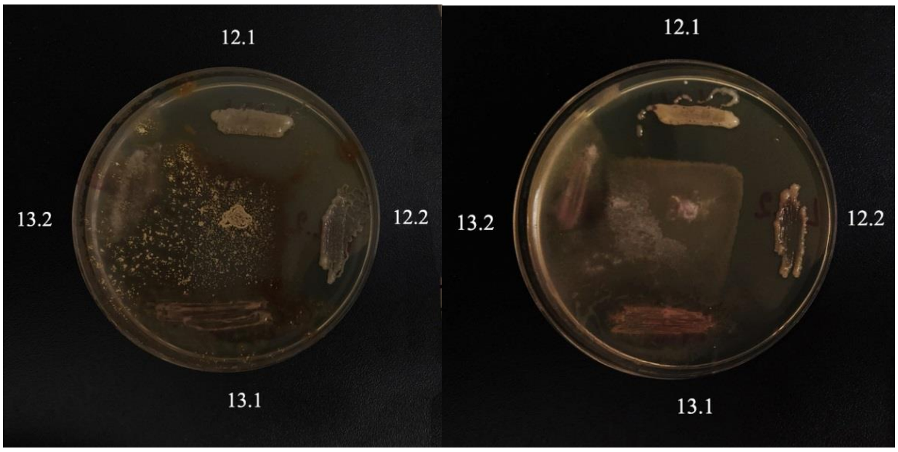
Штаммы были протестированы на способность подавлять растительные патогены, полученные из коллекции лаборатории экспериментального мутагенеза ЮФУ – *Aspergillus flavus* и *Fusarium sp*., ранее высеянные из гидропонной культуры лука и с полей пораженной пшеницы, соответственно. На чашку с твердой питательной средой Сабуро петлей наносили по краю мазки с исследуемыми штаммами бацилл. В центр крючком наносили биомассу гриба и инкубировали при температуре 24°С до полного обрастания грибом всей поверхности среды 10 дней. При этом возле колоний бацилл, активных против данных штаммов, образовывались зоны с ровным краем, где рост гриба отсутствовал. Размер этих зон учитывали с помощью линейки с точностью до мм.

Идентификация штаммов

Идентификация штаммов проводилась с помощью секвенирования консервативной последовательности 16S рРНК в НИЦ «Курчатовский институт». Наработка материала для секвенирования проводилась с помощью ПЦР. Были использованы консервативные праймеры для наработки генов, кодирующих 16S рРНК: 8f - AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG; 926r - CCG TCA ATT CCT TTR AGT TT. Режим ПЦР-реакции: предварительная денатурация 95°С в течение 3х минут, амплификация - 35 циклов, 95°С – 30 секунд, 57°С - 30 сек, 72°С-1 мин. 30 сек, финальная элонгация при 72°С в течение 5 минут.

Результаты

Из 8 образцов почв были высеяны спорообразующие организмы, морфология которых визуально была схожа с представителями родов *Bacillus* и *Paenibacillus*. Данные штаммы были протестированы на наличие антагонистической активности против фитопатогенных грибов родов *Fusairum и Aspergillus*, результаты представлены на рисунке ниже.



А Б

Рисунок – Активность штаммов 12.1, 12.2, 13.1, 13.2 против А – *Aspergillus flavus,* Б – *Fusarium sp.*

Видно, что три штамма бацилл, а именно штаммы под номерами 12.1, 12.2 и 15.1 оказывали влияние на оба штамма исследуемых грибов (*Fusarium* sp. и *Aspergillus flavus*). Штамм 14 оказывал влияние только на *Fusarium sp.,* но не на *Aspergillus flavus*, к тому же его зона подавления была ниже, чем у предыдущих штаммов. Штаммы 12.1 и 12.2 были выделены из образца почв, отобранного на оз. Атаманское (техногенно трансформированные хемоземы). В таблице ниже представлены значения зон подавления для всех выделенных штаммов.

При секвенировании вариабельных участков генов 16S рРНК была установлена принадлежность исследуемых штаммов к виду *Paenibacillus polytyxa*. Показанная в данной работе противогрибковая активность выделенных штаммов в отношении фитопатогенов позволяет использовать их в борьбе с заболеваниями растений. Штаммы *P. polytyxa* способны синтезировать противогрибковые метаболиты пептидной природы – липопептиды, циклические пептиды и ферменты, обеспечивающие антагонистическую активность против патогенных грибов. Наиболее типичными для *P. polytyxa* являются фузарицидины, полимиксины и полипептины. Эти соединения разрушают клеточные структуры и нарушают жизненно важные процессы в клетках грибов, что делает их эффективными инструментами для борьбы с фитопатогенами и улучшения здоровья растений [3,4].

Таблица – Зоны подавления роста патогенных грибов (мм)

Номер штамма	*Fusarium sp.*	*Aspergillus flavus*
2	-	-
3.1	-	-
3.2	-	-
3.3	-	-
4.1	-	-
4.2	-	-
12.1	11	10

Продолжение таблицы

12.2	11	10
13.1	-	-
13.2	-	-
14	7	-
15.1	9	11
16	-	-
16.4	-	-

Отличия от контроля статистически достоверны, $p<0.05$

Выводы

Из почв Ростовской области выделены штаммы-продуценты биофунгицидов L12.1, L12.2 и L15, далее идентифицированные как представители вида *Paenibacillus polytyxa*. Штаммы *P. polytyxa* L12.1 и L12.2 продемонстрировали выраженную антагонистическую активность против патогенного гриба *Fusarium* sp., тогда как штамм *P. polytyxa* L15 оказался более эффективным в подавлении роста *Aspergillus flavus*. Полученные данные подтверждают значимость штаммов *P. polytyxa* как основы для разработки биологических средств защиты растений и борьбы с фитопатогенами.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2022-1122.

Список литературы:

1. Dobrzyński, J. et al. Biocontrol of fungal phytopathogens by Bacillus pumilus // Frontiers in Microbiology. 2023. V. 14. P. 1194606.
2. Linnik, V. G. et al. Analysis and assessment of heavy metal contamination in the vicinity of Lake Atamanskoe (Rostov region, Russia) using multivariate statistical methods // Environmental Geochemistry and Health. 2022. V. 44. № 2. P. 511-526.
3. Rashad, Y. M., Moussa, T. A. A. Biocontrol agents for fungal plant diseases management // Cottage Industry of Biocontrol Agents and their applications: practical aspects to deal biologically with pests and stresses facing strategic crops. 2020. P. 337-363.
4. Daud, N. S. et al. Paenibacillus polymyxa bioactive compounds for agricultural and biotechnological applications // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. V. 18. P. 101092.

УДК 631.4

ПОЛЯРНОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ СВОЙСТВ C.ROSEA КАК ПАТОГЕНА И АГЕНТА БИОКОНТРОЛЯ НА РАЗЛИЧНЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУРАХ

Давыдова Дарья Сергеевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева*

Чернятьева Екатерина Андреевна, *студент курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева*
Ефремова Кристина Валерьевна, *младший научный сотрудник Федеральное государственное учреждение "Федеральный исследовательский центр" Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук" (ФИЦ Биотехнологии РАН)*
Селицкая Ольга Валентиновна, *к.б.н доцент кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева*
Миронов Владимир Витальевич, *д.т.н., профессор, руководитель группы микробных процессов конверсии органических отходов ФИЦ Биотехнологии РАН*

Аннотация: *В своей работе мы анализируем сообщения, показывающие способность Clonostachys rosea вызывать гнили различных культур — соя, охидея, авокадо при хранении и др. И вместе с тем оценивается эффективность использования данного микрогриба в качестве ангента защиты: подавление фузариоза на пшенице и ячмене, нематоцидное действие, противодействие серой плесени, вызываемой Botrytis cinerea, а также ингибирование роста корневой системы. Двойственное проявление активности C. rosea обуславливает необходимость исследований по данной теме.*

Гнили являются одними из самых серьезных заболеваний растений в сельском хозяйстве. Одни наносят существенный урон, поскольку могут заражать как вегетирующие растения, так и овощи, и плоды при хранении. Большую часть из них вызывают именно грибы. Вместе с тем растет применение микрогрибов как агентов биозащиты, так, например в 2023 году было исследование об их применении против нематод [1].

Грибные патогены представляют собой важные объекты для изучения, поскольку могут влиять на широкий спектр сельскохозяйственных культур.

Первые сообщения о том, что *Clonostachys rosea* поражает сою появились в США в 2008 году, растения сои, у которых отсутствовали симптомы некроза листьев, но были выявлены некроз стержневых и боковых корней, наблюдались на 15 полях в разных округах в 2007 и 2008 годах. В 2022 году было сообщение о том, что данный микопатоген вызвал корневую гниль чеснока в Мексике [2,3].

Использование же препаратов на основе данного микрогриба также встречается: доказано его применение как нематофага и энтомофага, есть сведения о том, что данный микроорганизм противодействовал *S. sclerotiorum* на сое и салате-латуке, а также оказывал негативное воздействие на грибы *Fusarium spp.*, поражающие пшеницу и ячмень [4,5].

Поэтому использование *C. rosea* в качестве защищающего агента должно рассматриваться в сопряжении с другими выращиваемыми культурами, иначе он может вызывать корневую гниль растений.

Цель данной работы: сопоставить информацию из различных литературных источники, сообщающие как о патогенности, так и защитных свойствах C.rosea.

Clonostachys rosea относится к виду аскомицетовых грибов, роду *Clonostachys семейства Bionectriaceae*. Ранее это название относилось только к анаморфной стадии гриба, а телеоморфа именовалась *Bionectria ochroleuca*. Нередко включался в состав рода глиокладий, в некоторых работах встречается под старым названием — *Gliocladium roseum*. Культуральные признаки следующие: колонии на 7-е сутки культивирования составляют до 3,5—4,5 см в диаметре. Реверс на овсяном агаре желтовато-белый, светло-жёлтый, затем оранжеватый или коричневатый, при культивировании на свету светло-оранжевый до оранжево-красного, с выделяемым в среду жёлтым растворимым пигментом. Воздушный мицелий обильный, войлочный или пушистый, образующий синнемы, наиболее выраженные в центральной части колоний. На PDA синнемы хорошо оформленные, прямостоячие, спороношение менее обильное. Имеются также сообщения о его толерантности ко вторичным метаболитам.

Также, помимо заражения вегетирующих растений, в недавнем исследовании был описан случай заражения плодов авокадо при хранении. [6] Это позволяет рассматривать *Clonostachys rosea* как послеуборочный патоген, в конкретном случае. В таблице 1 представлены основные проявления *C. rosea.*

Таблица 1. Воздействие *C. rosea*

Позитивное	**Негативное**
пшеница, ячмень - подавляет рост гриба, который вызывает фузариоз	соя - корневая гниль
листья клубники и томата - борется с серой плесенью, вызываемой *Botrytis cinerea*	конские бобы - корневая гниль
томат - ингибирует рост корневой системы	орхидея - корневая гниль
огурец - подавляет фузариозную корневую и стеблевые гнили	сморчок - гниль
соя и салат-латук - противодействовал S. sclerotiorum	Астрагал (кошачий горох) - гниль
поражает нематод на различных растениях	плоды авокадо - порча при хранении
поражает насекомых (белокрылка)	чеснок - корневая гниль

Резюмируя можно сделать следующие выводы: *Clonostachys rosea* может в качестве агента биозащиты, причем для широкого перечня культур, также доказаны его нематоцидные свойства, благодаря которым микрогриб может быть использованы в дальнейшем на российском рынке биопрепаратов. Надо отметить, что на данный момент имеются преимущественно иностранные патенты на препараты с *C. rosea* в составе. Однако характер единичных сообщений из различных регионов о патогенности данного гриба говорит о необходимости дальнейшего его исследования.

Список литературы:

1. Saeed, M.; Mukhtar, T.; Ahmed, R.; Ahmad, T.; Iqbal, M.A. Suppression of Meloidogyne javanica Infection in Peach (Prunus persica (L.) Batsch) Using Fungal Biocontrol Agents. Sustainability 2023, 15, 13833. Режим доступа: https://doi.org/10.3390/su151813833

2. Bienapfl, J.K.; Floyd, K.M.; Percy, J.A.; Malik, D.K. The first report of Clonostachys rosea causing soybean root rot in the United States. Dis. 2012, 96, 1700. Режим доступа: https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-06-12-0550-PDN

3. Diaz R. et al. The first report that Clonostachys rosea causes garlic root rot in Mexico // Plant diseases. – 2022. – Т. 106. – №. 11. – С. 3000. Режим доступа: https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-12-21-2658-PDN

4. Rodriguez-Martinez et al. Lethal activity of the nematophagous fungus Clonostachys rosea (Ascomycetes: Hypocreales) In vitro against nematodes of five different taxa //BioMed Research International. – 2018. – Т. 2018.Режим доступа: https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/3501827/

5. Chatterjee S., Kuang Y., Splivallo R., et al. Interaction between filamentous fungi Aspergillus niger, Fusarium verticillioides and Clonostachys rosea: fungal biomass, diversity of secreted metabolites and fumonisin production. // *BMC Microbiol* 16, 83 (2016). Режим доступа: https://doi.org/10.1186/s12866-016-0698-3

6. Coyotl-Perez V. A. et al. Increasing the shelf life of avocado fruits against Clonostachys rosea using hybrid chitosan membrane containing thyme essential oil //Polymers. – 2022. – Т. 14. – №. 10. – С. 2050 Режим доступа: https://www.mdpi.com/2073-4360/14/10/2050

УДК 631.4

ФИТОПАТОГЕННЫЙ ВИД PENICILLIUM SOLITUM

Давыдова Дарья Сергеевна, *студент 4 г.о. направления агрохимия и агропочвоведение, кафедра микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева*

Чернятьева Екатерина Андреевна, *студент 4 г.о. направления агрохимия и агропочвоведение, кафедра микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева*

Ефремова Кристина Валерьевна, *младший научный сотрудник (м. н. с.), Федеральное государственное учреждение "Федеральный исследовательский центр" Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук" (ФИЦ Биотехнологии РАН)*

Селицкая Ольга Валентиновна*, к.б.н доцент кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева*

Миронов Владимир Витальевич, *д.т.н., профессор, руководитель группы микробных процессов конверсии органических отходов, Федеральное государственное учреждение "Федеральный исследовательский центр" Фундамен-*

тальные основы биотехнологии" Российской академии наук" (ФИЦ Биотехнологии РАН)

Аннотация: *В данной работе рассматриваются результаты исследований, демонстрирующих способность P. solitum поражать различные культуры: семечковые фрукты (яблоко, груша, айва, мушмула), картофель и шафран. В проведенном эксперименте описывается и сравнивается степень поражения яблок и груш данным грибом при различных способах повреждения. В статье подчёркивается необходимость дальнейших исследований для разработки эффективных методов борьбы с P. solitum и предотвращения его негативного воздействия на сельское хозяйство.*

Ключевые слова: пеницилы, фитопатогены, P. Solitum, семечковые, зарожение плодов

Введение

Различные инфекционные заболевания наносят огромный вред сельскому хозяйству. Среди них значительная роль принадлежит инфекциям грибной этиологии. Фитопатогенные грибы могут поражать растения как непосредственно в поле или саду, так и при хранении. По оценкам, около 20–25% собранного урожая плодов портится во время послеуборочной обработки и хранении. Послеуборочные патогены влияют на срок годности свежих продуктов, способствуя ухудшению качества за счет сокращения содержания питательных веществ, что приводит к снижению рыночной стоимости. К основным послеуборочным фитопатогенным грибам относятся *Penicillium* spp., *Monilinia spp., Alternaria alternata, Rhizopus stolonifer, Fusarium spp., Colletotrichum spp.* [1].

Penicillium — это щироко распространенный род микромицетов, представители которого встречаются по всему миру. Виды *Penicillium* демонстрируют большую внутривидовую изменчивость. Традиционная идентификация видов *Penicillium* фокусируется на цвете и текстуре колоний; скорости роста и размере колоний на стандартизированных средах; морфологии конидиофора, включая узоры ветвления и формы, размеры и орнаментацию различных частей конидиофора; и образование определенных экстролитов. Однако на эти морфологические и биохимические характеристики могут варьировать в зависимости от различных факторов окружающей среды, что затрудняет как идентификацию, так и таксономическую классификацию [2,3].

Больщинство видов этого рода - сапротрофы, но некоторые представители являются фитопатогенами. Кроме того, пенициллы относят к так называемым «плесеням хранения», поскольку они активно размножаются на продукции во время хранения, особенно при нарушении оптимальных режимов температуры и влажности, а также вызывают порчу пищевых продуктов.

Есть данные, что пенициллы могут поражать плоды яблони, груши, цитрусовых. На яблоках и грушах нередко поселяется *P. expansum*, вызывающий быстро распространяющуюся гниль коричневого цвета. Этот вид обнаруживается также на плодах земляники, томата, винограда, манго, авокадо. *P. digitatum ч*асто поражает плоды апельсина, реже — других цитрусовых. На лимонах наиболее часто встречается *P. italicum,* образующий голубые или голубовато-зелёные колонии. Близкий вид *P. ulaiense* также встречается на плодах апельсина и лимона [3]. «Синяя плесень» — это распространённый термин, используемый для описания нескольких видов *Penicillium*, которые вызывают послеуборочное гниение важных плодовых культур, поскольку конидии гриба на заражённых плодах имеют сине-зелёный цвет. [9].

В последнее десятилетие встречается множество сообщений, в которых рассказывается о фитопатогенном виде *P. solitum,* поражающем как сельскохозяйственные культуры, так и вызывающем послеуборочные заболевания фруктов и овощей. [13].

P. solitum – гриб, относящийся к отделу Аскомицеты. Мицелий гриба септированный, имеет одноядерные или многоядерные гифы. Конидии располагаются на круглых и безъядерных конидиеносцах [2].

Это мезофильный и психротолерантный вид, представители которого были выделены из различных источников, наиболее интересные из них греческие сосиски [4] и морские отложения в Антарктиде [5].

С помощью метода ультрафиолетового облучения из *P. solitum* был выделен новый аналог фенольного компактина - солистатинол. Это вещество входит в состав семейства статинов, соединений снижающих синтез холестерина. Также *P. solitum* продуцирует полигалактуроназу, которая разрушает пектиновые вещества [6].

В работе Жабелян и соавт. (год) сообщалось о фитопатогенности *P. solitum* в отношении семечковых фруктов (яблоко, груша, айва, мушмула) наряду с другими видами *Penicillium*. Однако, в ходе исследования выяснилось, что *P. solitum* является слабым патогеном по сравнению с другими видами [7]. Об этом сообщалось также в исследовании китайских ученых [9]. Сообщается*, что P. solitum* вызывает синюю плесень на яблоках [10], но сильнее поражает груши [8]. Также есть сведения, что *P. solitum* поражал сильнее сорта груш, чем сорта яблок [8].

Также *P. solitum* поражает и другие культуры. Например, в Пакистане был зафиксирован случай заражения картофеля этим грибом. На данный момент это единственный известный подтвержденный случай заражения картофеля *P. solitum*, но что говорит о его потенциальной опасности для этой культуры [11]. В исследовании Чжан Тонг и соавт. (2020) был описан первый случай гнили клубнелуковиц шафрана в Китае, вызванной *P. solitum.* Ранние симптомы включали белый мицелий и серо-зеленые конидии на сморщенных клубнелуковицах, которые позже привели к гибели растений [12].

Цель данной работы: оценить способность *P. solitum* поражать плоды с различной степенью повреждений при хранении.

Материалы и методы

В ходе нашего исследования был проведен тест на патогенность *P. solitum* в отношении яблок и груш согласно модифицированной методике Жабелян и соавт. [7]. Плоды повреждались разными способами (глубокий прокол острым предметом, царапина на кожице, вмятина на кожице без ее повреждения). Затем в рану заливалась конидиальная суспензия гриба *P. solitum* в разведении 10^{-6}. Полученные результаты представлены в таблице.

Таблица 1. Тест на патогенность

Способ повреждения	Яблоко	Груша
	Степень повреждения	
Царапина насквозь	100%	100%
Царапина неглубокая	0%	50%
Вмятина	0%	30%

На основе проведенного анализа можно сделать следующие выводы. *P solitum* вызывает синюю плесень на яблоках в 100% случаях только при значительных повреждениях, таких как глубокие царапины. В то же время груши более подвержены этому патогену даже при незначительных повреждениях, но особенно — при глубоких.

Выводы

Таким образом, проведенный обзор литературы и предварительные эксперименты демонстрируют, что *P. solitum* способен вызывать заболевания как при вегетации растений, так и при послеуборочном хранении фруктов и овощей: семечковые фрукты, картофель и шафран. Однако данный гриб проявляет слабую патогенность по сравнению с другими видами *Penicillium*. Также следует отметить случай поражения картофеля. *P. solitum* поражает груши, в то время как яблоки страдают от него лишь при серьезных повреждениях. Несмотря на это, его способность вызывать заболевания у данных культур требует дальнейшего изучения для разработки эффективных методов борьбы с этим патогеном.

Список литературы:

1. Iglesias-Guevara D., Sánchez-Torres P. Characterization of antifungal properties of avocado leaves and majagua flowers extracts and their potential application to control Alternaria alternata //International journal of food microbiology. – 2024. – Т. 413. – С. 110579. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/antagonisticheskie-svoystva-b-subtilis-protiv-nekotoryh-fitopatogennyh-gribov/viewer
2. Kim WK, et al.Six species of penicillium associated with blue mold of grape. Mycobiology. 2007 Dec;35. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24015094/
3. Pitt, J.I., Hocking, A.D. (1997). Penicillium and Related Genera. In: Fungi and Food Spoilage. Springer, Boston, MA. Режим доступа: https://link.springer.com/book/10.1007/978-0-387-92207-2
4. 1. Papagianni M., Ambrosiadis I., Filiousis G. Mould growth on traditional Greek sausages and penicillin production by Penicillium isolates //Meat Science. – 2007. – Т. 76. – №. 4. – С. 653-657. Режим доступа: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Mould%20growth%20on%20traditional%20

5. Gonçalves, V.N., Vitoreli, G.A., de Menezes, G.C.A. et al. Taxonomy, phylogeny and ecology of cultivable fungi present in seawater gradients across the Northern Antarctica Peninsula. Extremophiles 21, 1005–1015 (2017). https://link.springer.com/article/-0959-6#citeas
6. Larsen T.O., Lange L., Schnorr K., Stander S., Friswad J.K. 2007. Solistatinol, a new phenolic analogue of Penicillium solitum seal. Tetrahedron Lett 48:1261-1264. Режим доступа: https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.12.038
7. Žebeljan A. et al. Incidence, speciation, and morpho-genetic diversity of Penicillium spp. causing blue mold of stored pome fruits in Serbia //Journal of Fungi. – 2021. – Т. 7. – №. 12. – С. 1019. Режим доступа:
https://doi.org/10.3390/jof7121019
8. Low J. P., Korsten L. 2014. Pathogenic species of Penicillium. on an apple and a pear. Plant Dis 98:590-598. Режим доступа:
https://doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0710-RE
9. Yin G. et al. Characterization of blue mold Penicillium species isolated from stored fruits using multiple highly conserved loci //Journal of fungi. – 2017. – Т. 3. – №. 1. – С. 12. Режим доступа:https://doi.org/10.4489/myco.2007.35.4.180
10. Pianzzola M. J., Moscatelli M., Vero S. Characterization of Penicillium isolates associated with blue mold on apple in Uruguay //Plant Disease. – 2004. – Т. 88. – №. 1. – С. 23-28. Режим доступа:https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.1.23
11. Syed Hasib Shah at al.The first identification of potato tuber rot caused by Penicillium solitum, synthesis of silver nanoparticles, characterization and use against harmful pathogens. Frontiers in Plant Science, October 2023. Режим доступа: https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles
12. Zhang, T.; Huang, C.; Deng, C.; Zhang, Y.; Feng, Y.; Hu, J.; Wang, R.; Zhao, L.; Wang, Y.; Kai, G. First Report of Corm Rot on Saffron Caused by *Penicillium solitum* in China. Plant Dis. 2020, 104, 579. Режим доступа: https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-09-19-1927-PDN
13. Puscaselu, R.G.; Gutt, G.; Amariei, S. The use of edible films based on sodium alginate in meat product packaging: An eco-friendly alternative to conventional plastic materials. Coatings 2020, 10, 1–16

УДК 631.4

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПШЕНИЦЫ, ВЫЗВАННЫЙ ГИПОКСИЕЙ И ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА

***Даулетова Радмила Бауржановна**, студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, r_dauletova03@mail.ru*
***Кононенко Неонила Васильевна**, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии» nilava@mail.ru*

Набиуллина Индира Рушановна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, indiranabiullina@yandex.ru*

Савенко Екатерина Михайловна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, kateryna1900@gmail.com*

Селицкая Ольга Валентиновна, *к.б.н., Доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru*

Аннотация. *Окислительный стресс изучали у мягкой и твердой пшеницы под действием гипоксии и перекиси водорода. В работе рассмотрены причины и последствия генерации АФК и функционирование антиоксидантной системы. Целью работы было изучение влияния стрессовых факторов, таких как гипоксия и действие перекиси водорода, на образование и локализацию АФК у двух генотипов пшеницы Triticum aestivum (Ор-22) и Triticum durum (Ор-10) и защитного действия кверцетина от АФК. Методами световой и флуоресцентной микроскопии, а также биохимическими методами получены результаты, причем наиболее устойчивым к гипоксии оказался сорт Ор-10, поскольку отличался меньшим количеством АФК - окрашенных клеток и меньшей интенсивностью флуоресценции, а устойчивый к перекиси водорода – сорт Ор-22. Обработка проростков пшеницы кверцетином после воздействия стрессовых факторов частично восстанавливает рост проростков только сорта Оренбургская 22. Предобработка кверцетином эффективна и способствует защите от окислительного стресса.*

Ключевые слова: активные формы кислорода (АФК), гипоксия, программированная клеточная смерть (ПКС), кверцетин.

Введение

Различные стрессовые факторы приводят к повышению уровня активных форм кислорода (АФК) и усилению повреждения различных тканей растений. Избыточная продукция АФК при окислительном стрессе является частью многих стрессовых ситуаций, включая гипоксию и действие перекиси водорода. Под активными формами кислорода подразумевают совокупность взаимно превращающихся высоко реакционноспособных форм кислорода, большинство из которых существует короткое время [1] Окислительный стресс – это процесс, возникающий в результате повышенной концентрации активных форм кислорода (АФК) в клетках организма, и является ключевым компонентом реакций организма на стрессовые условия среды и имеет сложный и разнообразный метаболизм [2]. Эволюция аэробного метаболизма, такого как дыхание и фотосинтез, привела к генерации активных форм кислорода (АФК). Общим свойством всех типов АФК является то, что они могут вызывать окислительное повреждение [3].

К активным формам кислорода относятся такие свободнорадикальные частицы как супероксид (O_2-), гидроксил (OH), пероксил (ROO·), а также перекись водорода (H_2O_2), синглетный кислород (1[O2]) и озон (O_3). Эти молекулы в растениях обычно представлены в очень низких концентрациях, но под влиянием различных факторов стресса производство АФК значительно возрастает [4].

К следствиям окислительного стресса вызванного АФК относятся перекисное окисление липидов и фосфолипидов клеточных мембран, окислительное повреждение белков (например, по остаткам тирозина, цистеина и серина), Fe-центры ферментов, фрагментация пептидных цепей (повышает чувствительность белков к действию протеаз), повреждение клеточной и митохондриальной ДНК, снижение активности антиоксидантов клетки из-за окисления глутатиона и НАДФН2. Реактивные производные кислорода могут взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами, повреждая азотистые основания, дезоксирибозы и рибозы. Модификация азотистых оснований приводит к разрывам водородных связей между цепями ДНК и повреждению хромосом [4].

Целью данной работы было изучение влияния стрессовых факторов, таких как гипоксия и действие перекиси водорода, на образование и локализацию АФК у двух генотипов пшеницы *Triticum aestivum* и *Triticum durum* и защитного действия кверцетина от АФК.

Объекты и методы исследования

В работе использованы два сорта пшеницы Оренбургская 22 (Triticum aestivum) и Оренбургская 10 (Triticum durum). В эксперименте изучено влияние гипоксии на уровень АФК двух сортов пшеницы. В качестве модели дополнительного образования АФК в пшенице использовали воздействие 1% H_2O_2. В эксперименте на проростках пшеницы использовали 0,3% раствор кверцетина. Растения выращивали в рулонах. Внесение кверцетина после или до стресса на пшеницу позволило определить защитные свойства кверцетина для антиоксидантной системы

Кончик корня пшеницы (4-5 мм) отделяли и помещали на предметные стекла в каплю воды не менее 5 штук на стекло. Прижизненные препараты анализировали с использованием микроскопа Olympus BX-51, объектив 10, при длине волны 490. Детекция продукции АФК производили с помощью маркера Carboxy-H2DFF и программы ImageJ, что позволило установить различную интенсивность флуоресценции в зонах корня и тканях пшеницы.

Результаты и обсуждение

Методами световой и флуоресцентной микроскопии, а также биохимическими методами установлено, что у растений пшеницы под действием гипоксии (24 ч) при окрашивании корней сортов Оренбургская 22 и Оренбургская 10 маркером АФК Carboxy-H2DFF наблюдается разное количество продукции АФК. У сорта Оренбургская 22 продукция АФК увеличивалась в большей степени по сравнению с сортом Оренбургская 10. Зоны корня отмечены от наиболее интенсивной флуоресценции до ее отсутствия. Полученные данные показывают, что при гипоксии наиболее интенсивное окрашивание АФК наблюдается в зонах чехлика и деления. При этом по сравнению с контролем повышение уровня АФК в наибольшей степени наблюдается в клетках эпидермиса и кортекса, и в меньшей степени - в клетках центрального цилиндра.

Для выживания организма в условиях гипоксического стресса индуцируется ПКС. В условиях гипоксического стресса были обнаружены доказательства образования АФК в условиях низкого содержания кислорода. Наблюдаемое при гипоксии снижение содержания АТФ увеличивает вероятность образования АФК за счет ингибирования митохондриальной цепи переноса электронов.

В наших исследованиях показано, что под действием H_2O_2 (1%, 1 ч) при окрашивании корней проростков пшеницы сортов Оренбургская 22 и Оренбургская 10 маркером АФК Carboxy-H2DFF происходит различное накопление продукции АФК, определяемое по интенсивности флуоресценции, в зависимости от сорта и от зон корня. Полученные данные показывают, что под действием перекиси водорода максимальное количество продукции АФК накапливается в зонах чехлика и меристемы.

В контроле оба сорта пшеницы, в отличие от опыта, показывают более низкий уровень окислительного стресса. Оценивая сделанные фотографии, можно сделать вывод, что наиболее устойчивым к гипоксии является сорт Ор-10, поскольку отличается меньшим количеством АФК - окрашенных клеток и меньшей интенсивностью флуоресценции (свечение на фотографии – накопление флуоресцентного маркера). Но Ор-10 хуже, чем Ор-22 переносит действие перекиси водорода.

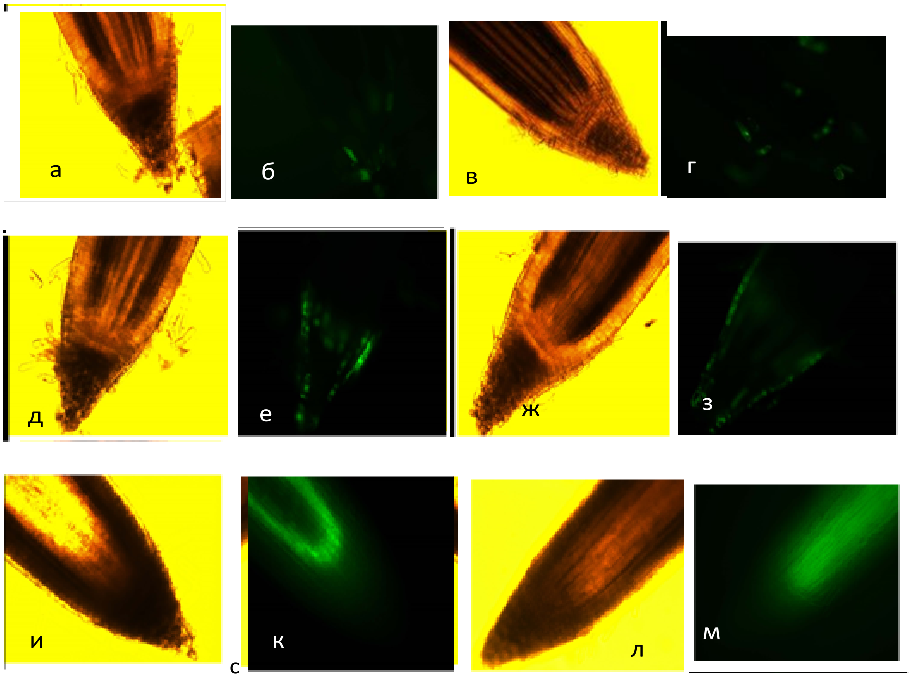


Рис. Флуоресцентное окрашивание клеток корневой меристемы пшеницы сортов Ор22 (а, б – контроль, д, е – гипоксия, и, к – перекись водорода) и Ор 10 (в, г – контроль, ж, з – гипоксия, л, м – перекись водорода)

Растения обладают развитой мощной антиоксидантной системой, которая позволяет им нейтрализовать избыток АФК. Воздействие абиотических стрессов на пшеницу запускает систему антиоксидантной защиты. На основании полученных результатов выявлена разная активация различных компонентов АФК у двух генотипов пшеницы. В основе защитной реакции сорта Оренбургская 10 лежит высокое содержание GSH и активация глутатион зависимых ферментов, а сорт Оренбургская 22 отличается высоким уровнем экспрессии генов *MnSOD* и *Cu/ZnSOD*. Антиоксидант кверцетин снижает образование АФК, повышает уровень *MnSOD* и *Cu/ZnSOD*. Обработка проростков пшеницы кверцетином оказывает защитное действие и защищает от токсического воздействия абиотических факторов. Обработка проростков пшеницы кверцетином после воздействия стрессовых факторов частично восстанавливает рост проростков только сорта Оренбургская 22. Предобработка кверцетином эффективна и способствует защите от окислительного стресса. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации методов отбора устойчивых к гипоксии растений на ранних этапах их развития.

Список литературы:

1. Ардакова Э. А. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений / Э. А. Ардакова, Т. М. Ергалиев // Экология и география растений и растительных сообществ: материалы IV международной научной конференции (Екатеринбург, 16–19 апреля 2018 г.). — Екатеринбург: Издательство Уральского университета, Гуманитарный институт, 2018. — С. 32-36.
2. Demidchik, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology / V. Demidchik // Environmental and Experimental Botany. – 2015. – Vol. 109. – P. 212–228. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021.
3. Pitzschke A, Forzani C, Hirt H. Reactive oxygen species signaling in plants. Antioxidants and Redox Signaling. 2006;8(9–10):1757–1764. doi: 10.1089/ars.2006.8.1757.
4. Mazid M., Khan T.A., Mohammad F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Biology and Medicine, 2011, no. 3, pp. 232-249.

УДК 631.4

ФИЗИОЛОГО - БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ РОДА *PSEUDOMONAS*, ПРОЯВЛЯЮЩИХ АНТАГОНИЗМ ПРОТИВ *ERWINIA AMYLOVORA*

Ерёмина Ульяна Валентинова, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, veu-q@yandex.ru*
Дренова Наталия Васильевна, *старший научный сотрудник ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», drenova@mail.ru*
Шукова Анастасия Сергеевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, shukvaa@gmail.com*
Агаркова Надежда Алексеевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, agarkova.nadezhda2023@yandex.com*
Селицкая Ольга Валентиновна, *к.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru*

Аннотация: *Проведена идентификация и биохимическая оценка биоагентов против Erwinia amylovora. Предварительно определены возможные механизмы подавления роста возбудителя бактериального ожога плодовых представителями р. Pseudomonas: штаммы выделяет токсичные для патогена метаболиты в ходе ферментативных реакций или замедляют рост E. amylovora за счёт конкуренции или использования большего количества субстратов.*

Ключевые слова: антагонизм, *Erwinia amylovora, биохимия, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida, Pseudomonas asgharzadehiana, Pseudomonas orientalis*

Введение:

Erwinia amylovora (Burrill) Winslow et al.- фитопатоген с карантинным статусом, вызывающий бактериальный ожог плодовых. Необходимо аккуратно подходить к методам защиты растений, не забывая про экологическую безопасность человека и животных. Поэтому актуален поиск новых штаммов биоагентов. Известно, что среди видов р. *Pseudomonas* много штаммов, проявляющих антагонизм к патогенам растений. Механизмы подавления возбудителей представителями рода различны.

Например, есть данные экспериментов по взаимодействию культур в лунках планшет и в экстракте незрелых яблок, которые показывают, что межклеточная интерференция, а также различия в потенциале роста, спектре и эффективности использования питательных веществ являются механизмами антагонизма *Pseudomonas fluorescens* против *E. amylovora* [3]. В другом исследовании, *P. fluorescens* обеспечивает биологическую борьбу с *E. amylovora* с помощью снижения секреции нектара, вызванное присутствием штамма, или накопления токсичных веществ в тканях цветков [5].

Также стоит отметить, что в вирулентности *E. amylovora* играют роль экзополисахариды амиловоран и леван. Субстратом для синтеза левана (полифруктозы) является сахароза. Галактоза – одна из составляющих другого экзополисахарида – амиловорана, который также играет большую роль в патогенезе [4]. Цель исследования: выявление биохимических свойств антагонистических штаммов р. *Pseudomonas*, значимых при разработке биопрепаратов против *E. amylovora*.

Материалы и методы:

На предыдущем этапе нами в ходе лабораторных и вегетационных опытов были отобраны штаммы бактерий рода *Pseudomonas*, проявляющих стабильную активность против *E. amylovora* [1].

Все исследуемые штаммы на среде Кинга В образовывали бело-прозрачные, выпуклые, округлые колонии, продуцировали флуоресцеин, заметный под УФ-излучением.

Первичная идентификация проводилась методом секвенирования гена 16S рДНК по Сэнгеру. Пробоподготовка — кипячение суспензий культур с концентрацией 10^9 КОЕ/мл при 98°С в течении 10 минут. Далее постановка классической ПЦР с использованием универсальных праймеров 8UA/519B. Использовали набор реактивов Encyclo PCR kit (ЗАО «Евроген», РФ). Реакцию проводили в термоциклере BioRad C1000 Touch по следующей программе: 5 мин - 95° С; 35 циклов: 15 с - 95° С, 30 с - 58° С, 1 мин - 72° С; 5 мин при 72° С. Электрофорез продуктов амплификации проводили в 1,5% агарозном геле в течение 90 мин, при напряжении 115V и силе тока 165 мА.

Для отдельных штаммов было проведено коммерческое полногеномное секвенирование.

Для всех штаммов проведены биохимические тесты системой API 20E (BioMerieux, США) по инструкции производителя. Аналогичные тесты были проведелы в предыдущих исследованиях для 40 штаммов *E. amylovora* коллекции ФГБУ «ВНИИКР».

Результаты и обсуждение:

Морфология и секвенирование позволили отнести штаммы к двум группам: DN36, DN82, DN94, DN397, DN487, A8, Ae11, Ae24 - *Pseudomonas fluorescens gr.;* DN42 - *Pseudomonas putida gr*.

По результатам полногеномного секвенирования получены следующие результаты: A8- *Pseudomonas asgharzadehiana Girard et al* (ранее относящийся к *Pseudomonas putida* (Trevisan 1889) *Migula* et al.); Ae24, DN397, DN487 - *Pseudomonas orientalis* Dabboussi et al.

Результат биохимических тестов изучаемых штаммов и реакции *Erwinia amylovora* в API 20E тестах представлены в таблице.

Таблица

Результаты биохимических тестов в сравнении с *Erwinia amylovora*

Штаммы/ реакция	Ферментативные системы											Сбраживание / окисление субстратов									$N0_3$ до:	
	β-галактозидаза	аргининдигидролаза	лизиндекарбоксилаза	орнитиндекарбоксилаза	утилизация цитратов	продукция сероводорода	уреаза	триптофандеаминаза	продукция индола	продукция ацетоина	желатиназа	D-глюкоза	D-маннит	инозит	D-сорбит	L-рамноза	D-сахароза	D-мелибиоза	амигдалин	L-арабиноза	NO2	N2
A8	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
Ae24	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
DN397	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-
DN487	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
DN42	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Ae11	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
DN36	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
DN82	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
DN94	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
E.amylovora*	B	-	-	-	-	-	-	-	-	+	B	+	B	B	B	-	+	-	-	B		

Примечание: «–» реакция отрицательна; «+» реакция положительна; B – вариабельные результаты.
** - обобщённые результаты для 40 штаммов*

Большинство биоагентов, в отличие от *E. amylovora*, обладают способностью к утилизации цитратов, а также имеют следующие ферменты и ферментативные системы: аргининдигидролаза, уреаза, триптофандеаминаза; а также в меньшей степени: лизиндекарбоксилаза, орнитиндекарбоксилаза. Также штаммы активнее используют недоступные для фитопатогена источники углерода, в особенности D-мелибиозу (кроме DN397).

Заметно выделяются DN397, DN42 и DN82, у которых обнаружена β-галактозидазная (ортонитрофенил-β-D-гелактопиранозидаза) ферментативная активность, встречающаяся у *E. amylovora*. Также эти штаммы используют D-сахарозу, которая используется возбудителем бактериального ожога плодовых для синтеза левана, участвующего в патогенезе. Можно предположить, что культуры биоагента и патогена конкурируют за использование D-сахарозы, но в опытах на левановой среде, из углеводов содержащей только сахарозу, штамм DN397 не образовывал зону подавления *E. amylovora* [2]. На средах 925, R2A, ПДГА, содержащих глюкозу, и среде Кинга Б, содержащей глицерин, зоны подавления у штамма DN397 отличались слабо 5,7-8,3 мм. На левановой среде штаммы DN42 и DN82 образовывали зоны около 10 и 2 мм соответстенно, что может указывать на конкуренцию за сахарозу. Кроме того, штаммы DN397, DN42 и DN82 утилизируют глюкозу и сорбит - обычные углеводы растений сем. Розовые (лат. *Rosáceae*), которые служат субстратами и для большинства штаммов *E. amylovora*.

Поэтому механизм антагонизма может заключаться как в конкуренции за глюкозу и сахарозу (DN42 и DN82), так и в ферментативных реакциях с выделением токсичных для *E. amylovora* веществ (DN397).

Интересно рассмотреть штаммы, значительно отличающиеся от *E. amylovora* по биохимическим свойствам. A8 отличается способностью к восстановлению нитратов до газообразного азота. Аэробное окисление нитратов до нитритов осуществляют штаммы Ae24, DN42 и DN82. Предварительно отнесённый к группе *P. putida* штамм DN42 имеет самый широкий спектр положительных тестов и по ферментам, и по субстратам.

Заключение:

На этапе биохимических тестов в совокупности с чашечными методами на антагонизм можно сделать предположение о возможных механизмах подавления роста *Erwinia amylovora*. Механизм антагонизма исследованных псевдомонад может заключаться как в конкуренции за глюкозу (DN42 и DN82), так и в ферментативных реакциях с выделением токсичных для *E. amylovora* веществ (DN397). Штамм DN42 благодаря широкому спектру физиолого-биохимических возможностей может быть наиболее интересным для дальнейших исследований. Обобщая, штаммы выделяют токсичные для патогена метаболиты в ходе ферментативных реакций или замедляют рост *E. amylovora* за счёт использования большего количества субстратов.

Исследование проводится в рамках Государственного задания, рег. № НИОКТР 123042100020-5.

Список литературы:
1. Дренова Н.В., Селицкая О.В., Ванькова А.А., Еремина У.В., Шукова А.С., Агаркова Н.А., Джалилов Ф.С. Бактериальный ожог плодовых культур в РФ: разработка мер борьбы // Садоводство и питомниководство России: современные тенденции, проблемы и перспективы. Сады России – взгляд в будущее: сборник материалов Международной научно-практической конференции, приуроченной к 70-летию со дня рождения В.В. Степанова: г. Челябинск, 16 октября 2024 г./ под об. ред. Н.Н. Зезина и др. ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН. – г.Челябинск: АО «Челябинский Дом печати». - 2024. – С.55-63.
2. Фоменко М.А., Дренова Н.В., Селицкая О.В. Поиск эффективных культуральных сред для бактерий рода *Pseudomonas* - антагонистов *Erwinia amylovora* // Фитосанитария. Карантин растений. – 2024. – № S2-1(18). – С. 25. – EDN FWPUIZ.
3. Cabrefiga J., Bonaterra A., Montesinos E. Mechanisms of antagonism of *Pseudomonas fluorescens* EPS62e against *Erwinia amylovora*, the causal agent of fire blight //International Microbiology. – 2007. – Т. 10. – №. 2. – С. 123.
4. Geider K. Exopolysaccharides of Erwinia amylovora: structure, biosynthesis, regulation, role in pathogenicity of amylovoran and levan / Fire blight: The disease and its causative agent *Erwinia amylovora*. – 2000. – P. 117-140.
5. Wilson M., Lindow S. E. Interactions between the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* A506 and *Erwinia amylovora* in pear blossoms //Phytopathology. – 1993. – Т. 83. – №. 1. – С. 117-123.

УДК 631.4

ВЛИЯНИЕ СУБСТРАТА ОТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШАМПИНЬОНА В КАЧЕСТВЕ ОРГАНИЧЕСКОГО УДОБРЕНИЯ НА ФИТОПАТОГЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВЫ В УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ

Калапкина Анастасия Михайловна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*
Храпоничев Пётр Владимирович*, магистр 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*
Травников Игорь Дмитриевич*, магистр 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*
(Научный руководитель – Козлов Андрей Владимирович, д.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева)

Аннотация: *Фитопатогены, такие как болезнетворные микроорганизмы, могут стать серьезным ограничением для урожайности и качества капусты, что приводит к убыткам для фермеров и микробиологического сообщества в целом. Применение химических пестицидов часто используется для контроля фитопатогенов, однако это может привести к негативным последствиям для окружающей среды, здоровья человека и биоразнообразия.*

Ключевые слова: субстрат, ризосфера, фитопатогенные микроорганизмы, возбудители.

В ризосфере находится огромное количество микроорганизмов, таких как бактерии, грибы и вирусы, которые играют ключевую роль в цикле питания растений. Микроорганизмы в ризосфере выполняют несколько важных функций: биологическое усвоение питательных веществ, некоторые микроорганизмы способны растворять недоступные для растений минеральные соединения, делая их доступными для корней. Защита от патогенов: некоторые микроорганизмы конкурируют с патогенными микроорганизмами за ресурсы и пространство в ризосфере, что способствует защите корней растений от болезней. В этом контексте органические удобрения становятся все более популярными, так как они способствуют улучшению биологического состояния почвы и увеличению ее урожайности, а также снижают риск заболеваний растений. Одним из перспективных органических удобрений является субстрат от культивирования шампиньонов.

Субстраты, используемые при выращивании шампиньонов, обогащены органическим веществом, микроорганизмами и питательными элементами, что делает их ценным ресурсом для улучшения почвенной среды. После завершения культивации грибов, эти субстраты могут быть использованы в качестве удобрений для растений, способствуя росту, здоровью и урожайности культур.

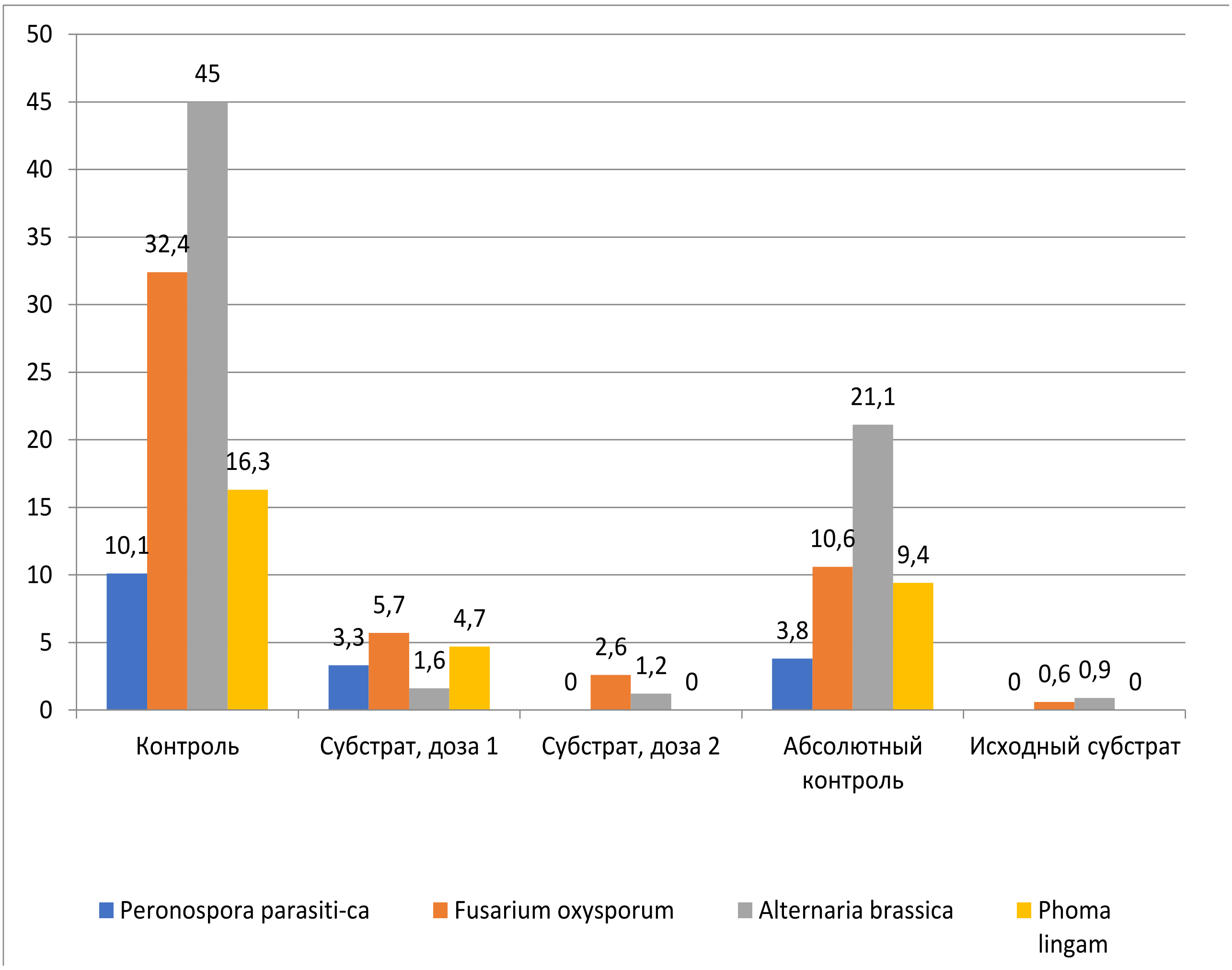
Целью исследования является оценка влияния субстрата от промышленного культивирования шампиньонов на фитопатогенное состояние почвы при выращивании капусты белокочанной.

В почве проводили идентификацию возбудителей наиболее распространенных болезней капусты и определяли их численность путем высева почвенной (субстратной) суспензии на общие и селективные питательные среды методом Коха с разведением почвы и субстрата по Пастеру.

Эксперимент показал, что в ризосфере, окружающей корни капусты, количество бактерий и грибов значительно превышает их численность в обычной почве и в субстрате для выращивания шампиньонов. Конкретно, в ризосфере на 77% больше бактерий и на 55% больше грибов, чем в исходной почве. По сравнению с ризосферной почвой, в шампиньонном субстрате бактерий на 58% меньше, а грибов – вдвое меньше (на 91%). Ризосфера естественно обогащена питательными веществами и стимуляторами роста из корневых экссудатов, что способствует более высокой плотности сапротрофных микроорганизмов.

Исследование также выявило, что использование шампиньонного субстрата приводит к уменьшению количества бактерий и грибов в ризосфере. Грибы реагируют на это изменение сильнее, чем бактерии. При добавлении первой и второй дозы шампиньонного субстрата наблюдалось сокращение количества сапротрофных бактерий на 9% и 16%, в то время как грибы уменьшались на 62% и 69% соответственно. Это подчеркивает важность изучения влияния различных субстратов на микробное сообщество ризосферы.

Исследование показало, что использование субстрата, полученного в процессе выращивания шампиньонов, эффективно подавляло рост фитопатогенных микроорганизмов в почве. В контрольной группе, где субстрат не использовался, были обнаружены все виды микроорганизмов, вызывающих заболевания капусты. При добавлении первой дозы субстрата, численность грибка Peronosporaparasitica уменьшилась на 67%, а при второй дозе его рост был полностью подавлен. Схожие результаты наблюдались и для грибка Phomalingam: при первой дозе его численность сократилась на 71%, а при второй дозе гриб полностью исчез из почвы.



Грибы, вызывающие фузариоз и альтернариоз капусты, также значительно уменьшились в численности благодаря применению субстрата, снижение составило 82-92% и 96-97% соответственно, хотя и не было достигнуто полное подавление их роста.

При этом, статистически значимого влияния дозы субстрата на численность этих грибов не было замечено, но при высокой дозе в почве оставалось минимальное количество Fusariumoxysporum и Alternariabrassica. Отмечается, что в исходной почве количество фитопатогенных грибов было на 42-67% ниже, чем в ризосферной почве капусты, в зависимости от вида патогена.

В то же время, численность бактерий-возбудителей инфекций была выше в исходной почве: на 28% для ксантомонад и на 87% для пектобактерий. Это указывает на то, что условия в ризосфере корней капусты могут быть неблагоприятными для развития этих бактерий. Бактерии, вызывающие сосудистый и слизистый бактериоз капусты (Xanthomonascampestris и Pectobacteriumcarotovorum соответственно), которые были найдены в почве без субстрата, полностью подавлялись при его использовании. Исключение составила группа с первой дозой субстрата, где численность ксантомонад была на 93% ниже по сравнению с контролем.

Наконец, исходный шампиньонный субстрат почти не содержал микроорганизмов, патогенных для капусты, за исключением Fusariumoxysporum и Alternariabrassica, присутствующих в минимальном количестве. Их численность была на 98% ниже, чем в ризосферной почве, не обработанной субстратом.

Применение шампиньонного субстрата в качестве органического удобрения капусты способствует среднему снижению общей численности сапротрофных бактерий (до 16%) и существенному уменьшению численности грибной микробиоты (до 69%). Увеличение дозы субстрата практически не оказывает воздействия на численность сапротрофных микроорганизмов в ризосферной части почвы под капустой.

Применение субстрата способствует существенному ингибированию развития фитопатогенных грибов в ризосферной почве капусты (до 97% по фузариям и альтернариям) и вплоть до полного исчезновения в отношении грибов *Peronosporaparasitica* и *Phomalingam*. Использование шампиньонного субстрата приводит к полному угнетению развития исследованных бактерий-фитопатогенов в почве ризосферы капусты белокочанной (*Xanthomonascampestris, Pectobacteriumcarotovorum*).

Список литературы:

1. Добровольский Г.В., НикитинЕ.Д. Экология почв. - М.: Изд-во МГУ, 2006, 315 с.
2. Ковда В.А. Патология почв и охрана биосферы планеты. / Сб. научных трудов «Пространственно-временная организация и функционирование почв», Пущино, 1990, с. 8-43
3. Соколов М.С., Терехов В.И. Современная концепция биологической защиты растений // Агрохимия, 1995, № 4, с. 41-49.
4. Соколов М.С., Марченко А.И., Санин С.С., Торопова Е.Ю., Чулкина В.А., Захаров А.Ф. Здоровье почвы агроценозов как атрибут ее качества и устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам // Известия ТСХА. вып. 1, 2009, с. 13-22.
5. Uzun I. Use of spent mushroom compost in sustainable fruit production. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 2004, v. 12, pp. 157–165.

УД 631.4

АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ BACILLUS SUBTILIS И МИНЕРАЛЬНОГО УДОБРЕНИЯ NPK В ПОСЕВЕ LATUCA SATIVA

Козлов Андрей Владимирович, *к.б.н., профессор, профессор кафедры микробиологии, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. Тимирязева, a.kozlov@rgau-msha.ru*
Журавлёв Дмитрий Иванович*, магистр 2 курса, Институт Мелиорации, Водного Хозяйства И Строительства им. Костякова, кафедра Экологии и Природопользования, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. Тимирязева, dimzhur03@gmail.com*
Никитенко Антон Михайлович*, магистр 2 курса, Институт Мелиорации, Водного Хозяйства И Строительства им. Костякова, кафедра Экологии и Природопользования, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. Тимирязева, brokendrummachine@mail.ru*

Аннотация: *Современное сельское хозяйство стремится к повышению урожайности без ущерба для окружающей среды. Однако постоянное использование минеральных удобрений NPK приводит к ряду экологических проблем, включая закисление почвы, снижение биологического разнообразия и загрязнение водоемов. В статье рассматривается перспективность интеграции бактерии Bacillus subtilis с традиционными удобрениями NPK для улучшения усвояемости питательных веществ, защиты растений от стрессов и снижения экологического воздействия. Исследование показало, что использование Bacillus subtilis в сочетании с NPK способствует увеличению урожайности салата (Lactica sativa), уменьшению дозировки удобрений и снижению загрязнения окружающей среды, что делает эту стратегию эффективной для экологически устойчивого земледелия*

Ключевые слова: *сельское хозяйство, минеральные удобрения NPK, экологическая устойчивость, биологическое разнообразие, синергия растений и бактерий, удобрения.*

Введение.

Современное сельское хозяйство сталкивается с необходимостью поиска решений, которые позволят повышать урожайность без ущерба для окружающей среды. Минеральные удобрения на основе азота, фосфора и калия (NPK) остаются основным источником питательных веществ для сельскохозяйственных культур, но их использование сопровождается рядом экологических проблем. Постоянное применение NPK-удобрений способствует закислению почв, снижению биологического разнообразия, ухудшению структуры почвы и увеличению риска загрязнения водоемов вследствие стока удобрений. В связи с этим ученые ищут экологически безопасные альтернативы, направленные на сохранение почвенного здоровья и устойчивости агроэкосистем.

Одним из перспективных подходов является интеграция биологических удобрений, таких как *Bacillus subtilis*, с традиционными NPK-удобрениями. *Bacillus subtilis* — это полезная почвенная бактерия, которая способствует мобилизации питательных веществ, синтезирует природные фитогормоны и помогает растению справляться с воздействием патогенов и стрессами. Использование *Bacillus subtilis* позволяет снизить количество минеральных удобрений, улучшая доступность питательных веществ для растений и минимизируя вредное воздействие на окружающую среду.

Цель данного исследования — рассмотреть взаимодействие *Bacillus subtilis*, NPK и растений, особенно салата (*Lactuca sativa*), и показать, каким образом это сочетание способствует не только повышению урожайности, но и улучшению экологических параметров агроэкосистем.

Литературный обзор:

Экологический контекст и роль NPK в сельском хозяйстве

Минеральные удобрения NPK широко применяются в сельском хозяйстве из-за их высокой эффективности в обеспечении растений основными питательными веществами, такими как азот (N), фосфор (P) и калий (K). Каждый из этих элементов жизненно необходим для полноценного развития растений: азот способствует синтезу белков и росту листьев, фосфор обеспечивает энергетические процессы и развитие корневой системы, а калий поддерживает регуляцию водного баланса и устойчивость растений к стрессам. Однако эффективность этих удобрений ограничена, так как растения часто усваивают лишь часть внесенных веществ. Невостребованные излишки, в свою очередь, могут попадать в грунтовые воды и вызывать загрязнение водоемов, что негативно сказывается на экосистемах и биоразнообразии.

Переизбыток NPK, особенно азота и фосфора, способствует эвтрофикации водных систем. Накопление фосфатов и нитратов в водоемах вызывает бурное размножение водорослей, что приводит к истощению кислорода и массовой гибели водных организмов. Это подчеркивает важность использования экологически безопасных решений, позволяющих улучшить усвояемость NPK растениями и снизить дозировку минеральных удобрений без ущерба для урожайности.

Механизм взаимодействия Bacillus subtilis, NPK и растений

Bacillus subtilis играет ключевую роль в улучшении эффективности использования минеральных удобрений растениями и снижении экологического воздействия сельского хозяйства. Важнейший механизм действия этой бактерии заключается в её способности улучшать доступность питательных веществ и защищать растения от стрессов. Совместное использование *Bacillus subtilis* с NPK усиливает процессы поглощения питательных веществ и снижает вымывание удобрений из почвы, минимизируя экологический ущерб.

1. **Мобилизация питательных веществ**. Одним из ключевых свойств *Bacillus subtilis* является её способность преобразовывать фосфор и азот в доступные для растений формы. Бактерия синтезирует органические кислоты, которые растворяют неусвояемые фосфорные соединения в почве. Благодаря этому растения могут получать больше фосфора из почвы, что снижает необходимость в дополнительном внесении удобрений. Также бактерия фиксирует азот, переводя его в форму, которую растение способно использовать, что способствует лучшему росту и развитию культур.

2. **Синтез фитогормонов**. *Bacillus subtilis* синтезирует ряд фитогормонов, включая ауксины, цитокинины и гиббереллины, которые стимулируют рост и укрепляют корневую систему. Укрепление корней позволяет растению

более эффективно поглощать воду и питательные вещества, а также увеличивает устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды, таким как засуха и засоление почв. Эта способность бактерии снижает потребность растений в высоких дозах минеральных удобрений и улучшает устойчивость агроэкосистемы к внешним стрессам.

3. **Формирование биопленок и защита от патогенов**. *Bacillus subtilis* образует биопленки на корнях растений, создавая защитный барьер от почвенных патогенов и вредителей. Биопленки также способствуют закреплению бактерий на корнях, что увеличивает их выживаемость в агрессивной среде. Это защищает растения от заболеваний и позволяет им сохранять продуктивность даже в стрессовых условиях, таких как высокие температуры или недостаток влаги.

4. **Снижение потерь азота и минимизация загрязнения**. *Bacillus subtilis* способствует снижению вымывания азота за счет того, что предотвращает его потерю из почвы в виде газов. Это достигается через активацию ферментов, которые связывают азот, делая его доступным для растения в течение более продолжительного периода. Таким образом, синергия *Bacillus subtilis* с NPK позволяет использовать удобрения более эффективно, сокращая их количество и предотвращая загрязнение водоемов и почв.

Результаты использования комбинации Bacillus subtilis и NPK в выращивании салата

Исследования показывают, что совместное использование *Bacillus subtilis* и NPK положительно влияет на рост, продуктивность и устойчивость сельскохозяйственных культур, таких как салат (*Lactuca sativa*). Экспериментальные данные свидетельствуют, что при использовании *Bacillus subtilis* биомасса салата увеличивается на 30–45% по сравнению с контролем, где применялись только минеральные удобрения. Укрепление корневой системы способствует улучшению усвоения воды и питательных веществ, что особенно важно в условиях засухи или бедных почв.

Дополнительно, применение *Bacillus subtilis* увеличивает содержание фосфора и азота в тканях растений, что положительно сказывается на их здоровье и продуктивности. Применение комбинации NPK и *Bacillus subtilis* приводит к увеличению зеленой массы салата, улучшению его вкусовых качеств и повышению устойчивости к биотическим стрессам, таким как патогенные грибы и бактерии.

Экологические преимущества и перспективы

Использование *Bacillus subtilis* вместе с минеральными удобрениями оказывает положительное воздействие на агроэкологические показатели, снижая потребность в химических удобрениях и сохраняя плодородие почвы. Применение бактерии в сельском хозяйстве способствует сохранению биоразнообразия почвы, улучшает её структуру и предотвращает вымывание питательных веществ, что уменьшает негативное воздействие на водные экосистемы. Это особенно важно в условиях изменения климата, когда устойчивое сельское хозяйство становится одной из ключевых задач.

Снижение количества удобрений NPK на 50% при сохранении урожайности за счет добавления *Bacillus subtilis* может стать эффективным способом минимизации экологических рисков, связанных с загрязнением почв и водоемов. Экологические преимущества данного подхода заключаются в сокращении количества вредных стоков, уменьшении риска накопления нитратов и фосфатов, что позволяет сохранить качество питьевой воды и уменьшить нагрузку на окружающую среду. Комбинирование NPK и *Bacillus subtilis* может способствовать достижению экологических целей, направленных на уменьшение углеродного следа и уменьшение использования синтетических агрохимикатов.

Заключение

Комбинация *Bacillus subtilis* с удобрениями NPK представляет собой перспективный метод для повышения устойчивости сельскохозяйственного производства и снижения негативного воздействия на окружающую среду. Это позволяет не только увеличить урожайность, но и сохранить плодородие почвы, защитить водные экосистемы от загрязнения и улучшить структуру агроэкосистемы. Экологические преимущества использования *Bacillus subtilis* особенно важны в контексте современных климатических вызовов, так как они обеспечивают более рациональное использование ресурсов и минимизируют вредное воздействие на природу.

Таким образом, интеграция *Bacillus subtilis* и NPK-удобрений может стать основой экологически устойчивых аграрных технологий, способствующих сохранению природных ресурсов и обеспечению продовольственной безопасности в долгосрочной перспективе.

УДК 631.363

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА BACILLUS И PSEUDOMONAS НА ПОСЕВНОЙ МАТЕРИАЛ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

Кореньков Сергей Алексеевич*, студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, korenkov-serezha@mail.ru*
Исаева Софья Максимовна*, студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, sofya.m.isaeva@gmail.com*
Сухоруков Андрей Игоревич*, студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, andr.s2003@mail.ru*
Козлов Андрей Владимирович*, д.б.н., доцент, заведующий кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.kozlov@rgau-msha.ru*

Аннотация: *в современном сельском хозяйстве полифункциональность биопрепаратов является противовесом для химизации почв. Их свойства позволяют решить вопросы питания, защиты и стимуляции роста растений. В частности, в данной обзорной статье, будет проведён сравнительный анализ биопрепаратов на основе бактерий рода Bacillus и Pseudomonas*

Ключевые слова: биопрепараты, фитопатогены, Bacillus, Pseudomonas, стимуляция, защита растений, ризосфера, пшеница

Введение

Впервые вопрос об начале использования биопрепаратов, на тот момент называемых бактериальными удобрениями, поднял Сергей Николаевич Виноградский (1856-1953). В конце 19 века он провел фундаментальные исследования азотфиксации, фотосинтеза и других микробиологических процессов, которые имеют ключевое значение для понимания взаимодействия микроорганизмов и растений.

Перед началом активного изучения тематики биопрепаратов, в начале 20 века, был создан «Нитрогин», содержавший в себе бактерии рода Rhizobium, которые способны переводить атмосферный азот в доступную для растений форму

В 1900 году был разработан Азотобактерин на основе бактерий рода Azotobacter под руководством Сергея Николаевича Виноградского.

После создания азотобактерина, биопрепараты постепенно развивались и играли всё более значимую роль в сельском хозяйстве России.

Материалы и методы

Был проведён литературный анализ научных трудов, используя ресурсы поисковых систем eLIBRARY и CYBERLENINKA. Для сравнительного анализа, были использованы статьи, заключавшие в себе результаты опытов с применением биопрепаратов на основе бактерий рода Bacillus и Pseudomonas.

Цель работы: Провести сравнительный анализ информации и обобщить имеющиеся данные о преимуществах и недостатках особенностей применения, сравнение положительных и негативных результатов применения и обоснования причин использования биопрепарата, на основе бактерий рода Bacillus или Pseudomonas.

Основная часть: На данный момент, в сельском хозяйстве, особый интерес проявляется к внедрению биопрепаратов в систему защиты растений и системы удобрений, позволяет повысить биологизацию земель агроландшафта

Наиболее распространёнными, на данный момент, биопрепаратами, являются биопрепараты, созданные на основе бактерий рода Bacillus и Pseudomonas. Это связанно в первую очередь с тем, что они являются одними из самых распространённых обитателей почвы.

Бактерия рода Pseudomonas, являются многочисленной группой микроорганизмов, обитающих в ризосфере растений. Ярким представителем рода является P. aureofaciens (chlororaphis) так как она является наиболее способствующим видом в стимуляции роста и защиты растений.

Бактерии рода Pseudomonas, покрывают корни растений своеобразной живой плёнкой, вступая таким образом в симбиоз с растением, обеспечивающий ризобактеру получение от растения всех необходимых элементов питания в виде эксудатов, а растение, в свою очередь, получает стимуляцию роста за счёт выделения бактериями рода Pseudomonas фитогормона индолил-3-уксуной кислоты. [2]

Также растение получает защиту от фитопатогенных бактерий, которая осуществляется путём синтеза P. aureofaciens антибиотиков, относящихся к группе феназинов (феназин-1-карбоновая кислота,2-гидроксифеназин-1-карбоноваякислота, 2-гидроксифеназин)

Сотрудниками кафедры биотехнологии, Мордовского государственного университета имени Н.П. Огарёва, было проведена исследовательская работа, по изучению действия культуральной жидкости Pseudomonas aureofaciens на развитие семян пшеницы и фитопатогенных грибов.

В результате исследования было выяснено, что на 12 и 19 сутки хранения бактериологической суспензии, концентрация индолил-2-уксусной кислоты возрастала до 0,38 мкг/мл, а титр составлял 109 КОЕ/мл. С 22 по 30 сутки хранения данные показатели снизились на 54% и вышли на постоянный уровень (~ 0,17 мкг/мл)

По энергии прорастания (%), всхожести (%) и высоте ростков(см). При контрольных данных составляющих: 80 ±3% энергии прорастания, 83±2% всхожести, 5,5±1,2 см высоты ростков.

Вариант опыта с супернатантом: 95±1%, 97±3 %, 9,5±2,0 см.

Вариант культуральной жидкостью (КЖ): 96±2%, 96±3%, 11,0±1,7 см.

Процент ингибирования фитопатогенных грибов, представленных Alternaria solani, Alternaria solani, Alternaria tenuissima и Fusarium culmorum составил 86%, 89 % и 74%соответственно. [4]

Бактерии рода Bacillus могут относится как к эндофитным, так и ризосферным бактериям. Их главной особенностью и преимуществом является способность к спорообразованию, что, в свою очередь, увеличивает сроки хранения биопрепарата, сроки активного действия уже после применения и способности к накоплению полезных компонентов для растения.

Самым ярким представителем рода, является вид subtilis, так обладает широким спектром свойств, направленных на защиту, стимуляцию роста и повышения устойчивости к абиотическим стресс-факторам.

По результатам опыта, проведённым исследователями «Башкирского государственного аграрного университета, бактерия рода Bacillus subtilis, способна к подавлению фитопатогенных грибов, вызывающих корневую гниль у пшеницы. У большей части наблюдалось либо угнетение роста и развития гриба (B. Aclada, F. moniliforme), либо лизис мицелия (B. Byssoidea, Bipolaris sorokiniana, Cladosporium sp, Fusarium avenaceum, F. culmorum, F. oxysporum), либо полное подавление гриба (F. sporotrichioides) [3]).

Особенно интересные свойства были изучены исследователями Институт микробиологии АН РУз. Были проведены опыты по изучению способности Bacillus subtilis к стимуляции роста растений в условии засоления

Помимо способности к росту при концентрации NaCl от 100 до 800 мМ, Bacillus subtilis повышает энергию прорастания семян пшеницы при концентрации NaCl 100 мМ до 94% (при контрольном варианте 90%) и увеличение морфометрических показателей.

При инокуляции семян пшеницы, биопрепаратом на основе Bacillus subtilis, длина побегов составила 11,0±1,88 см, длина корней 7,5±0,65 см и сырая масса 0,54±0,04 г при контрольных 6,8±2,35 см, 4,0±1,71 см, 0,38±0,022 г соответственно. [1]

В ходе сравнительного анализа было выяснено, что в связи с интенсивной биологизацией почв сельскохозяйственных угодий, путём использования биопрепаратов и активной разработкой новых штаммов, которые превосходят по эффективности своих предшественников, невозможно выбрать идеальный биопрепарат. Многие из них будут выполнять одни и те же функции, однако нельзя отменить того, что каждый из микроорганизмов, входящий в основу биопрепарата, обладает характерными качествами присущими только его роду, виду или штамму.

Однако объекты воздействия биопрепаратов чаще всего одинаковые и требуемые выполнения задачи схожи. В таком случае, опираясь на перспективу использования и её частность, что по результатам сравнительного анализа стоит предположить, что биопрепараты на основе бактерии рода Pseudomonas будут более эффективными в краткосрочной перспективе по причине сильного антибиотического комплекса, имеющегося уже после 19 суток. В то время как Bacillus, наоборот, накапливая компоненты для защиты растения будет более эффективен только через некоторое время нахождения в почве.

Список литературы:

1. Кадырова Г.Х Шонахунов Т.Э Садуллаева М.С Хусанов Т.С БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ РИЗОБАКТЕРИЙ ПШЕНИЦЫ (TRITICUM AESTIVUM L.) // Science and innovation. - 2023. - С. 1398-1405.
2. Колмыкова. Т.С, Пронин. А.С, Кудряшова. В.И, Гудожникова. Т.Н СОРТОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА ПРЕДПОСЕВНУЮ ОБРАБОТКУ СЕМЯН БИОПРЕПАРАТОМ НА ОСНОВЕ PSEUDOMONAS AUREOFACIENS // Восточно-европейский научный журнал. - 2016. - №14. - С. 19-21.
3. Хайруллин Р.М. Минина Т.С. Иргалина Р.Ш. Загребин И.А. Уразбахтина Н.А. Эффективность новых эндофитных штаммов Bacillus subtilis в повышении устойчивости пшеницы к болезням // Вестник Оренбургского государственного университета. - 2009. - №2. - С. 133-137.
4. Бурова Ю.А., Ибрагимова С.А., В.В. Ревин Действие культуральной жидкости бактерии Pseudomonas aureofaciens на развитие семян пшеницы и фитопатогенных грибов // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. - 2012. - №3. - С. 198–206.

УДК 579.64

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯНТОВ И ЗАЩИТНО-СТИМУЛИРУЮЩЕГО КОМПЛЕКСА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НУТА

Крылова Марина Федоровна, *аспирант 3 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Mari-masalova@yandex.ru*

Добриков Георгий Александрович, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Dobrikov0105@gmail.com*
Полякова Елизавета Евгеньевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, polikova.eliz@yndex.ru*
Волобуева Ольга Гавриловна, *д.с.-х.н., профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ovolobueva@rgau-msha.ru*
Алина Дарья Александровна, *студентка 3 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева,* dariaalina056@*gmail.com*

Аннотация: *Проведена оценка влияния предпосевной обработки семян нута сорта Аватар и сорта Золотой юбилей штаммами (522, 527, 2113) микробиологических препаратов и защитно-стимулирующего комплекса (ЗСК) на продуктивность и морфометрические показатели растений в вегетационном опыте.*

Ключевые слова: нут, Аватар, Золотой юбилей, микробиологические препараты, защитно-стимулирующий комплекс, элементы продуктивности, клубеньки.

Введение

Нут – ценная зернобобовая культура. Согласно аналитическим данным на период 2021 г. мировые площади выращивания нута по состоянию на 2021 год занимали 15 004,9 тыс. га. За 10 лет они выросли на 17,1%, за 20 лет – на 57,8%. Валовый сбор нута в мире за последние 10 лет увеличились на 35%. Россия является крупнейшим экспортёром нута в мире (316,8 тыс. тонн, 2021 г.). В 2022 г. общая посевная площадь в России под нут составила 367 тыс. га. 88,2% всех площадей выращивания нута в РФ приходится на 5 регионов: Волгоградскую, Саратовскую, Самарскую, Оренбургскую и Ростовскую области [3].

На количественные и качественные показатели продуктивности нута оказывают влияние складывающиеся почвенно-климатические условия и применяемые агротехнические приемы [4]. Одним из важных элементов в управлении продукционного процесса бобовых культур является использование микробиологических препаратов совместно с различными регуляторами роста растений. Проведение обработки семян позволяет дать хороший старт для культуры на ранних этапах развития, обеспечить ее в последующем биологическим азотом и увеличить продуктивность биометрических показателей [1].

Несмотря на преимущества предпосевной обработки семян нута, все же существуют свои особенности в построение эффективного бобово-ризобиального симбиоза. Для того чтобы добиться нужного биологического эффекта, необходимо провести грамотное сочетание между сортовыми особенностями нута и различными биологическими и химическими препаратами. Только после проверки совместимости, данный технологический элемент можно внедрять в производство и в дальнейшем масштабировать.

В связи с вышеизложенным, становится актуальна разработка устойчивых сорто-микробных систем нута и повышение их функционирования за счет использования полифункциональных регуляторов роста.

Цель исследования – изучить действие инокулянтов и защитно-стимулирующего комплекса на морфометрические показатели нута.

Методика.

Для достижения поставленной цели был проведен вегетационный опыт.

В опыте использовались сорта нута – Аватар и Золотой юбилей. Сорт Аватар включен в Госреестр по Центрально-Черноземному региону. Растение средней высоты (45-65 см), содержание белка до 22%, средняя урожайность составляет 28,2 ц/га. Сорт нута Золотой юбилей включен в Госреестр для всех зон возделывания культуры, получен путем индивидуального отбора из гибридной популяции от скрещивания сорта Юбилейный/к-2405. Куст прямостоячий, средней высоты (32-60 см), содержание белка – 27,7%. Средняя урожайность 16 ц/га [4].

В качестве инокулянта был использован Ризоторфин на основе бактерий рода *Mesorhizobium cicer* (штамм 522, штамм 527, штамм 2113). Штаммы были предоставлены ВНИИСХМ (Санкт-Петербург).

Для стимуляции ростовых процессов применялся защитно-стимулирующий комплекс (ЗСК), который представляет дрожжевой экстракт, полученный путем микробиологической ферментации. Производитель препарата – АГРОРЕЦИКЛИНГ-ГРУПП, г. Санкт-Петербург. В его состав входят биологически активные вещества: фитогормоны, витамины группы В, С, Е, аминокислоты, комплекс минеральных веществ, а также производные гумулона.

В опыте использовались сосуды с дренажными отверстиями. Техника набивки сосудов заключалась в следующем. В каждый сосуд засыпалась воздушно-сухая почва заранее просеянная и гомогенизированная. Масса почвы в каждом сосуде составляла 5 400 г. Почва, используемая в эксперименте – дерново-подзолистая среднесуглинистая, имела следующие агрохимические показатели: низкое содержание гумуса (по Тюрину) – 2,1%, общего азота – 0,1%, имела средний уровень обеспеченности подвижным фосфором – 60 мг/кг и низкое содержание подвижного калия – 50 мг/кг по (Кирсанову), $pH_{(сол)}$ – 5,3. После набивки сосудов, почва увлажнялась и на поверхность раскладывались семена нута в количестве 10 шт./сосуд. Обработка семян нута Ризоторфином и защитно-стимулирующим комплексом проводилась в день посева. Далее поверхность сосуда засыпалась тонким слоем чистого кварцевого песка, для лучшего проращивания семян.

Измерение высоты растений проводилось непосредственно в сосудах при помощи мерной ленты. Замер высоты нута осуществлялся в основные фазы развития культуры, 10 растений с варианта. Повторность опыта 5-ти кратная. После измерения высоты культуры, эти же растения использовались для измерения массы. Для этого проводилось извлечение растений из сосудов, отмывалась корневая система, подсушивались с использованием сухих салфеток и осуществляли взвешивание на лабораторных весах. Изучение симбиотического аппарата проводилось в фазу развития нута – созревание. Учет массы корней, количество и массы клубеньков проведен в сыром состоянии растений, после тщательной подготовки.

Постановка опыта и его проведение осуществлялось в вегетационном домике К.А. Тимирязева на базе РГАУ-МСХА. За основу постановки опыта бралась методика агротехнических исследований ВНИИМК [2]. Для статистической обработки полученных данных использовался программный пакет STATISTICA.

Результаты и их обсуждение.

В вариантах с применением микробиологических препаратов, масса клубеньков составила 0,23 г на 1 растение (табл. 1). Включение ЗСК к Ризоторфину на сорте Аватар увеличило массу клубеньков на 0,07 г или на 33 %. Совместная обработка семян защитно-стимулирующим комплексом и Ризоторфином на сорте нута Золотой Юбилей увеличила массу клубеньков на 0,05 г на 1 растение или на 50 % по отношению к вариантам с обработкой семян нута различными штамма бактерий. Максимальная масса клубеньков (0,35 г) установлена варианте ЗСК+527 сорт Аватар. Масса корней в варианте с обработкой семян сорта Аватара была выше в среднем в 2 раза, а сорта Золотой юбилей на 1,4 раза относительно варианта без обработки.

Таблица1

Влияние инокулянтов и защитно-стимулирующего комплекса на характеристики симбиотического аппарата (с 1 растения)

Сорт	Вариант	Масса корней с клубеньками, г.	Масса клубеньков, г.	Кол-во клубеньков, шт.
Аватар	Контроль	0,9±0,02	-	-
	522	1,7±0,01	0,24±0,01	13±1,4
	527	1,8±0,02	0,24±0,02	14±1,7
	2113	1,5±0,03	0,21±0,01	12±2,1
	ЗСК	1,3±0,03	-	-
	ЗСК+522	1,9±0,02	0,30±0,02	14±1,5
	ЗСК+527	2,2±0,04	0,35±0,02	18±1,2
	ЗСК+2113	1,6±0,03	0,27±0,03	13±1,9
Золотой юбилей	Контроль	1,9±0,03	-	-
	522	2,2±0,04	0,08±0,01	4±0,9
	527	2,4±0,02	0,13±0,01	7±1,2
	2113	2,4±0,02	0,10±0,02	5±1,4
	ЗСК	2,3±0,01	-	-
	ЗСК+522	2,8±0,03	0,14±0,02	9±1,2
	ЗСК+527	3,1±0,02	0,17±0,03	11±1,8
	ЗСК+2113	3,0±0,02	0,15±0,02	11±1,5

Заключение.

В результате проведенных исследований установлено, что обработка семян нута как отдельно микробиологическими препаратами, так и совместно с защитно-стимулирующим комплексом, оказывает существенное влияния на продуктивность и морфометрические показатели растений нута.

Использование в чистом виде ЗСК при обработке семян нута является малоэффективным приемом в целях создания симбиотического аппарат нута и изменения продукционного процесса растений.

Список литературы:

1. Волобуева О.Г. Биопрепараты и регуляторы роста как фактор повышения эффективности бобово-ризобиального симбиоза // Сахар. – 2023. – № 7. – С. 40–47. DOI: 10.24412/2413-5518-2023-7-40-47. EDN: DOJAYZ.
2. Методика агротехнических исследований в опытах с основными полевыми культурами. — Краснодар: Просвещение-Юг, 2022. — 538 с.
3. Мировой рынок нута: статистика производства по странам мира // Экспертно-аналитический центр агробизнеса. https://ab-centre.ru/news/mirovoy-rynok-nuta-statistika-proizvodstva-po-stranam-mira
4. Сычев В.Г., Тютюма Н.В., Бондаренко А.Н. Усовершенствованные агротехнологические приемы возделывания нута // Плодородие. – 2023. – № 2 (131). – С. 34–37. DOI: 10.25680/S19948603.2023.131.08. EDN: GOWWGF.

УДК 631.811.98

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ В ПОСЕВАХ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Ламмас Мария Евгеньевна, научный сотрудник *ФГБНУ ВНИИ агрохимии имени Д.Н. Прянишникова, lm190587@mail.ru*

Аннотация: *В последние десятилетия наблюдается значительное внимание к микробиологическим процессам в почве и их роли в сельском хозяйстве. Одним из актуальных направлений исследования является микробиологическая активность почвы в контексте применения удобрений и регуляторов роста растений. Это связано с необходимостью повышения продуктивности сельскохозяйственных культур и устойчивости агроэкосистем к неблагоприятным условиям окружающей среды. Применение минеральных и органических удобрений, безусловно, способствует росту и размножению полезных микроорганизмов в почве. Тем не менее чрезмерное использование химических удобрений может привести к неблагоприятным последствиям. Например, избыток токсичных веществ может угнетать полезную микрофлору, что снижает общую эффективность пожнивных элементов и может вызывать деградацию экосистемы. Исследования показывают, что органические удобрения способны поддерживать более здоровую микробиологическую активность, способствуя разнообразию почвенной биоты. Компосты и навоз, как источники органического углерода, создают оптимальные условия для жизни полезных микроорганизмов, что, в свою очередь, улучшает общее состояние почвы и повышает её плодородие.*

Регуляторы роста растений, такие как биостимуляторы, гормональные средства и фитогормоны, оказывают влияние на рост и развитие растений, а также на микробиологическую активность почвы. Они могут улучшать взаимодействие между растениями и микроорганизмами, повышая усвоение питательных веществ. Однако их влияние на микробиоту почвы не всегда изучено полноценно. Некоторые регуляторы могут изменять структуру сообщества микроорганизмов, усиливая определенные виды и подавляя другие. Это открывает новые горизонты для исследований, так как понимание механизмов взаимодействия регуляторов роста с микроорганизмами позволит оптимизировать агрономические практики для повышения продукции и защиты экосистем. Несмотря на накопленный опыт, исследования микробиологической активности почвы при воздействии удобрений и регуляторов роста растений имеют ряд проблем. Одной из главных задач является необходимость разработки стандартов для оценки микробиологической активности, так как последствия применения удобрений могут варьироваться в зависимости от типа почвы, климата и агрономических практик. Кроме того, требуется проведение долгосрочных исследований, чтобы точно оценить влияние различных агрономических подходов на микробиоту почвы и, как следствие, на урожайность и качество сельскохозяйственной продукции.

***Ключевые слова*:** микробиологическая активность, биостимуляторы, ячмень, урожайность, микроорганизмы

Введение. В современном мире вопрос воздействия внешних факторов на окружающую среду, в том числе и на сельское хозяйство, является предметом пристального внимания международного сообщества. Интенсивное развитие промышленности и сельского хозяйства приводит к увеличению нагрузки на природные ресурсы, что, в свою очередь, сказывается на росте и развитии растений.

Обеспечение растущего населения качественной растительной продукцией напрямую зависит от удовлетворения потребностей растений в питательных веществах. Использование биологических препаратов способствует активизации метаболизма и развитию почвенной микрофлоры. Биостимуляторы роста, в свою очередь, стимулируют рост и развитие растений, а также защищают их от неблагоприятных воздействий окружающей среды. Применение таких биопрепаратов становится все более экономически выгодным и экологически оправданным решением.

Ячмень, широко используемый в качестве продовольственной, технической и кормовой культуры, традиционно выращивается с применением минеральных удобрений. Однако действие таких удобрений, хотя и быстрое, и интенсивное, носит кратковременный характер. [4]

В современном мире невозможно представить себе отрасль, где микробиологические процессы не играли бы решающей роли. Именно на свойствах и жизнедеятельности микроорганизмов основаны технологические процессы в различных областях промышленности и сельского хозяйства. Микроорганизмы играют ключевую роль в круговороте веществ в природе и, возможно, именно они помогут решить глобальные проблемы питания и охраны окружающей среды.

Глубокое понимание характера микробиологических процессов в почвах, занятых сельскохозяйственными культурами, а также знание основных функций, присущих микроорганизмам, позволит нам эффективно управлять процессами повышения плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур. [6]

Важно отметить, что существует огромное разнообразие почвенных микроорганизмов, выполняющих в почве различные функции: производство ферментов, влияющих на рост растений и растворимость питательных веществ; производство растительных гормонов и других продуктов, контролирующих активность патогенов; смягчение различных стрессов для роста растений. Все это напрямую связано с получением высоких урожаев. [7]

Целью наших исследований было изучение микробиоты почвы под ячменем. Для этого изучили следующие задачи - определение качественного и количественного состава некоторых групп микроорганизмов, развивающихся в пахотном горизонте почвы; анализ урожайности ярового ячменя.

Условия, материалы и методы. Исследования проводили в 2022-2023 гг.

Почва опытного участка дерново-подзолистая, тяжелосуглинистая. Агрохимические показатели: содержание гумуса [ГОСТ 26213-91] – 1,7 %, нитратный азот [ГОСТ 26488-85] – 7,0 мг/кг, аммиачный азот [ГОСТ 26489-85] – 1,8 мг/кг, pH солевой вытяжки [ГОСТ 26483-85] – 5,3 ед.; подвижного фосфора [ГОСТ Р 54650-2011] - 176 мг/кг, подвижного калия [ГОСТ Р 54650-2011] - 198 мг/кг. [3]

Испытуемой культурой являлся яровой ячмень (*Hordeum vulgare L.*) сорт Нур. Методика общепринятая для данной агротехнологии. Площадь опытных делянок – 100 м^2, площадь учетных делянок – 50 м^2. Повторность в опыте – четырёхкратная. [5]

В качестве фактора воздействия был взят биостимулятор роста и развития растений Рестарт (живых клеток штамма Rhodococcus erythropolis OPI-01, не менее 1-5×10^9 КОЕ/мл). [2]

Мелкоделяночный полевой опыт включал в себя варианты контроля (без обработки), фоновое внесение $N_{40}P_{40}K_{40}$ с обработкой стимулятором роста с расходом препарата – 0,1-0,3 л/т семян, расход рабочего раствора - 10 л/т.

Для учёта микробиологической активности почвы в июле были отобраны почвенные образцы из пахотного горизонта, в которых определяли численность: а) сапрофитных микроорганизмов на МПА, б) сапрофитных в состоянии спор на смешанном агаре (МПА + СА). Для учёта бактерий проводили поверхностный посев, для этого 0,05 мл суспензии втиралось в плотную питательную пластину. Количество грибов учитывали на мясопептонном агаре (МПА), сусло агаре (СА), в этом случае посев глубинный. 1 мл суспензии смешивался с 15 мл сусло агара и тщательно перемешивался в чашке Петри.

Анализ результатов эксперимента свидетельствуют о том, что численность рода Pseudomonas была выше в год последействия агрохимических приемов, чем в год действия в среднем на 21,5-54,2%. Максимальная численность была в 2022 и 2023 гг. на варианте Фон $N_{40}P_{40}K_{40}$ + Рестарт 0,2 л/т.

Численность сапрофитных микроорганизмов рода Mycobacterium была выше в 2022 году на вариантах с предпосевной обработкой семян ярового ячменя препаратом Рестарт в максимальных дозах 0,2 и 0,3 л/т на 3,9-18,0%, и ниже на 8,2-8,6% на варианте без обработок и с минимальной дозой биостимулятора роста 0,1 л/т.

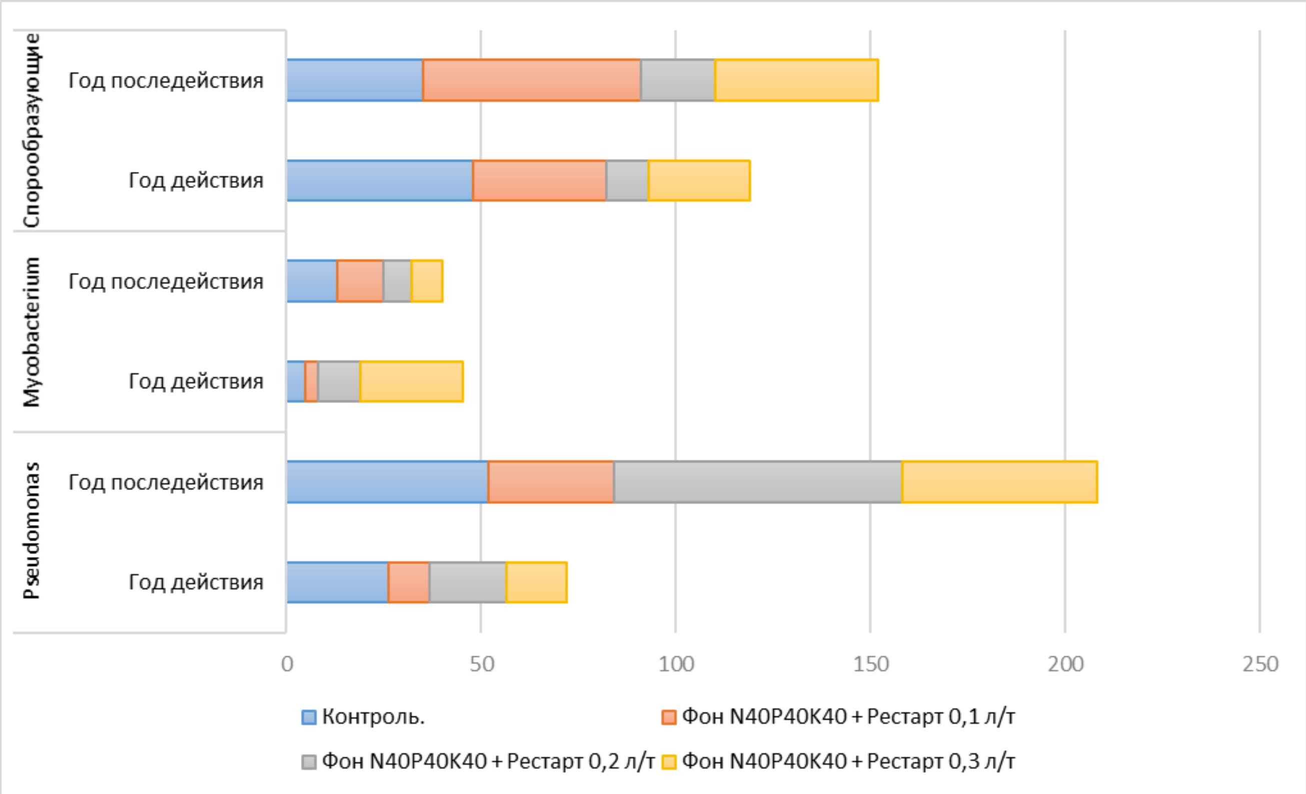


Рисунок 1. Численность сапрофитных микроорганизмов (МПА)

Спорообразующие составляют не более 30,0 % во всех вариантах опыта за исключением минимальной дозы препарата Рестарт, где их количество достигло 56,0 %, что вероятно связано с тем, что в этом варианте недостаточное количество органического вещества и спорообразующие микроорганизмы, обладая разнообразной ферментативной системой, способны разлагать сохранившиеся трудноразлагающиеся растительные остатки.

В качественном отношении в год действия во всех вариантах преобладали спорообразующие микроорганизмы (10,9 – 48,0 %).

Численность спорообразующих микроорганизмов в состоянии спор определялась на смешанном агаре (МПА + СА).

В наших исследованиях максимальная численность бактерий, находящихся в состоянии спор обнаружена в варианте последействия агрохимиката и максимальной дозы биостимулятора роста (156 тыс. кл.). Качественный состав рода Bac.megaterium был выше в 2022 году и составил 47,5-64,0%, род Bac. cereus был выше в 2023 году и составил 48,0-57,0%, род Bac. Idosus – выше в 2022 году и численность от общего составила 20,0-32,3%.

В качественном отношении в 2023 г. преобладает род Bac. cereus. Он составлял до 57,0 %, что объясняется распространением этого рода в дерново-подзолистой почве. Bac. megaterium и Bac. idosus составляют в сумме примерно 40,0 % и распространены они сравнительно равномерно между вариантами. В 2022 году наименьшее количество спорообразующих микроорганизмов наблюдалось на контрольном варианте - 143 тыс. кл. в 1 г почвы, а наибольшая численность микроорганизмов принадлежала роду Bac. megaterium с численностью 47,5-63,1%.

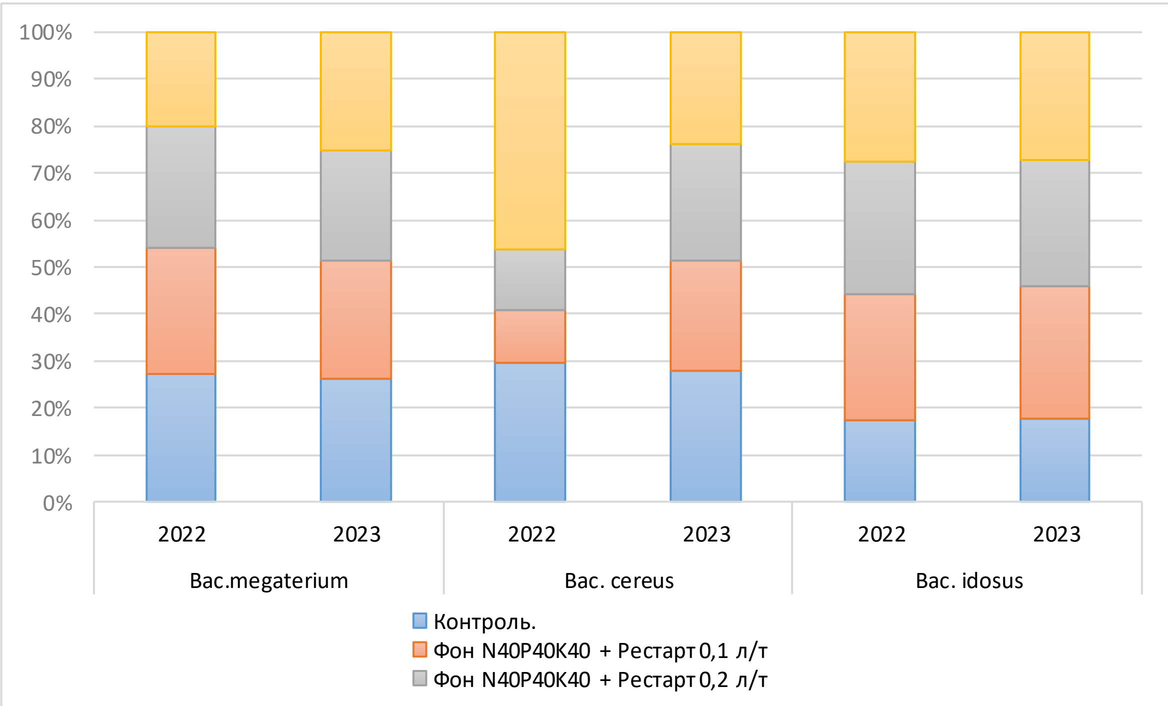


Рисунок 2. Численность спорообразующих микроорганизмов и их качественный состав (МПА + СА)

Численность грибов определялась на сусло-агаре.

Заметных различий в численности грибов между вариантами не обнаружено. Однако установлено, что их численность несколько выше в 2022 году и на вариантах с применением удобрений и регуляторов роста растений составила 33,5-8,0 тыс. клеток. На контроле их численность составила 1,8 тыс. клеток в г абсолютно сухой почвы. Количество грибов в 2023 году была ниже года действия на 25,0-62,8%.

Заключение. Исходя из проведенного эксперимента, можем сделать вывод о том, что при применении удобрений и биостимуляторов роста, численность микроорганизмов может увеличивается в год действия препарата, а в год последействии, наоборот, уменьшаться, и, наоборот. При изучении важно четко прослеживать связь между климатическими условиями, почвенным составом, и характеристики самих микроорганизмов.

Таблица 1

Численность грибов (СА)

№ пп	Варианты	Численность грибов, тыс. клеток г абс. сухой почвы	
		2022	2023
1	Контроль.	3,3	1,8
2	Фон N40P40K40 + Рестарт 0,1 л/т	3,5	2,2
3	Фон N40P40K40 + Рестарт 0,2 л/т	8,0	2,0
4	Фон N40P40K40 + Рестарт 0,3 л/т	5,7	2,6

Постоянный рост населения и изменение климата ставят перед мировым сельским хозяйством вызовы, требующие новых подходов к повышению эффективности производства. Исследования микробиологической активности почвы при применении удобрений и регуляторов роста растений не только помогут повысить продуктивность, но и обеспечат устойчивость агросистем. Необходимы дальнейшие исследования в данной области, которые помогут разработать более эффективные, экологически безопасные и экономически целесообразные методы управления аграрными экосистемами. Следовательно, есть перспектива для еще большего дальнейшего изучения данного вопроса.

Список литературы:

1. Вавилов П.Л. Растениеводство. – М.: Агропромиздат, 1986. – 90 с.
2. Государственный каталог пестицидов и препаратов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. - Ч. I, II М. 2021.
3. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
4. Международный стандарт ГОСТ 52325-2005 Семена сельскохозяйственных растений. Сортовые и посевные качества. Технические условия. Дата введения 01 января 2006 года.
5. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. – М.: Агропромиздат, 1987.- 368 с.
6. Vessey J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers/J.K. Vessey//Plant and Soil. -2003. -Vol. 255. No. 2. -P. 571-586.
7. Zhu T. Engineering of Bacillus subtilis for enhanced total synthesis of folic acid/T. Zhu, Z. Pan, N. Domagalski//Applied and Environmental Microbiology. -2005. -Vol. 71. -Issue 11. -P. 7122-7129.

УДК 579.6

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*

***Логинова Марина Игоревна**, студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, mi_loginova@mail.ru*
***Николаенко Артём Андреевич**, студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, arte.agct@gmail.com*
***Суханова Ирина Максимовна**, студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, lifebe82@mail.ru*
***Яникеева Татьяна Сергеевна**, студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, tanya123yan@gmail.com.*
(Научный руководитель – Чередниченко Михаил Юрьевич, к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, cherednichenko@rgau-msha.ru)

***Аннотация:** в обзоре представлены данные о достижениях в области генной инженерии Chlamydomonas reinhardtii. Описаны способы трансформации ядерного и хлоропластного геномов; приведены примеры использования трансгенных штаммов в различных отраслях.*

Ключевые слова: Chlamydomonas reinhardtii, генная инженерия, трансформация, геном, пластом.

Введение

Благодаря методам биоинженерии микроводоросли могут быть использованы для получения высокопродуктивных штаммов и биосинтеза различных соединений, например для производства липидов, ферментов, антител, гормонов и пигментов. Их легко и недорого культивировать, а получаемые из них продукты безопаснее, чем продукты, получаемые из клеток животных, наземных растений, бактерий и дрожжей [4].

Большинство микроводорослей являются гаплоидными большую часть своего жизненного цикла, что облегчает их селекцию. Однако генная инженерия микроводорослей осложняется из-за требуемого видоспецифичного подхода и низкой эффективности трансформации (из-за различного строения клеточной стенки у представителей разных видов и сайленсинга трансгенных конструкций).

Одной из наиболее изученных и часто используемых в геномном редактировании микроводорослью является *Chlamydomonas reinhardtii* P.A.Dangeard, *nom. cons.* 1888 (хламидомонада). У нее секвенированы все виды геномов (митохондриальный, хлоропластный и ядерный), а также изучены способы, которыми их можно модифицировать. Кроме того, *C. reinhardtii* имеет сложную систему пост-трансляционной обработки, что позволяет получать правильно функционирующие эукариотические рекомбинантные белки. Также в ходе метаболизма она не образует продуктов, вредных для человека и окружающей среды. Поэтому *C. reinhardtii* является удобной системой для производства рекомбинантного белка [3].

Трансформация ядерного генома *C. reinhardtii*

Трансформация ядерного генома имеет несколько преимуществ над трансформацией пластома *C. reinhardtii*, например, возможность управления экспрессией в других органоидах, возможность посттрансляционных обработок и секреции белка, что важно для промышленного производства. Однако ядерная трансформация чаще всего приводит к случайной вставке трансгенной конструкции, что является ее недостатком. Хотя с разработкой системы CRISPR-Cas9 для микроводорослей стала возможна целевая интеграция трансгена в ядерный геном.

Эффективная экспрессия чужеродных генов достигается благодаря использованию сильных промоторов. Сильными эндогенными регуляторными элементами для хламидомонады являются промоторы генов *rbcS2* (малая субъединица RuBisCo), *hsp70A* (белок теплового шока) и *psaD* (субъединица II реакционного центра фотосистемы I), а также их комбинации.

Также увеличение экспрессии достигается за счет оптимизации кодонов и интрон-опосредованного усиления. Например, для этого могут использоваться интроны *rbcS2*.

Для отбора трансформированных клеток *C. reinhardtii* применяются селективные маркеры устойчивости к антибиотикам (*aph7''* – способность расти на среде с гигромицином B; *ble* – на среде с флеомицином и др.) и «безмаркерный» подход, основанный на компенсации мутации у штамма геном из штамма дикого типа (*ARG7* – аргининосукцинатлиаза, восстанавливающая для аргининзависимого штамма путь биосинтеза аргинина, вследствие чего он может расти на среде без аргинина; *NIT1* – нитратредуктаза, которая позволяет мутантному штамму использовать нитрат как единственный источник азота в среде) [3].

Трансгенные конструкции доставляются в ядерный геном при помощи биобаллистики (обстреливания клеток при помощи золотых или вольфрамовых частиц, покрытых ДНК, с силой, достаточной для преодоления барьера из клеточной стенки); метода стеклянных шариков (перемешивание протопластов или штаммов с дефектами клеточной стенки со стеклянными шариками, ДНК и полиэтиленгликолем); *Rhizobium radiobacter* (устар. *Agrobacterium tumefaciens*); электропорации (под влиянием импульсного электрического поля высокой напряженности в клетке возникают поры, через которые можно доставлять различные молекулы).

Электропорация – стандартный метод трансформации *C. reinhardtii*. Для этого используются импульсы двух типов: квадратные и экспоненциальные. Первые являются более контролируемыми и приводят к образованию большего числа трансформантов, а также могут использоваться без предварительной обработки клеток автолизином.

Трансформация хлоропластного генома *C. reinhardtii*

Хлоропластная трансформация *C. reinhardtii* все еще является более удобной и выгодной, чем ядерная. Это связано с возможностью целевой вставки трансгена путем гомологичной рекомбинации без использования системы CRISPR-Cas9, высокой плоидностью хлоропластов и высоким уровнем экспрессии их генов, а также отсутствием системы сайленсинга генов.

Трансгенная конструкция для пластомной модификации состоит из трансгена и селективного гена, фланкированных с двух сторон плечами гомологии (100-200 п.о.) для целевой вставки в хлоропластный геном, при этом также необходимо учитывать ее GC-состав.

Для ядерной и пластомной трансформации используют аналогичные технологии. Причем биобаллистику используют в основном для трансформации пластомного генома хламидомонады [3].

Долгое время экспрессия чужеродных генов в хлоропластах была низкой. Исследования позволили увеличить уровень экспрессии за счет оптимизации кодонов и ингибирования АТФ-зависимых протеаз. Также было выяснено, что токсичность продукта, место интеграции конструкции в пластом и случайная сопутствующая ее интеграция в ядро могут влиять на экспрессию.

Эффективная экспрессия трансгенов в хлоропластах хламидомонады обычно достигается благодаря использованию сильных эндогенных промоторов. Например, промоторов генов *rbcL* (большая субъединица RuBisCO), *psbA* (белок D1 реакционного центра фотосистемы II), *rbcS2* (малая субъединица RuBisCO, ядерный ген), хлоропластных генов *psaD*, *psaA* и *psaB* (апопротеины фотосистемы I).

Для отбора трансформантов используются селективные маркеры на основе устойчивости к гербицидам и антибиотикам. Например, ген *aadA* обеспечивает устойчивость к спектиномицину, а ген *aphA6* – к канамицину, амикацину, и др. [3].

Применение трансгенной *C. reinhardtii*

Благодаря методам генной инженерии *C. reinhardtii* нашла применение в самых различных отраслях.

Например, можно увеличить содержание в микроводорослях липидов, используемых для производства биодизеля, а также повысить их способность производить водород. Так, для производства экологически чистого топлива был разработан штамм *C. reinhardtii* с более высокой продукцией водорода. Он был получен из мутантного штамма *Stm6* с повышенным производством водорода путем вставки гена, кодирующего белок-транспортер гексозы *HUP1* микроводоросли *Chlorella kessleri*. Исходный штамм не имел переносчиков глюкозы в плазматической мембране, а полученный штамм *Stm6Glc4* благодаря им может использовать этот субстрат для гетеротрофного роста в темноте. За счет включения в состав мембраны переносчиков способность продуцировать водород у *Stm6Glc4* увеличилась до 150 % по сравнению с родительским штаммом *Stm6* [5].

Также микроводоросли применяют для производства различных метаболитов. Для увеличения выработки ценных каротиноидов, в том числе астаксантина (дикий штамм хламидомонады не вырабатывает это соединение) и β-каротина в *C. reinhardtii* были введены гены из *Haematococcus pluvialis*, необходимые для метаболизма астаксантинов: ген *bkt* (β-каротинкетолаза) и ген *crt* (β-каротингидроксилаза). Исследователям удалось добиться выработки астаксантина, увеличить содержание β-каротина в 5,39 раз, а также увеличить в 2 раза общее количество каротиноидов по сравнению с водорослями дикого типа [2].

Трансгенные штаммы *C. reinhardtii* можно применять для производства биофармацевтических препаратов. Например, в хламидомонаду был вставлен ген, кодирующий человеческий интерферон IFN-α2a. Исследования показали, что интегрированный ген хорошо экспрессируется в *C. reinhardtii*. Кроме того, выделенный интерферон-α2 доказал противоопухолевую и противовирусную активность [1].

Заключение

C. reinhardtii является модельным организмом для разработки новых подходов генной инженерии. Сочетание быстрого роста, простоты культивирования, возможности посттрансляционных обработок, безопасности для человека, изученности и наличия разработанных систем трансформации делают хламидомонаду привлекательным объектом для биотехнологии. Поэтому *C. reinhardtii* используется в качестве платформы для синтеза различных соединений, находящих применение в различных областях: от медицины до биоэнергетики.

Список литературы:

1. El-Ayouty Y., El-Manawy I., Nasih S. [et al.] Engineering *Chlamydomonas reinhardtii* for Expression of Functionally Active Human Interferon-α // Molecular Biotechnology. 2019. Vol. 61(2). P. 134-144.
2. Sharma A., Nawkarkar P., Kapase V.U. [et al.] Engineering of ketocarotenoid biosynthetic pathway in *Chlamydomonas reinhardtii* through exogenous gene expression // Systems Microbiology and Biomanufacturing. 2024, Vol. 4(3). P. 983-995.
3. Virolainen P.A., Chekunova E.M. Transgenesis in microalga *Chlamydomonas reinhardtii*: current approaches // Ecological genetics. 2024. Vol. 22. N. 1. P. 47-62.
4. Zhang M.P., Wang M., Wang C. Nuclear transformation of *Chlamydomonas reinhardtii*: A review // Biochimie. 2021. Vol. 181. P. 1-11.
5. Zhang J., Xue D., Wang C. [et al.] Genetic engineering for biohydrogen production from microalgae // iScience. 2023. Vol. 26(8). Art. 107255. 22 p.

УДК 616.95

ВИДЫ ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЯЕМЫЕ ИЗ МЯКОТИ ЯБЛОК МОСКОВСКОГО РЕГИОНА, И ЗАКОНОМЕРНОСТЬ ИХ ОТНОШЕНИЯ К ПЛОДАМ

Петров Андрей Дмитриевич, *студент 2 курса института Агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, perovdn500@gmail.com*
Чернявская Анфиса Антоновна, *студентка 2 курса института Агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, anfisa.chernyavskaya@yandex.ru*

Скорбенко Владислав Олегович, *студент 2 курса института Зоотехнии и Биологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, ltrogloditov@gmail.com*
Соколов Сергей Васильевич, *студент 2 курса института Зоотехнии и Биологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, seregkamen@gmail.com*
Кирюхина Мария Андреевна, *студентка 2 курса института Зоотехнии и Биологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, vaskerotte@gmail.com*
(Научный руководитель – Уваров Георг Владимирович, ассистент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, georgu98@yandex.ru)
Аннотация: *статья посвящена исследованию видового состава и физиологии дрожжей яблони домашней (Malus × domestica Borkh) и анализу морфологии дрожжей на конкретных сортах яблок в Московской области.*

Ключевые слова: дрожжи, штаммы, яблоня домашняя, спиртовое брожение, Московская область.

Дрожжи – это группа одноклеточных грибов (класс Ascomycota или иногда Basidiomycota), которые утратили типичный мицелий. По результатам микробиологических исследований было установлено, что дрожжи в природе помимо почвенной среды обитания практически всегда содержатся в паренхиме растений, содержащих запасные углеводы, в частности в сочных плодах. В плодах яблони домашней обычно можно встретить дрожжеподобные микроорганизмы, некоторые из которых могут обладать важным воздействием на человека и качества сорта культуры из-за возможной патогенности (Borokova et al., 2023).

Для постановки эксперимента были собраны яблоки в Москве и Московской области так, чтобы с Северо-запада на Юго-восток образовывалась маршрутная линия.

Места сбора с дерново – подзолистым типом почв, который характеризуется высокой плодородностью благодаря повышенному содержанию гумуса в горизонте. Для этого типа почв характерно низкое содержание таких элементов, как азот, фосфор и калий. Насыщенность основаниями у дерново-подзолистых почв слабая 50-70%, из-за чего происходит частое закисление.

Первое место сбора плодов – город Клин в Московской области, сад при Тихоновской церкви. Клин расположен к Северо-западу от Москвы. Преобладающий тип почв в городе – дерново-подзолистые. С территории города были получены яблоки сорта Богатырь и неизвестного сорта.

Следующая точка сбора – Тимирязевская академия, расположеная в Северном районе Москвы. Сорт неизвестен.

Следующее место сбора – парк Зарядье в Коломенском. Территориально Коломенское расположено на юге Москвы. С территории Коломенского получен один неизвестный сорт яблок.

Третье место сбора – Г. О. Подольск, мкр. Климовск, улица Набережная, дом 13. Территориально Климовск расположен к югу от Москвы. Яблок получено четыре сорта: Анис, Антоновка, Штрифель, Юбилейное.

Четвёртое место сбора – село Талалихино в Чеховском муниципальном районе. Эта точка сбора расположена юго-восточнее Климовска. Был получен один неизвестный сорт яблок.

Места сбора с серым лесным типом почв, который характерен для лесных зон, более богат гумусом. Отсутствует вымывание основных катионов, из-за чего состав почвы более щелочной, отличается хорошим плодородием.

Последняя точка сбора – село Верховлянь, к юго-востоку от Талалихино. Был получен один неизвестный сорт яблок.

Для того, чтобы сделать посевы дрожжей из каждого сорта яблок, были сделаны суспензии (Lorenzini et al., 2019), которые после были нанесены с повторностью на чашки Петри с селективной средой для грибов (Сабуро).

В дальнейшем было получено семь штаммов дрожжей, которые мы сохранили в рабочую коллекцию и присвоили им специальные коды: ОО73, БД13, БН81, БК61, WO23, КО61, РО51.

Больше всего колоний было из суспензии Штрифель: удалось получить все штаммы.

Штамм КО61 не встречается нигде, кроме первой географической зоны – Климовск. Лучше всего растут из Штрифеля (малосладкое), хуже из Юбилейного (кислое) и Аниса (слабокислое).

Штамм РО51 встретился только из суспензий яблок, произрастающих на юге: Климовск, Верховлянь, Талалихино (лучше всего на данной территории, в остальных местах процент не велик). Три из четырёх суспензий, из которых были выделены дрожжи, сделаны из более кислых плодов, чем остальные. (Антоновка, Талалихино, Верховлянь; Штрифель – малосладкое).

Наиболее часто встречающимся штаммом является БД13: встретился везде, кроме Юбилейного и безымянного яблока из Клина. Лучше всего растут из суспензий на основе умеренно кислых плодов (Анис), хуже всего из сильнокислых (Юбилейное)

ОО73 встретился в Антоновке (сильнокислое), Тимирязевских яблоках (кисло-сладкое), Штрифель (малосладкое). Чаще всего встречается в Штрифеле и Антоновке, собранных в одной и той же географической области – Климовске.

БН81 чаще всего встречается в Штрифеле и Юбилейном, собранных с одной географической зоны. Лучше растёт на суспензии Штрифель.

БК61 лучше всего произрастает из Богатыря, на втором месте Анис, из остальных посевов почти ничего не выросло.

WO23 преимущественно встречается в яблоках из первой географической зоны – Климовск. Лучше всего произрастают из посева Штрифеля.

Список литературы:
1. Borokova A. N., Shalamitsky M. Yu., Naumova E. S. Pectinolytic yeast Saccharomyces paradoxus - a new gene pool for winemaking // Microbiology. 2023. T. 92. No. 2. P. 219-232.
2. Călugăr, Paul Cristian, et al. "Effect of co-inoculation of Saccharomyces and non-Saccharomyces yeasts and nutrients addition during malolactic fermentation on apple cider composition." *Food Bioscience* 60 (2024): 104314.
3. Lorenzini, Marilinda, et al. "Assessment of yeasts for apple juice fermentation and production of cider volatile compounds." *Lwt* 99 (2019): 224-230.
4. Vankova, A. A., et al. "Endophytic microorganisms of apple fruit (Malus domestica)." *BIO Web of Conferences*. Vol. 39. EDP Sciences, 2021.
5. Zakharov, V. L., T. V. Zubkova, and V. A. Gulidova. "The content of bacteria, yeasts and fungi in the soils of apple orchards in the north CCR." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 723. No. 2. IOP Publishing, 2021.

УДК 631.363

ВОЗДЕЛЫВАНИЕ СОИ В УСЛОВИЯХ СПК «КОЛОС» КОЛПНЯНСКОГО РАЙОНА ОРЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Полянчиков Иван Александрович*, студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, vanya270603@yandex.ru*
Шитикова Александра Васильевна*, д.с.-х.н., профессор, профессор кафедры растениеводства и луговых экосистем ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, plant@rgau-msha.ru*

Аннотация: *Соя входит в тройку самых значимых сельскохозяйственных белковых растений для страны и помогает решать проблему растительного белка как для животных, так и для человека. Соя находит широкое применение в качестве заменителя мяса благодаря входящему в её состав ценному белку. Однако зачастую в результате несоблюдения технологии возделывания или выбора неподходящих сортов, ценные качества зерна сои снижаются, и его приходится использовать в технических и кормовых целях в большем объёме, чем это необходимо. Выращивание высоких и устойчивых урожаев высококачественного зерна сои возможно только при соблюдении основных приёмов почвозащитной технологии, таких как плоскорезная обработка почвы, правильные севообороты с достаточным насыщением чистыми парами и соблюдение всех требований агротехники, соответствующих биологическим особенностям сортов сои, а также нейтрализация влияния неблагоприятных погодных факторов.*

Ключевые слова**:** соя, урожайность, качество, производственный опыт

Исследования по изучению роста и развития сои проводили на базе СПК «Колос», расположенного в Орловской области, Колпнянский район, деревня Тимирязево. Общая площадь посевных площадей составляет 5000 га, из них 500 га занимают сенокосы. На предприятии внедрен 3-х польный севооборот -

соя, кукуруза на силос, чистый пар; зерновые: ячмень, яровая пшеница, озимая пшеница, гречиха, овес. Урожайность приведена в таблице 1.

Таблица 1. Урожайность культур в СПК «Колос», (ц/га) 2022…2024гг.

Культура	**Среднее**	**2024**	**2023**	**2022**
Соя	19,3	25	13	20
Озимая пшеница	62,0	55	71	60
Яровая пшеница	23,0	14	40	15
Ячмень	25,0	20	30	25
Овес	20,7	17	25	20
Гречиха	23,3	25	25	20

В 2024 году были посеяны такие сорта как озимая пшеница - Алексеич, яровая пшеница - Дарья, гречиха -Даша, ячмень -Атаман, овес (Яков), кукуруза-Краснодарская 283, соя-ДШ-863. Хозяйство активно использует химические препараты, минеральные удобрения, а также десиканты и микроудобрения. Последние года благодаря применению микроудобрений удалось резко увеличить урожайность сои.

Объект исследований - соя (*Glycine max (L.) Merr.*) сорт ДШ 863® - ранний, детерминантный, интенсивного типа. Подходит для производства тофу, мисо и соевого соуса. Раннеспелый. Срок созревания ранний. Время начала цветения раннее. Вегетационный период - 110 дней. Масса 1000 семян - 178 г. Растение детерминантного типа развития, средней высоты. Высота растений - 68 см. Высота прикрепления нижнего боба - 13 см. Устойчив к растрескиванию бобов. Сорт с высокими показателями роста на начальных этапах развития. Гипокотиль с антоциановой окраской. Опушение главного стебля рыжевато-коричневое. Боковой листочек сложного листа заострённо-яйцевидный. Цветок фиолетовый. Семена жёлтые, рубчик светло-коричневый. Содержание белка в семенах - 44,31%, жира - 17,16%. Универсальный для различных типов почв. Возделывание по интенсивной технологии, лучшие предшественники - зерновые колосовые, кукуруза. Норма высева 380 - 450 тыс./га. Генетическая толерантность к основным болезням сои.

Агрохимические показатели почвы опытного участка (тип почвы чернозем типичный) приведены в таблице 2.

Таблица 2. Агрохимические показатели почвы.

Гумус %	Фосфор	Калий	pH	Сера	Легко гидролизуемый азот	Mn	Zn	Cu	Co
	Мг/кг					Мг/кг			
5,1	26	116	5,3	7,7	25	11,4	0,43	0,2	8

Подготовка семян к посеву включала протравливание препаратом Ризоформ соя (1,5 л/т) + статик – прилипатель. Жидкий инокулянт Ризоформ Соя обеспечивает высокое качество инокуляции вследствие отличной прилипаемости препарата к семенам и высокой способности бактерий удерживаться на поверхности семени в процессе транспортировки и высева семян. Жидкая форма обеспечивает дополнительную сохранность бактерий и увеличивает их выживаемость. Стабилизатор-прилипатель Статик позволяет бактериям сохранить их жизнеспособность на поверхности семени длительный период и увеличивает результативность обработки инокулянтом. Посев проводили в период с 06 по 13 мая 2024 года, сеялкой Amazone d9 +Мтз 12.21, заделка семян на глубину 6 см, норма высева 130 кг/га. Пестицидные обработки сои приведены в таблице 3.

Таблица 3. Пестицидные обработки сои в период вегетации

Дата	Препарат и норма внесения
04.06.2024-06.06.2024	1.Гербицид «Гермес» 0,9 л/га
20.06.2024-22.06.2024	1. Фунгицид «Винтаж» 0,7 л/га 2. Микроудобрения «Ультрамаг комби для масличных» по 1.250 л/га
06.07.2024-08.07.2024	1.Гербицид «Купаж» 0,5 л/га 2.Гербицид «Купаж» 0.008 л/га
14.09.2024-16.09.2024	Десикант Тонгара 2л/га

Уборка проводилась в период с 26 по 28 сентября 2024 года (Acros 595 plus). Урожайность раннего, детерминантного сорта интенсивного типа ДШ 863® в условиях Орловской области в 2024 году составила 25 ц/га, при высоком содержании белка - 38%.

Список литературы:

1. Мазалов, В. И. Адаптивность сортов сои северного экотипа в условиях юго-востока Орловской области / В. И. Мазалов, В. Г. Небытов, Е. Н. Мерцалов // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2023. – № 4(48). – С. 50-56. – DOI 10.24412/2309-348X-2023-4-50-56.
2. Де, В. Е. Эффективность применения регуляторов роста растений на семенных посевах сои в условиях Орловской области / В. Е. Де // Научный журнал молодых ученых. – 2023. – № 1(31). – С. 8-11.
3. Кирсанова, Е. В. Применение регуляторов роста растений как фактор интенсификации возделывания сои в Орловской области / Е. В. Кирсанова, З. Р. Цуканова, О. И. Зеленов // Защита растений в современных условиях развития АПК : Сборник материалов Национальной научно-практической конференции, приуроченной к открытию ООО Байер современной IT-аудитории на факультете агробизнеса и экологии, Орел, 08–09 октября 2019 года. – Орел: Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина, 2019. – С. 157-162.
4. Ситникова, И. А. Оценка эффективности производства сои в Орловской области / И. А. Ситникова // Агронаука. – 2023. – Т. 1, № 2. – С. 143-148. – DOI 10.24412/2949-2211-2023-1-2-143-148.

УДК 631.4

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ОРЕХОВЫЕ (JUGLANDACEAE)

Разуваева Дарья Григорьевна, *магистрантка 1 курса института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, dar.razuwaeva@yandex.ru*
Богданова Дарина Дмитриевна, *магистрантка 1 курса института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, di300910@gmail.com*
Пашалиев Закир Латифович, *магистрант 1 курса института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, pashaliev.zakir@gmail.com*
Жаркова Екатерина Константиновна, *ассистент кафедры микробиологии и иммунологии, ekzharkova@rgau-msha.ru*
(Научный руководитель – Селицкая Ольга Валентиновна, к.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru)

Аннотация. *В современном мире применение пестицидов является наиболее распространенным средством защиты растений, так как данный метод достаточно эффективен и обладает низкой стоимостью, но применение данных средств также связано с высоким риском загрязнения окружающей среды (могут долго сохраняться в природе, загрязнять почву, воздух, пищу для диких животных, создают угрозу для опылителей и т.д.), а также при попадании пестицидов в организм человека (через кожу, органы дыхания, продукты питания) возможен риск для его здоровья. В связи с этим активно ведутся исследования по развитию и созданию экологически чистых препаратов для защиты растений, которые основаны на растительных экстрактах, различных штаммах микроорганизмов.*

Ключевые слова: *антифунгальная активность, орех грецкий, орех черный, орех айлантолистный, орех маньчжурский, Juglans regia, Juglans nigra, Juglans ailanthifolia, Juglans mandshurica.*

Обширные исследования доказали, что растения семейства ореховые показывают высокую эффективность в качестве биоцида.

Цель данного исследования - оценка антифунгальной активности веществ, экстрагированных из листьев растений семейства ореховые (Juglandaceae).

Антимикробные соединения, содержащиеся в ряде древесных растений способны влиять на структуру и функциональность микробных сообществ. Представители семейства ореховые (Juglandaceae) содержат в своем составе юглон (5-гидрокси-1,4-нафтохинон) - природный нафтохинон, обладающий свойством ингибировать рост и развитие как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, а также патогенных грибов. [1, 2]

Объекты и методы исследования

Для изучения антифунгальной активности были взяты листья орехов: орех грецкий (Juglans regia), орех черный (Juglans nigra), орех айлантолистный (Juglans ailanthifolia), орех маньчжурский (Juglans mandshurica).

Образцы листьев для исследования отбирались в Мичуринском саду в первой декаде июля и в первой декаде сентября. Для обеспечения стерильности процесса отбора использовались стерильные перчатки, а образцы помещались в стерильные стеклянные сосуды.

Для проведения исследования необходимо было приготовить спиртовой экстракт. Экстракция в спирте позволяет эффективно извлечь активные вещества из растительного материала, что является ключевым этапом для последующих анализов антимикробной активности. Для этого 5 грамм взвешенных на аналитических весах листьев измельчались в гомогенезаторе на скорости 1000 об/мин. Полученная масса была залита 50 мл 70%-го этанола. Сосуды с экстрактом плотно закрывали и оставляли настаиваться в темном прохладном месте на 10 дней.

Весь процесс подготовки образцов был направлен на минимизацию возможных загрязнений и сохранение активности биоактивных компонентов.

Антифунгальную активность определяли диско-диффузионным методом по отношению к фитопатогенные грибам - Fusarium oxysporum, Phytophthora infestans, Botrytis cinerea, Trichoderma viride, Sclerotinia sclerotiorum. Данные микроорганизмы были взяты из коллекции кафедры защиты растений.

Повторность опыта трехкратная. В качестве контроля был использован 96% этанол и биопрепарат от защиты растений фитолавин.

Статистическая оценка проводилась в программе Microsoft Exel 2016 и STADIA 6.0 m MS.

Результаты и их обсуждение

Исследование спиртовых экстрактов листьев, собранных в первой декаде июля, показало, что наибольшую антимикробную активность проявляет экстракт листьев Juglans regia L. Среди представителей других видов орехов его эффективность выделяется особенно заметно в отношении грибов Fusarium oxysporum (диаметр зоны подавления 13,9 ± 1,4 мм) и Trichoderma viride (средний диаметр зоны подавления 11,4 ± 0,6 мм).

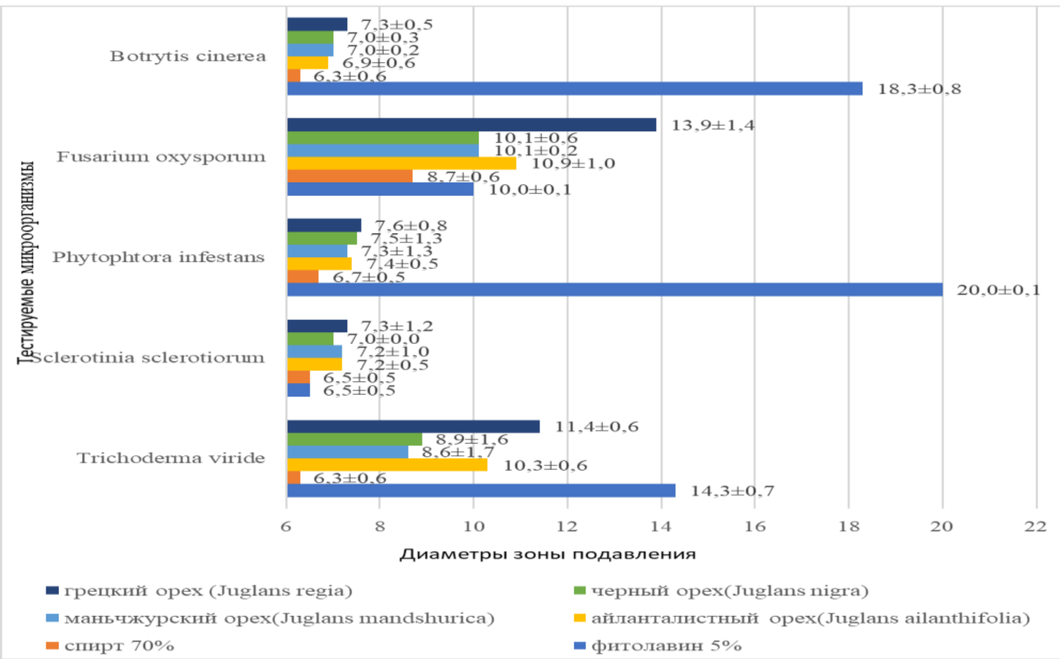


Рисунок 1 - Результаты анализа антифунгальной активности спиртового экстракта листьев растений семейства ореховые, собранных в первой декаде июля

В ходе анализа экстракты были распределены на три кластера в зависимости от уровня чувствительности микроорганизмов к их компонентам.

Первый кластер включал экстракты айлантолистного и маньчжурского и черного орехов, которые продемонстрировали наименьшую антагонистическую активность.

Во второй кластер вошел спирт, он обладает умеренной антагонистической активностью.

Третий кластер был представлен спиртовым экстрактом грецкого ореха, который показал наиболее выраженное антагонистическое действие.

Результаты кластерного анализа мы можем наблюдать на рисунке 2.

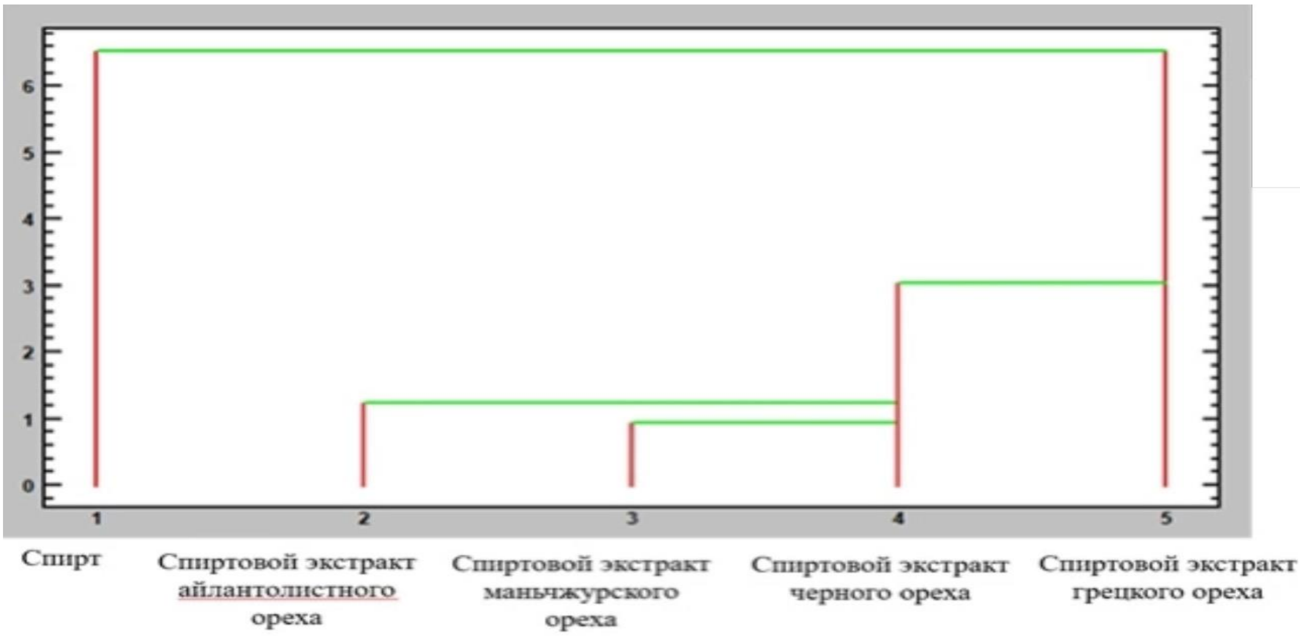


Рисунок 2 – Дендрограмма иерархической классификации переменных на основе принципа дальнего соседа для спиртового экстракта листьев деревьев семейства ореховые, собранных в первой декаде июля.

Исследование спиртовых экстрактов листьев, собранных в первой декаде сентября, также показало, что наибольшую антимикробную активность проявляет экстракт листьев Juglans regia L. Среди представителей других видов орехов его эффективность выделяется особенно заметно в отношении грибов Fusarium oxysporum (диаметр зоны подавления 13,3 ± 1,5 мм) и Trichoderma viride (диаметр зоны подавления 11,0 ± 0,6 мм).

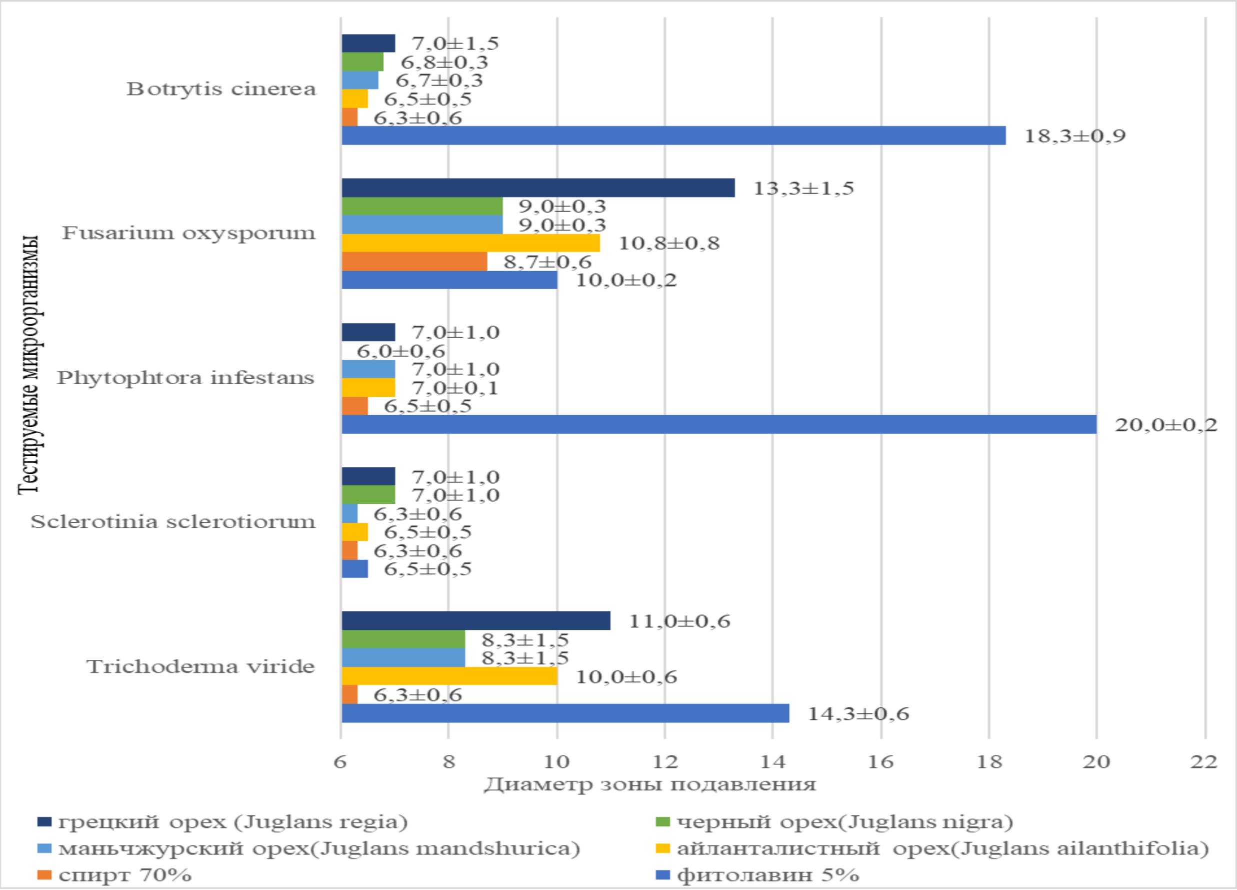


Рисунок 3 – Результаты анализа антифунгальной активности спиртового экстракта листьев растений семейства ореховые, собранных в первой декаде сентября

Анализ результатов вытяжек, приготовленных в конце вегетационного периода, позволил выделить два кластера экстрактов.

Первый кластер включал экстракты с наименьшей антагонистической активностью: айлантолистный, маньчжурский, а также спирт.

Ко второму кластеру отнесли концентраты, обладающие сильным антагонистическим свойством, а именно: вытяжка из листьев черного и грецкого орехов.

Результаты кластерного анализа мы можем наблюдать на рисунке 4.

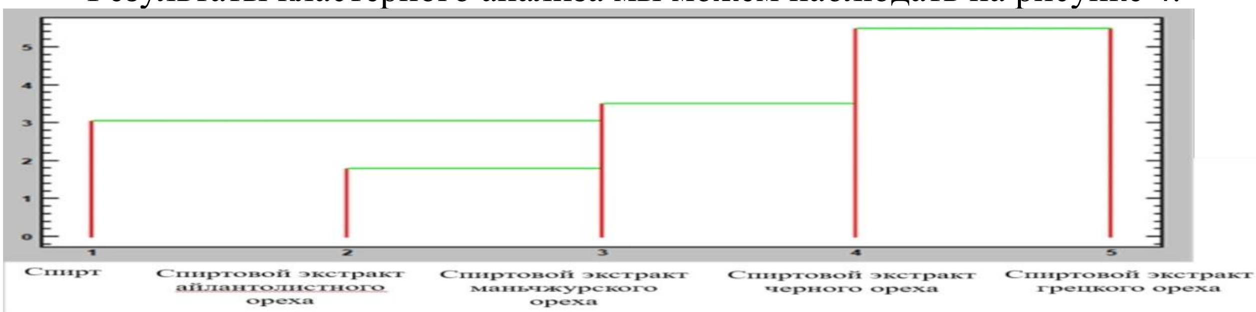


Рисунок 4 – Дендрограмма иерархической классификации переменных на основе принципа дальнего соседа для спиртового экстракта листьев деревьев семейства ореховые, собранных в первой декаде сентября.

Выводы

Все изученные виды орехов (айланталистный, маньчжурский, черный, грецкий) продемонстрировали антифунгальную активность против грибов Fusarium oxysporum и Trichoderma viride. Экстракты, приготовленные из листьев, собранных в июле, оказались более эффективными по сравнению с экстрактами, полученными в сентябре, что указывает на сезонные изменения в концентрации активных веществ.

Результаты исследования подтверждают потенциал использования ореховых экстрактов в качестве природных антифунгальных средств для защиты растений от грибковых инфекций. Это открывает перспективы создания экологически безопасных препаратов на основе растительных экстрактов, которые могут быть эффективно применены в сельском хозяйстве для повышения устойчивости растений к патогенам и уменьшения зависимости от синтетических химикатов.

Список литературы:

1. A. K. M. Mominul Islam, Joshua R. Widhalm. // Agricultural Uses of Juglone: Opportunities and Challenges. – 2020. - 10(10). – 1500.
2. Alice M. Clark, Tannis M. Jurgens, Charles D. Hufford. // Article Antimicrobial activity of juglone. Phytotherapy Research. – 1990. -Volume 4, Issue 1. - p. 11-14.

УДК 631.4

ВЛИЯНИЕ СВЕТОВОГО СПЕКТРА НА РАЗВИТИЕ МЯТЫ И СОСТАВ МИКРОБИОМА

Савенко Екатерина Михайловна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, kateryna1900@gmail.com*

Богоутдинова Лилия Рашидовна, *младший научный сотрудник ФГБНУ «Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии», bogoutdinova_lr@rambler.ru*

Даулетова Радмила Бауржановна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, r_dauletova03@mail.ru*

Набиуллина Индира Рушановна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, indiranabiullina@yandex.ru*

Волобуева Ольга Гавриловна, *д.-с. – х.н, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ovolobueva@list.ru*

Баранова Екатерина Николаевна, *к.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, green-pro2007@rambler.ru*

***Шелепова Ольга Владимировна**, к.б.н., ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии», shov_gbsad@mail.ru*

***Аннотация:** в статье приведены результаты исследований изменения площади клеток листа мяты под разными спектрами света. Проведен критический анализ литературных данных. Выделено несколько бактерий, реакция которых, на изменения светового спектра, ярко отразилась на результатах исследований.*

Ключевые слова: влияние света, синий свет, красный свет, рост, численность, водоросли.

Введение:

Мята перечная (*Mentha piperita* L.) – многолетнее травянистое лекарственное растение семейства Яснотковых, из свежесобранной надземной массы которой получают эфирное масло, которое обладает умеренными седативными свойствами [5]. В Российской Федерации растения мяты выращивают в условиях защищенного грунта. В этих условиях освещение является одним из важнейших факторов, влияющих на продукционный процесс. Так же для повышения урожайности применяют биостимуляторы. γ-PGA SAP - это полученный путем микробной ферментации полипептид, который использовали на ряде с/х культур. На данный момент информации об использовании γ-PGA SAP при выращивании эфиромасличных культур недостаточно.

Целью нашего исследования являлось изучение мезоструктурной организации клеток эпидермиса, столбчатой и губчатой паренхимы клеток листа мяты перечной сорта Ароматное наслаждение при воздействии освещения в сочетании с дополнительным применением γ-PGA SAP.

Материалы и методы исследования:

Растения мяты перечной сорта Ароматное наслаждение выращивали в контейнерах при белом, красном и синем спектре – световой день 16/8 ч. и температурными условиями 26/22 °C в ФГБНУ «Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии». В эксперименте использовали по 30 растений. Половина из которых на стадии вегетации были двукратно обработаны раствором пептида γ-PGA SAP в концентрации 10^{-4} методом внекорневой подкормки. По 5 обработанных и 5 не обработанных растений помещали в различные световые условия. Для проведения световой микроскопии проводили фиксацию фрагментов листа в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере, показатель кислотности которого равен 7,2, с добавлением 1,5%-ной сахарозы в течение 24 ч. и дофиксировали 1%-ным раствором OsO_4. Впоследствии образцы обезвоживали проводя через спирты возрастающей концентрации и заключали в смесь эпон-аралдитных смол. Площадь клеток определяли с помощью программного обеспечения Cell A. Для каждого варианта было проанализировано не менее 150 клеток каждого типа ткани от 3х независимых проростков.

Результаты:

На полутонких поперечных срезах была изучена мезоструктура листа мяты перечной сорта Ароматное наслаждение в условиях различного освещения.

В ходе исследования были показаны изменения площади клеток различных типов тканей листовой пластинки. Так, при синем свете и при обработке пептидом γ-PGA SAP обнаружены наибольшее увеличение площади всех изученных типов клеток: верхнего эпидермиса, столбчатого мезофилла, губчатого мезофилла и нижнего эпидермиса. Наименьшая площадь верхних эпидермальных клеток была отмечена у растений, выращенных при красном свете, как с добавлением пептида, так и без него. У растений мяты, культивировавшихся при белом спектре без добавления пептида, выявлена наименьшая площадь клеток столбчатого мезофилла. Наименьшая площадь губчатого мезофилла показана у растений мяты, подверженных красному свету как с пептидом, так и без него. При воздействии красного и белого света без добавления пептида были обнаружены наименьшие показатели площади клеток нижнего эпидермиса. Выявленные изменения площади клеток тканей листа мяты перечной могут использоваться для регуляции морфологических характеристик листа.

Таблица

Площадь клеток листа мяты

		Верхний эпидермис	Столбчатый мезофилл	Губчатый мезофилл	Нижний эпидермис
		Площадь, мкм^2	Площадь, мкм^2	Площадь, мкм^2	Площадь, мкм^2
Белый свет	сумма	13721,4	18019,0	31734,0	7957,3
	ср.знач	370,9	268,9	251,9	176,8
Белый свет с пептидом	сумма	3632,5	7828,8	12981,2	3014,6
	ср.знач	330,2	412,0	249,6	201,0
Синий свет	сумма	9094,2	17313,2	14936,5	1953,4
	ср.знач	303,1	467,9	219,7	195,3
Синий свет с пептидом	сумма	11496,6	18862,7	30975,4	9863,2
	ср.знач	499,9	571,6	418,6	318,2
Красный свет	сумма	14847,7	26885,8	29420,8	8960,0
	ср.знач	285,5	358,5	210,2	165,9
Красный свет с пептидом	сумма	22907,7	37212,0	44139,5	17133,3
	ср.знач	290,0	471,0	231,1	225,4

Энергия солнечного света необходима растениям для фотосинтеза, а также роста и развития, однако, фотосинтез свойствен не только растениям, но и другим организмам, таким как цианобактерии, зеленые, пурпурные и гелиобактерии [1].

Спектральный состав фотосинтетически активной радиации (ФАР) различен для разных групп микроорганизмов и зависит от набора пигментов. Оксигенный фотосинтез (цианобактерии, прохлорофиты) возможен в диапазоне от 300 до 750 нм. У этих бактерий хлорофилл a и b, с максимумом поглощения 680-685 и 650-660 нм, соответственно. У цианобактерий фикобилипротеиды (красные и синие пигменты) поглощают свет с длиной 450-700 нм. Аноксигенный фотосинтез (пурпурные, зеленые бактерии) – в диапазоне от 300 до 1100 нм.

У всех фотосинтезирующих прокариот дополнительные светособирающие пигменты – каротиноиды, поглощающие свет в синей и сине-зеленой части спектра (450-550 нм) [2].

Изменение спектра света и использование различных цветов света увеличивает рост фотосинтетических микроорганизмов, включая микроводоросли. Результаты исследования Л. Недаи, 2024 показали, что использование красного света с длиной волны 150 микрофотонов на квадратный метр является ключевым фактором, влияющим на скорость роста фотосинтетических микроорганизмов, особенно микроводорослей [4].

Исследования К. Стрельникова и К. Корлякова, 2015 показали, что сине-зеленые водоросли разделяют разные спектры светового диапазона и среди различных таксонов была выявлена узкоспециализированная форма водорослей – хлорелла. Род хлорелла был зафиксирован лишь под синим спектром [3].

Заключение:

При влиянии синего и красного света увеличилась площадь клеток столбчатого мезофилла листьев мяты (синий свет дал больший эффект, по сравнению с красным), в то время как площадь клеток верхнего эпидермиса была меньше. Красный свет вызывал ингибирование роста клеток губчатого мезофилла в высоту. С добавлением пептида площадь клеток столбчатого мезофилла увеличилась более чем на 50% по сравнению с площадью клеток в нормальных условиях освещения. Синий свет с добавлением пептида оказал наибольшее влияние на увеличение площади всех изученных типов клеток. Красный свет с добавлением пептида повлиял только на увеличение площади клеток столбчатого мезофилла. Наиболее отзывчивой на изменения спектральных характеристик освещения по нашим данным является столбчатая паренхима.

Влияние на продуктивность микроорганизмов оказывает спектральный состав фотосинтетически активной радиации (ФАР) и он различен для разных групп микроорганизмов. Из приведенных примеров исследований можно сказать, что использование красного света влияет на рост микроводорослей, в то время как синий свет оказывает влияние на рост хлорелл.

Общие закономерности в чувствительности к спектральному составу, обнаруженные у микроводорослей, хлорелл и листьев мяты объясняются наличием сходства между ними и входящим в состав растительной клетки древним эндосимбионтом хлоропластом, происходящим от цианобактериальной клетки.

Список литературы:

1. Борисова Г.Г. Физиология растений и микробиология / Г.Г. Борисова, И.С. Киселева, Г.Ф. Некрасова, Н.Н. Фирсов, Е.В. Храмцова // Методические указания к полевой летней практике. Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2006. – С.6-7.

2. Рузманов Д.Ю. Влияние света на бактерии. / Д.Ю. Рузманов // Студенческий научный форум: материалы XV международной студенческой научной конференции, 2023.

3. Стрельникова К.А. Влияние различного спектра света на состав флоры и фауны, развивающейся из ила донных отложений / К.А. Стрельникова, К.А. Корляков // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области, 2015. – 4 (11) Т.
4. Nedaei L. Investigating the effect of light color on the growth of microalgae. / Leila Nedaei // Conference: The 18th National Congress of Chemical Engineering of Iran, 2024.
5. Shelepova O.V. Aromatic Plants Metabolic Engineering: A review. / E.N. Baranova, E.V. Tkacheva, Y.B. Evdokimenkova, A.A. Ivanovskii, L.N. Konovalova, A.A. Gulevich // Agronomy – 2022. – V.12, – P. 54-71.

УДК 632.11:581.1:577.2

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К РАЗЛИЧНЫМ НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ

Саржевская Ева Алексеевна*, студентка 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, sarzhevskayaeva@yandex.ru*
(Научный руководитель – Чередниченко Михаил Юрьевич, к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, cherednichenko@rgau-msha.ru)

Аннотация: *В современной атмосфере содержится высокое количество углекислого газа, который создает экстремальные условия для растений. Чтобы решить проблему изменения климата, ученые изучают механизмы электрических сигналов, подавляющих фотосинтез, создают растения, которые будут концентрировать избытки углерода в своих корнях, и исследуют вещества, влияющие на направление роста корней.*

Ключевые слова: глобальное потепление, углекислый газ, адаптация, механизм электрических сигналов, накопление углерода в суберине, архитектура корневой системы

Актуальность

Глобальное изменение климата представляет собой угрозу для существования растений, животных и людей. Слишком много атмосферного углерода повышает температуру по всему миру, вызывая смертоносные штормы, катастрофические наводнения и постоянные засухи. Сокращение выбросов углекислого газа в атмосферу пока не достигло даже запланированных международными договорами показателей, и многие страны значительно превышают свои квоты. Поэтому глобальное потепление климата в ближайшее время не прекратится. Это означает больше скачков температуры как в сторону похолодания, так и в сторону жары, что создаёт экстремальные условия и представляет собой серьёзную угрозу для глобальной продовольственной безопасности. Изменения климата могут напрямую влиять на продовольственные системы, сокращая производство и генетическое разнообразие сельскохозяйственных культур и их диких родственников, тем самым в еще большей степени угрожая голодом быстрорастущему населению планеты. Поэтому очень важно разрабатывать методы адаптации сельскохозяйственных культур к неблагоприятным воздействиям среды.

Один из альтернативных механизмов адаптации растений к неблагоприятным условиям среды был открыт российскими учеными в 2023 году [5]. Они определили механизм электрических сигналов, которые генерируют растительные клетки в ответ на внешний стимул, чтобы донести до остальных частей растения информацию об опасности. Эти сигналы снижают активность фотосинтеза, что подготавливает организм к переходу в режим выживания во время засухи, высокой инсоляции и температуры.

Актуальность исследования состоит в том, что потенциально такие электрические сигналы можно использовать для сохранения сельскохозяйственных культур в экстремальных условиях.

Электрические импульсы возникают в результате изменения концентрации ионов внутри и снаружи растительной клетки. Смещение баланса ионов приводит к деполяризации или гиперполяризации – накоплению положительного или отрицательного заряда внутри клетки соответственно. Эти изменения далее распространяются по растительным тканям. Таким образом, не пострадавшие ткани могут «подготовиться» и запустить защитные механизмы.

Ранее учёные предполагали, что растение передаёт сигналы в основном через деполяризацию – деполяризационные электрические сигналы. Однако подобный тип сигнализации наблюдался исключительно в критических ситуациях, например, при ожоге. В 2009 году учёные обнаружили, что растения также могут передавать сигнал при помощи гиперполяризации, например, в ответ на лёгкое повреждение листьев. На данный момент значимость и физиологическая роль этого типа сигнализации до конца не изучены.

Группа учёных из Национального исследовательского Нижегородского государственного университета имени Н.И. Лобачевского (Нижний Новгород) продемонстрировала, что гиперполяризационные электрические сигналы – ответная реакция растений на слабые раздражители, характерные для естественных природных условий, например умеренный нагрев (около 40 °C). В данной работе эти учёные исследовали, как именно гиперполяризационные электрические сигналы влияют на растения.

В качестве основного показателя состояния организма выбрали фотосинтез, так как это ключевой процесс жизнедеятельности растительных организмов. Оценить активность фотосинтетических реакций можно исходя из того, насколько эффективно растение использует солнечную энергию. Часть её запасается в химических связях органических соединений, а избыток излучается в виде невидимого глазу свечения – флуоресценции. Если получаемая извне энергия будет слишком велика (например, из-за слишком избыточной освещенности), то она может запустить разрушительные для растения процессы. Для защиты фотосинтетического аппарата энергия тратится другим путём, а именно, рассеивается в виде тепла. В результате флуоресценция уменьшается, и таким образом можно оценить, насколько велик стресс для растения.

В эксперименте учёные сочетали умеренный нагрев (около 40 °С) и облучение синим светом, что может наблюдаться в реальных условиях при жаре и засухе. Кроме того, есть данные, что синий свет запускает волну электрических импульсов в растительной ткани. Флуоресценцию хлорофилла фиксировали при помощи специальной камеры. Электрические сигналы измерялись электродами, которые контактировали с растительной тканью в зоне облучения и нагрева. Также исследователи проанализировали изменение физиологического ответа растения на раздражители под влиянием засухи (7 или 14 суток без полива).

Результаты работы показали, что в разных комбинациях локальное повышение температуры и воздействие света стимулировали растения к генерации гиперполяризационных электрических сигналов, в том числе и при умеренной засухе (7 суток без воды). Их выраженность была напрямую связана со снижением эффективности фотосинтеза. Интересно, что в условиях сильной засухи (14 суток без воды) зарегистрированные сигналы были менее интенсивны, и изменений в фотосинтетических реакциях не наблюдалось, что подтвердило их участие в регуляции фотосинтеза растения.

Учёные сделали вывод, что исследованные сигналы играют важную роль в адаптации к неблагоприятным, но в целом переносимым условиям среды. Они подавляют фотосинтез, что помогает растению вместо роста и развития перейти в энергосберегающий режим. Дополнительно удалось показать: если на растение действуют сильные раздражители, то передача сигналов об опасности происходит уже другим путём.

Инициатива Harnessing Plants Initiative (HPI) в США – это инновационный подход, основанный на существующих на Земле механизмах хранения углерода, который помогает решить проблему изменения климата. Чтобы сохранить больше углерода в земле и сохранить его в корнях, ученые из Солка разрабатывают новое поколение сельскохозяйственных и водно-болотных растений с более глубокими, массивными корнями и более высокими концентрациями поглощающего углерод суберина. К сожалению, это хранение углерода часто носит временный характер. Когда растения отмирают и разлагаются, большая часть этого углерода возвращается в атмосферу.

HPI состоит из двух программ [1]:

- CRoPS (CO2 Удаление в планетарном масштабе), целью которого является выращивание сельскохозяйственных культур под названием Salk Ideal Plants®, которые могут дольше сохранять больше углерода в земле.

- CPR (Восстановление прибрежных растений), работающая над генетически обоснованным восстановлением и сохранением водно-болотных угодий мира, которые действуют как значительные поглотители углерода.

В настоящее время исследователи проводят тщательные исследования на модельных растениях, таких как *Arabidopsis thaliana* и *Nelumbo nucifera*, чтобы понять генетические сигналы, которые управляют содержанием суберина, массой и глубиной проникновения корня в почву.

Учёные Института Salk (США) нашли ген, который определяет, растут корни вглубь или вширь. Он напрямую влияет на рост и формирование архитектуры корневой системы путём контроля транспортировки ауксина [4]. Актуальность открытия в том, что оно не только позволит команде создавать растения, которые могут развивать более глубокую корневую систему, чтобы в конечном итоге накапливать больше углерода, но и поможет ученым понять, как растения справляются с сезонными колебаниями количества осадков и как помочь растениям адаптироваться к изменяющемуся климату.

В своих исследованиях учёные использовали самое популярное растение в биологии – арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*). С его помощью они идентифицировали гены и их сочетания, которые влияют на выработку гормона класса ауксинов – индолил-3-уксусной кислоты. Этот гормон отвечает за рост растений, в том числе за формирование корней.

Для того чтобы наблюдать за ростом и развитием корней арабидопсиса, был разработан специальный метод исследований корней в почве. Дело в том, что корни в принципе сложно наблюдать, а у арабидопсиса они ещё и очень мелкие. Проблему решили разрезанием растений вдоль, что позволило с одной стороны видеть профиль корней, а с другой — измерять уровень их развития в почве.

В итоге ген успешно локализовали и назвали его EXOCYST70A3. Он напрямую влияет на рост и формирование архитектуры корневой системы путём контроля транспортировки ауксина. В свою очередь, контроль путей транспортировки EXOCYST70A3 осуществляет с помощью белка PIN4, который влияет на перемещения ауксина. Когда учёные изменили ген EXOCYST70A3, они обнаружили, что ориентация роста корневой системы изменилась, а сами корни стали проникать глубже в почву.

Учёные отмечают, что биологические системы очень сложны, поэтому точно определить эффект сочетания молекулярных механизмов и ответ на изменения окружающей среды пока нельзя. Тем не менее само по себе открытие такого гена и механизмов его влияния на рост корней – это уже важный шаг к пониманию, как можно адаптировать культурные растения к изменению среды их обитания с помощью влияния на транспортировку ауксина.

Ученые Солка обнаружили, что высококонсервативный сигнальный путь этилена можно использовать для контроля направления роста корней, что, в свою очередь, создает более глубокие корневые системы, которые удерживают углерод и удаляют углекислый газ из атмосферы. В исследовании было показано, что гормон этилен участвует в регулировании углов закладки боковых корней, которые формируют корневую систему, что делает полученные результаты открытием для потенциальной оптимизации архитектуры корневой системы.

Далее команда заметила, что гены сигнального пути этилена активировались в ответ на молекулу мебендазола, и, в свою очередь, этот путь вызывал результирующие изменения в росте корней. Биохимическое исследование этой связи показало, что мебендазол ингибирует активность протеинкиназы CTR1. Этот фермент отрицательно регулирует передачу сигналов этилена, что, в свою очередь, способствует образованию поверхностной корневой системы. Поскольку передача сигналов этилена является широко консервативным процессом у наземных растений, воздействие на этиленовый путь является очень многообещающим методом инженерии корневой системы. [2]

Создание засухоустойчивого, связывающего углерод сорта сорго для выращивания на землях в Южной Калифорнии — это часть проекта Института Солка, который был анонсирован в 2020 году [3]. По мнению специалистов научного агентства Texas A&M AgriLife Research, сорго улавливает из воздуха и связывает в почве значительное количество углекислого газа. Его разветвлённая корневая система может достигать подземных горизонтов с водой на глубинах, не доступных другим сельскохозяйственным культурам. Также в 2022 году учёные из Техасского колледжа сельского хозяйства и естественных наук открыли новый метод насыщения сельскохозяйственной почвы углеродом с помощью сорго. Для этих целей они использовали биоэнергетические гибриды растения, которые улавливают и поглощают огромное количество атмосферного углекислого газа, попадающего в почву.

Таким образом, человечество уже приступило к решению проблемы изменения климата путем изучения механизмов адаптации растений к стрессовым факторам. Сейчас ведутся разработки по выведению углерод-связывающих культур, благодаря которым удастся снизить концентрацию углекислого газа в атмосфере.

Список литературы:

1. Harnessing Plants Initiative Our Science [Электронный ресурс]. – URL: [https://www.salk.edu/ru/harnessing-plants-initiative/research/] (дата обращения 10.11.2024).
2. He W., Truong H.A., Zhang L. [et al.] Identification of mebendazole as an ethylene signaling activator reveals a role of ethylene signaling in the regulation of lateral root angles // Cell Reports. 2024. Vol. 43. Art. 113763. 19 p.
3. Lamb A., Weers B., McKinley B. [et al.] Bioenergy sorghum’s deep roots: A key to sustainable biomass production on annual cropland // GCB Bioenergy. 2022. Vol. 14(2). P. 132–156.
4. Ogura T., Goeschl C., Filiault D. [et al.] Root System Depth in Arabidopsis Is Shaped by EXOCYST70A3 via the Dynamic Modulation of Auxin Transport // Cell. 2019. Vol. 178(2). P. 400-412.
5. Yudina L., Sukhova E., Popova A. [et al.] Hyperpolarization electrical signals induced by local action of moderate heating influence photosynthetic light reactions in wheat plants// Front. Plant Sci. 2023. Vol. 14. Art. 1153731. 20 p.

УДК 631.4

ПРОДУКТИВНОСТЬ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ПРИ РАЗЛИЧНОМ СПЕКТРАЛЬНОМ СОСТАВЕ СВЕТА

Сафронова Анастасия Викторовна, студентка 4-го курса кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева
Бозиева Айшат Магомедовна, научный сотрудник лаборатории управляемого фотосинтеза ИФР РАН им К.А. Тимирязева

Аннотация: *На примере штамма Desertifilum tharense Dadheech et Krienitz IPPAS B-1220 был проведен анализ влияние спектрального состава на количество биомассы и содержание хлорофилла А в образцах. Установлено, что наибольшая оптическая плотность наблюдается в синем спектре; наибольшее содержание хлорофилла А наблюдается в красном спектре.*

Введение

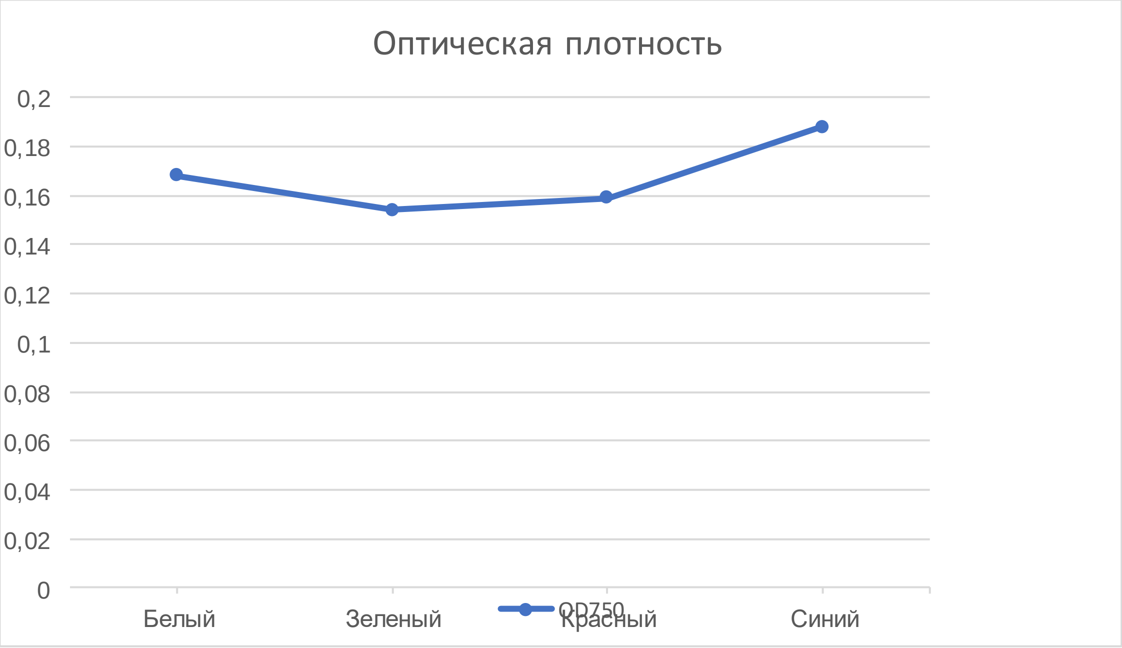
В клетках цианобактерий обычно присутствуют хлорофилл а, фикобилины и каротиноиды. Хлорофилл А поглощает свет в синей (около 430 нм) и красной (около 662 нм) частях спектра. Фикобилипротеины обеспечивают в клетках цианобактерий поглощение света в области 450–700 нм и с высокой эффективностью (больше 90%) передают поглощённый свет на хлорофилл, при этом основное количество энергии передаётся на хлорофилл, связанный со II фотосистемой. https://evolution.powernet.ru/library/micro/14.html

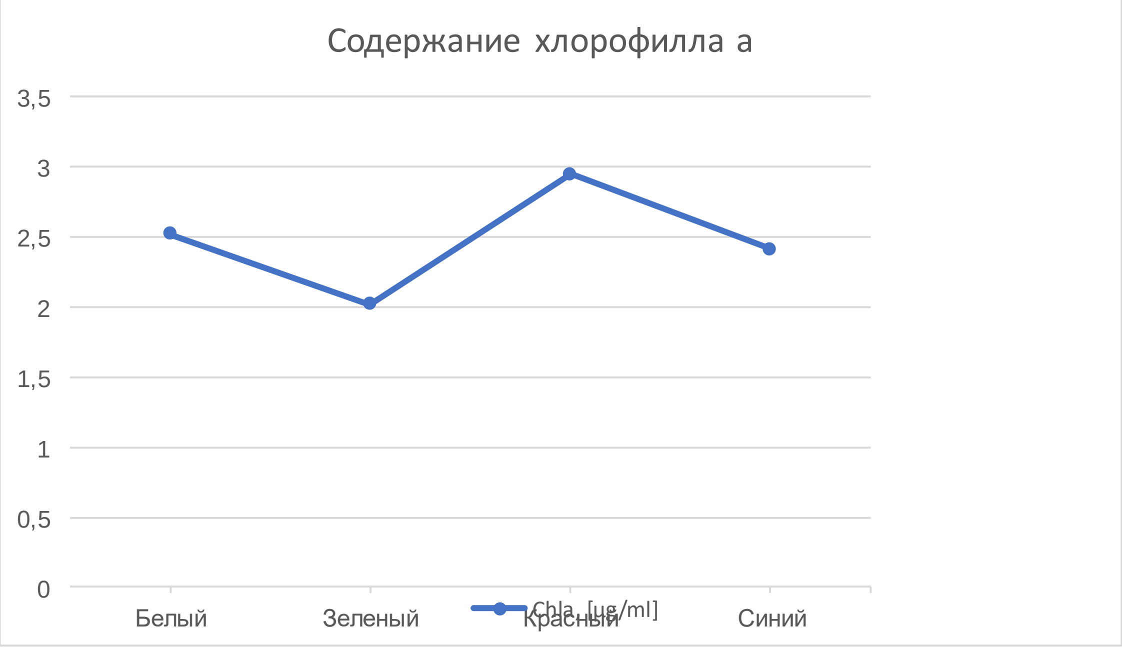
Накопление биомассы цианобактериями под различными длинами световых волн разнится в зависимости от биологических особенностей штамма.

Объектом исследования был выбран штамм *Desertifilum tharense Dadheech et Krienitz IPPAS B-1220* – неразветвленные нитевидные цианобактерии, выделенные из озера Шара-Нур. При следующих условиях культивирования: температура 32ºС на безазотистой среде BG-11-N, с освещением 60 µmol photons m^2/s. После достаточного разрастания культур они были помещены в спектральную установку, где были расположены в трех повторностях на четырех спектрах: белом, красном, зеленом и синим. Во время нахождения в установке пробы подвергались постоянному перемешиванию для равномерного распределения биомассы и освещения.

Измерение оптической плотности было проведено на спектрофотометре Thermo Scientific Genesys 40 Vis (USA), настроенным на 750 нм по стандартной методике. Содержание хлорофилла *А* так же определялось на спектрофотометре с длинной волны 665 и 720 нм с добавлением метанола до смены цвета осадка с зеленого до прозрачного, синего или фиолетового цвета, далее расчет проводился по формуле:

$Chl\textit{a}\ [\mu g/ml] = 12.9447\ (A665 - A720)$ (Ritchie, 2006)





УДК 631.363

РОЛЬ ФЕРМЕНТОВ Na^+/K^+-АТФАЗы В УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К СОЛЕВОМУ СТРЕССУ

***Тишков Денис Николаевич**, студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, tishkov1401@mail.ru*
***Козлов Андрей Владимирович,** д.б.н., доцент, заведующий кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.kozlov@rgau-msha.ru*

Аннотация: *фермент Na+/K+-АТФаза, также известный как натрий-калиевая помпа, играет ключевую роль в поддержании ионного баланса в клетках, перемещая три иона натрия (Na+) из клетки и два иона калия (K+) в клетку за счет гидролиза АТФ. Этот фермент критически важен для регуляции мембранного потенциала, объема клетки и транспорта веществ. В условия солевого стресса у растений Na+/K+-АТФаза играет важную роль. В данной статье рассматриваются роль и механизмы действия Na+/K+-АТФазы на примерах земных и водных растений.*

Ключевые слова: Na+/K+-АТФаза, солевой стресс, гомеостаз, Neoporphyra haitanensis, транспортер, SOS1. убаин

Введение

Из-за быстрой индустриализации пахотные земли заметно сократились, что, в свою очередь, поставило под угрозу продовольственную безопасность. Было подсчитано, что население мира, как ожидается, достигнет 9 миллиардов к 2050 году; и чтобы прокормить это постоянно растущее население, средняя урожайность должна быть увеличена на 70%. В природе сидячие растения подвергаются стрессу засоления, который серьезно влияет на их рост и продуктивность. Более 7% общей площади суши в мире находится под угрозой засоления. Исследования механизмов, с помощью которых растения адаптируются к засолению и переносят его, полезны для выведения новых сортов с повышенной солеустойчивостью. Таким образом, становится жизненно важным понять роль фермента Na+/K+-АТФаза, определить адаптивные функции, чтобы избежать солевого стресса.

Основная часть

Открытие Na+/K+-АТФазы связано с работами датского учёного Йенса Кристиана Скоу (Jens Christian Skou). В 1957 году он опубликовал статью, в которой описал фермент, способный гидролизовать АТФ в присутствии натрия и калия. Это открытие стало основой для понимания механизма активного транспорта ионов через клеточные мембраны. Фермент Na+/K+-АТФаза, также известный как натрий-калиевая помпа, играет ключевую роль в поддержании ионного баланса в клетках, перемещая три иона натрия (Na+) из клетки и два иона калия (K+) в клетку за счет гидролиза АТФ. Этот фермент критически важен для регуляции мембранного потенциала, объема клетки и транспорта веществ. [1]

Na+/K+АТФаза работает через циклфосфорилирования и дефосфорилирования, который включает несколько ключевых этапов:

Фосфорилирование: АТФ гидролизуется, и энергия используется для фосфорилирования фермента.

Конформационны е изменения: Фосфорилирование вызывает конформационные изменения в белке, что позволяет ему перемещать ионы через мембрану.

Дефосфорилирование: После перемещения ионов фермент дефосфорилируется и возвращается в исходное состояние. [1]

Рассмотрим, научную работу, в которой изучался вопрос, как солевая толерантность влияет на рост и продуктивность растений, а также на их физиологические и биохимические процессы. Избыточное накопление солей в ризосфере ограничивает поглощение воды и питательных веществ корнями растений. Поддержание баланса K+/Na+ критически важно для солевой толерантности, и это непосредственно связано с активностью Na+/K+-АТФазы, которая отвечает за активный транспорт этих ионов через клеточную мембрану. Исследование фокусируется на понимании сложных многокомпонентных сигнальных путей, которые растения используют для восстановления клеточного гомеостаза и повышения выживаемости под воздействием солевого стресса. Фермент Na+/K+-АТФаза взаимодействует с различными белками и сигнальными путями для поддержания ионного баланса и защиты клеток от токсичного воздействия натрия. [3]

В ходе исследования было установлено, что SOS1 Na+/H+ антипортер активности активируется, когда PLD1-производные PA взаимодействуют с MPK6. Это взаимодействие способствует созданию протонного градиента через вакуолярную мембрану, активируя вакуолярную H+-АТФазу. Благодаря этому процессу происходит поддержание ионного гомеостаза под воздействием солевого стресса. Взаимодействие с другими белками, такими как GI (GIGANTEA) и ABI2 (ABA INSENSITIVE2), также помогает регуляции активности Na+/K+-АТФазы. [3]

Различные классы HKT транспортеров, такие как HKT1; 5 ортологи и Nax1, были идентифицированы как основные QTL карты в сильной солевой толерантности. Эти транспортеры способстуют удалению Na+ из листового ксилемы, чтобы защитить листовые пластинки от чрезмерного накопления Na+. Например, OsHKT1; 4 ограничивает передачу Na+ от листовой влагалища к пластинке в соленой среде, что увеличивает урожайность пшеницы в соленых условиях. [3]

Протеомический анализ доказал, что изменения в экспрессии генов и повышенный риск разрушения белков приводят к изменениям в белковом метаболизме. Повышенная экспрессия белков, таких как GST, LEA, V-ATPase, OSAP1 zinc finger protein и HB1B, была обнаружена в соле-толерантных линиях растений. [3]

Геномные исследования предоставляют данные о роли различных генов в адаптации растений к солевому стрессу. Различные SOS мутанты играют роль в солевой толерантности, поддерживая концентрации Na+ и K+ в клетках. SOS1, SOS2 и SOS3 являются ключевыми компонентами в механизме солевой толерантности растений. Эти гены помогают поддерживать ионный гомеостаз и защищать клетки от токсичного воздействия натрия. [3]

В другом исследовании изучали приливные макроводоросли, такие как Neoporphyra haitanensis, они обладают высокой устойчивостью к солевому стрессу и являются идеальными моделями для изучения механизмов солеустойчивости. Активация Na+/K+-АТФазы при гиперсолевом стрессе 100 ‰ уровень транскрипции NhNKA2 и активность фермента Na+/K+-АТФазы значительно повышался на начальной стадии стресса (15 мин) примерно в 2,67 раза по сравнению с контрольной группой. Пик активности наблюдался через 30 минут после воздействия гиперсолёной воды и был в 15,71 раза выше, чем в контрольной группе. [2]

Добавление убаина (ингибитора Na+/K+-АТФазы) привело к накоплению Na+ в клетках, сильной утечке K+ из слоевищ и нарушению гомеостаза K+/Na+ у слоевищ N. haitanensis. Убаин снижает оптимальный квантовый выход (Fv/Fm) фотосистемы II (PSII), что указывает на подавление фотосинтетической активности. [2]

Na+/K+-АТФаза и система SOS1 (антипортер Na+/H+) оба участвуют в выведении Na+ из клеток, но Na+/K+-АТФаза демонстрирует более эффективное регулирование гомеостаза K+/Na+. Ингибитор SOS1 (амилорид) также блокирует отток Na+, но его эффект менее выражен. [2]

Это позволяет предположить, что Na+/K+-АТФаза нужен для процесса поддержания уровня K+ в слоевищах N. haitanensis при гиперсолевом стрессе. Ингибирование Na+/K+-АТФазы убаином приводит к значительной утечке K+ и снижению соотношения K+/Na+. [2]

Заключение и перспективы на будущее

В результате двух исследований, мы видим, что фермент Na+/K+-АТФаза помогает бороться с солевым стрессом у растений, в 1 исследовании этот фермент взаимосвязан с геномами растений и рядом сигнальных каскадов, регулирующих Na+ транспортеры.

Во второй научной работе, Na+/K+-АТФаза ярко показывает, как она важна в поддержании гомеостаза K+/Na+ у приливных макроводорослей Neoporphyra haitanensis в условиях гиперсолености. Она активно участвует в выведении Na+ и поддержании уровня K+, что помогает растениям справляться с токсичностью Na+ и поддерживать нормальные физиологические функции. Ингибирование Na+/K+-АТФазы приводит к нарушениям ионного баланса и физиологическим повреждениям.

Важно продолжать исследования для лучшего понимания работы Na+/K+-АТФазы. Разработка новых биотехнологий и молекулярных селекционных подходов для создания культур с повышенной солевой толерантностью. Это может с решением проблемы адаптации сельскохозяственных растений к засоленным почвам, поднимет урожайность, решит проблему голода.

Список литературы:

1. Jens Christian Skou and Mikael Esmann The Na,K-ATPase // Journal of bioenergetics and biomembranes. – 1992. – С. 249-259.
2. Qi Chen, Kai Xu, Yan Xu, Dehua Ji, Changsheng Chen, Chaotian Xie and Wenlei Wang Na^+/K^+-ATPase regulates the K^+/Na^+ homeostasis in the intertidal macroalgae, *Neoporphyra haitanensis*, in response to salt stress // Frontiers in Plant Science. – 2023. – С. 1-11.
3. S. Hussain, S. Hussain, B. Ali, X. Ren, X. Chen, Q. Li, M. Saqib, N. Ahmad Recent progress in understanding salinity tolerance in plants: Story of Na+/K+ balance and beyond // Plant Physiology and Biochemistry. – 2021. – С. 240-250.

УДК 615.281/.322

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ *PLECNTRANTHUS ECKLONII* BENTH.

Федотова Полина Алексеевна*, студент 3 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, polifedou@yandex.ru*
Зиновьева Ольга Дмитриевна*, студент 3 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, zolgad10@mail.ru*
Скопцова Анна Сергеевна*, студент 3 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, anji2004@yandex.ru*
(Научный руководитель – Чередниченко Михаил Юрьевич, к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, cherednichenko@rgau-msha.ru)

Аннотация: *в обзоре представлены данные о биохимическом составе экстрактов Plectranthus ecklonii, обусловливающем выраженную антимикробную активность, прежде всего, против грамположительных бактерий.*

Ключевые слова: Plectranthus ecklonii, вторичные метаболиты, дитерпены, абиетаны, парвифлороны

Род шпороцветник (*Plectranthus* L'Hér.) семейства яснотковые (*Lamiaceae* Martinov) содержит несколько видов с признанным этнофармакологическим применением, например, при желудочно-кишечных и респираторных проблемах, благодаря их противовоспалительным, антибактериальным и противогрибным свойствам. Биологическая активность некоторых лекарственных соединений этого рода оправдывает возросший в последнее время интерес к видам *Plectranthus*, помещая их в центр внимания для разработки лекарственных препаратов на основе натуральных продуктов.

Шпороцветник Эклона (*Plecntranthus ecklonii* Benth.) является одним из 83 видов рода шпороцветник. Распространен в Южной Африке от округов Сомерсет-Ист и Олбани в Капской провинции через прибрежные и центральные районы Транскея и Натала до Барбертона в Трансваале.

Из растений *P. ecklonii* на сегодняшний день выделено 28 соединений. Как и в других видах *Plectranthus*, изученных на протяжении многих лет, преобладающими классами являются терпены и фенольные соединения. В *P. ecklonii* были идентифицированы 8 дитерпенов, 4 из них являются дитерпенами с абиетановым скелетом, 2 являются тритерпенами и 2 идентифицированы как стерины. Что касается фенольных соединений, были выделены 12 флавонов и 1 флаванон, в дополнение к кофейной кислоте и 4 ее производным [1].

Наиболее изученной биологической активностью вторичных метаболитов (ВМ) *P. ecklonii* является антимикробная активность. Была доказана различная степень эффективности ВМ против грамположительных бактерий, грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas aeruginosa* и *E. coli*) и грибов, таких как *Aspergillus niger* и *Candida albicans*. Из приведенных выше исследований можно сделать вывод, что ВМ оказывают большую антибактериальную активность на грамположительные бактерии (*Staphylococcus, Enterococcus, Listeria* и *Streptococcus*) [1].

Парвифлороны – природные дитерпены, широко распространенные среди видов рода *Plectranthus*. Пигменты парвифлорон D (CAS: 66656-57-3) и F (CAS: 66656-58-4) были впервые выделены из эфирного экстракта *P. parviflorus* [4, 5]. Затем парвифлорон D [2α-(4-гидрокси)бензоилокси-11-гидрокси-5,7,9(11),13-абиетатетраен-12-он] был выделен из *P. strigosus* Benth. и *P. ecklonii* Benth., и сообщалось о его антибактериальной активности, в частности против штаммов, устойчивых к метициллину и ванкомицину [1]. Парвифлорон F [11-гидрокси-2α-(3,4-дигидроксибензоилокси)-абиета5,7,9(11),13-тетраен-12-он] был выделен из *P. ecklonii* и P. *nummularius* Briq., а затем и парвифлорон E [11-гидрокси-19-(3,4-дигидроксибензоилокси)-абиета-5,7,9(11),13-тетраен-12-он]. Известно, что листья представителей семейства *Lamiaceae* содержат терпеноиды с противогрибной, антибактериальной и инсектицидной активностью. Экстракты, полученные из листьев некоторых видов *Plectranthus* в Южной Африке, показали антибактериальную активность. Дитерпены абиетана, выделенные из *P. elegans*, подавляли рост грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* [1]. Дитерпены, выделенные из *P. grandidentatus* и *P. hereroensis*, также оказались активными против резистентных грамположительных бактерий: ванкомицин-резистентного *Enterococcus faecalis* (VRE) и метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA) [1]. Из этилацетатных экстрактов *P. ecklonii* были выделены два известных абиетана, парвифлорон D и F, и оба соединения продемонстрировали эффективную активность против *Listeria monocytogenes* [3-5]. Традиционное использование *P. ecklonii* для лечения желудочно-кишечных расстройств также может быть связано с его активностью против *E. coli*.

Абиетаны парвифлорон D и F также были активны против *Mycobacterium smegmatis, Pseudomonas aeruginosa и Enterococcus faecalis* [3]. Листья растения используются при респираторных симптомах, болях в груди и кашле (в частности, при туберкулезе), что может быть связано с активностью парвифлоронов D и F, ингибирующей рост *M. tuberculosis* [3-5]. Парвифлорон D также подавлял рост *S. aureus*, что, возможно, объясняет использование надземных частей растения в Зимбабве при кожных заболеваниях [2-4]. Сообщалось об антибактериальной активности парвифлорона D против видов *Staphylococcus* и *Enterococcus*, в том числе против штаммов MRSA и VRE [1, 4]. Перегруппированный абиетан (2ß-(4-гидрокси)бензоилокси), полученный в 2010 году Simões и его коллегами из парвифлорона D, также продемонстрировал антибактериальную активность против некоторых штаммов стафилококков и энтерококков при тестировании против грамотрицательных и грамположительных бактерий [1, 4]. Механизм, ответственный за антибактериальную активность дитерпенов, может быть связан с разрушением бактериальной мембраны липофильными соединениями.

Высокая стоимость синтетических препаратов и проблема множественной лекарственной устойчивости увеличили необходимость использования антилистериозного потенциала лекарственных растений. Растительные экстракты являются более доступной альтернативой, что привело к использованию лекарственных растений при лечении листериоза. *P. ecklonii* является одним из растений, традиционно используемых для лечения симптомов, связанных с листериозной инфекцией [2]. Многие организмы, включая условно-патогенный *Listeria monocytogenes,* чаще появляются в виде устойчивых к внешним воздействиям биопленок, например, при «больничных» инфекциях. Этилацетатный экстракт из *P. ecklonii* показал антилистериозную активность с минимальной ингибирующей концентрацией (MIC) 0,5 мг/мл. Парвифлороны D и F показали еще более высокую активность в разрушении биопленки *L. monocytogenes* с MIC 15,6 мкг/мл и 31,25 мкг/мл соответственно [3-5]. Хотя результаты иллюстрируют возможное использование соединений в качестве дезинфицирующих средств, необходимо провести дальнейшие исследования для изучения их потенциала для эффективного удаления биопленки *Listeria* с загрязненных поверхностей.

Различные отчеты показали, что урсоловая (UA) и олеоноловая (OA) кислоты проявляют антимикотические, противоопухолевые, антибактериальные, противовирусные и противопаразитарные свойства [1, 2]. UA и OA проявляют высокую антимикробную активность и действуют против таких человеческих патогенов, как микобактерии и различные виды простейших [1, 2]. Было показано, что UA и ее производные обладают антимикробной активностью, например, в качестве ингибиторов грамположительных *S. aureus*, грамотрицательных организмов (*P. aeruginosa и E. coli*) и *Microsporium lenosum* [2]. OA проявила антимикробную активность против *Bacillus subtilis*, метициллин-чувствительного *S. aureus* (MSSA) и MRSA [1]. При использовании против *M. tuberculosis* как OA, так и UA продемонстрировали противотуберкулезный потенциал. В 2010 году Figueiredo с коллегами показали, что присутствие розмариновой кислоты (RA) в водном экстракте *P. ecklonii* отвечает за антибактериальную активность против *Streptococcus* spp. [1, 2].

Таким образом, изучение комплекса вторичных метаболитов *P. ecklonii* относительно их биологической активности представляет большой интерес и является перспективным направлением, учитывая широкий спектр активности, а также возможности технологии культивирования *in vitro* растительных тканей. Эта технология позволяет получать ценные метаболиты, выращивая растения и клеточные культуры на искусственных питательных средах и управляя биосинтетическими процессами с помощью факторов физической и химической природы.

Список литературы:

1. Antão A.R., Bangay G., Domínguez-Martín E.M. [et al.] *Plectranthus ecklonii* Benth: A Comprehensive Review Into its Phytochemistry and Exerted Biological Activities // Frontiers in Pharmacology. 2021. Vol. 12. Art. 768268. 25 p.
2. Lukhoba C.W., Simmonds M.S.J., Paton A.J. *Plectranthus*: A Review of Ethnobotanical Uses // Journal of Ethnopharmacology. 2006. Vol. 103. P. 1-24.
3. Nyila M.A., Leonard C.M., Hussein A.A. [et al.] Bioactivities of *Plectranthus Ecklonii* Constituents // Natural Product Communications. 2009. Vol. 4(9). P. 1177–1180.

4. Salim A., Chin Y., Kingthorn A. Drug Discovery from Plants // Bioactive Molecules and Medicinal Plants. Eds K. G. Ramawat and J. M. Merillon. Berlin: Springer, 2008. P. 1-25.
5. Srancikova A., Horvathova E., Kozics K. Biological Effects of Four Frequently Used Medicinal Plants of *Lamiaceae* // Neoplasma. 2013. Vol. 60. P. 585-597.

УДК 632.4.01/.08

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ *ZYMOSEPTORIA TRITICI* ПО ПРИЗНАКУ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АЗОКСИСТРОБИНУ

Чернышова Софья Константиновна, *магистрант 2 курса Института агротехнологий и пищевых производств, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», chernyshova.sonia@yandex.ru*
(Научный руководитель – Зеленева Юлия Витальевна, д.б.н., доцент, старший научный сотрудник Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений, zelenewa@mail.ru)

Аннотация: *Септориоз - заболевание пшеницы, возделываемой в России и Казахстане. Целью исследований - изучение выборки изолятов Z. tritici, полученных из Саратовской, Тамбовской и Алматинской областей по степени чувствительности к азоксистробину. Тесты позволили выявить несколько изолятов, устойчивых к азоксистробину. Метод ПЦР-ПДРФ выявил в части изолятов митохондриальные мутации G143A.*

Ключевые слова: молекулярно-генетический анализ; ПДРФ-анализ; ПЦР; пшеница; септориозы; стробилурины.

Septoria tritici blotch – опасная болезнь пшеницы микозной этиологии. Возбудители болезни наносят серьезный ущерб производству сельскохозяйственной продукции [4].

Для защиты посевов зерновых культур от болезней в России и в Казахстане широко применяется химический метод.

Стробилурины – обширный класс фунгицидов, эффективный на ранних этапах патологического процесса – в период прорастания спор, а также в самом начале проникновения инфекционных гиф в клетки растения-хозяина [3].

Цель работы – изучение выборки изолятов *Z. tritici*, полученных из Саратовской и Тамбовской (Российская Федерация) и Алматинской (Республика Казахстан) областей, по степени чувствительности к азоксистробину.

Материалы и методы

В 2022 и 2023 годах в России, в Тамбовской и Саратовской областях, а также в Алматинской области Казахстана были собраны пораженные растения пшеницы, вызванные грибом *Z. tritici*.

После сбора инфекционных образцов зерновых культур они подвергались дальнейшему исследованию в лаборатории. Моноконидиальные колонии *Z. tritici* были выделены в чистую культуру на картофельно-глюкозном агаре (КГА) [2].

В лабораторных условиях были проведены эксперименты по изучению токсичности азоксистробина по отношению к грибу *Z. tritici* из различных агроклиматических зон [5].

При выявлении колоний *Z. tritici* на питательной среде с концентрацией 100 мг/л азоксистробина, имеющих размер близкий к контролю, их исследовали на наличие мутации G143A, предопределяющей устойчивость к стробилуринам у изолятов, методом ПЦР-ПДРФ.

Получение двух фрагментов с молекулярными весами 442 и 210 п.н. после рестрикции амплифицированного фрагмента эндонуклеазой свидетельствует о чувствительности образцов к действию фунгицида. С другой стороны, наличие трех фрагментов с молекулярными весами 298, 210 и 144 п.н. подтверждает наличие мутации G143A в генотипе изолятов [1].

Результаты

В наших исследованиях мы изучили изоляты грибов, полученные с полей, где не проводилась обработка фунгицидами в течение нескольких лет. Результаты наших исследований подтвердили эффективность применения стробилуринов на полях трех различных областей. Мы провели сравнение чувствительности *Z. tritici* к фунгицидам по показателю EC_{50}. Значительное ингибирующее действие на рост штаммов гриба на КГА проявил азоксистробин на изолятах из Тамбовской области, с EC_{50} равным 1,72 мг/л. В общем, изоляты из Алматинской и Саратовской областей проявили чувствительность, средние значения EC_{50} составили 2,36 и 2,63 мг/л соответственно. Для предотвращения возникновения и распространения резистентности рекомендуется использовать современные смеси стробилуринов с другими классами фунгицидов.

Мы использовали t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для анализа влияния сорта-хозяина и географического происхождения изолятов *Z. tritici* на их чувствительность к азоксистробину. Результаты показали значимые различия между изолятами из Тамбовской области и штаммами грибов, полученных из растительного материала Саратовской и Алматинской областей.

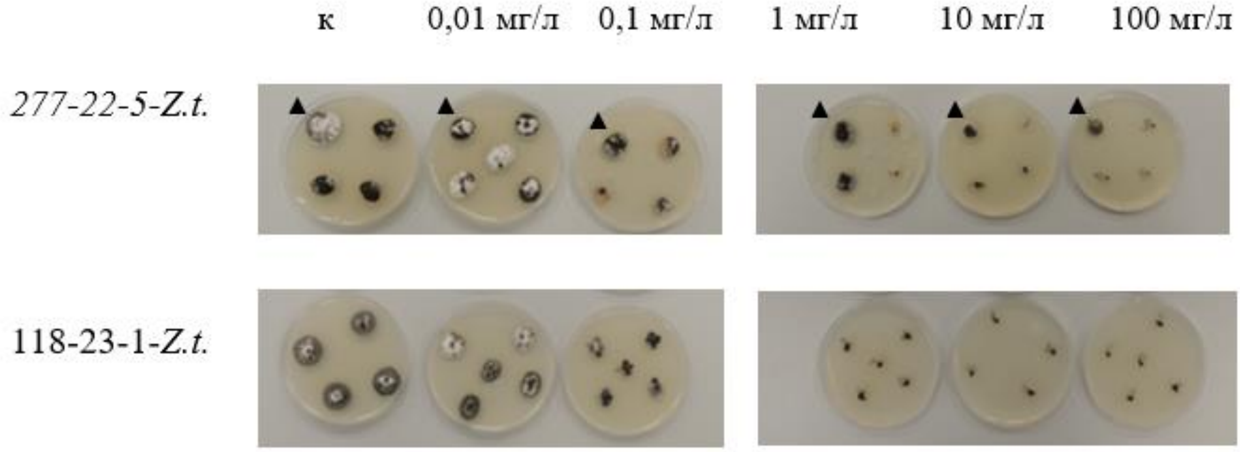


Рисунок. Чистая культура *Zymoseptoria tritici* на картофельно-глюкозном агаре с внесением азоксистробина разной концентрации (Изолят *277-22-5-Z.t.*, обладающий пониженной чувствительностью к азоксистробину. Изоляты 276 22-1-*Z.t.*, 118-23-1-*Z.t.*, проявившие чувствительность к фунгициду).

Основным механизмом развития устойчивости к фунгицидам класса стробилуринов является мутация G143A в гене cytb, которая быстро распространилась по всей Европе. В результате наших биотестов были выявлены устойчивые к азоксистробину изоляты *Z. tritici*: 277-22-5, 277-22-13 (из Казахстана); 104-23-9, 104-23-10 (из Саратовской области); 19-23-5, 19-23-8 (из Тамбовской области) (рисунок). Используя метод ПЦР-ПДРФ, мы подтвердили наличие у них мутации G143A в генотипе. Это указывает на присутствие мутантов в популяциях фитопатогенов, и необоснованное применение любого стробилурина может способствовать дальнейшему распространению штаммов *Z. tritici*, носителей G143A.

Проведенная работа является отправной точкой для более глубокого изучения чувствительности экономически значимого фитопатогена *Z. tritici* к фунгицидам.

Список литературы:

1. Воронкова Е.В., Лукша В.И., Гукасян О.Н., Жуковский А.Г., Буга С.Ф., Волуевич Е.А. Использование ПЦР-ПДРФ метода для диагностики мутации G143A устойчивости к стробилуринам в изолятах возбудителя септориоза листьев пшеницы. Молекулярная и прикладная генетика. 2014. Т. 17. С. 62-70.
2. Коломиец Т.М., Пахолкова Е.В., Дубовая Л.П. Подбор исходного материала для создания сортов пшеницы с длительной устойчивостью к септориозу // Печатный город: Москва, Россия, 2017. С. 56.
3. Balba H. Review of strobilurin fungicide chemicals. J Environ Sci Health, Part B. 2007. 42(4):441–451. https://doi. org/10.1080/03601230701316465
4. Kay W.T., Neill P.O’, Gurr S.J., Fones H.N. Long-term survival of asexual *Zymoseptoria tritici* spores in the environment. bioRxiv. 2024: 1-42. doi:10.1101/2024.02.29.582720
5. FRAC, 2006 https://www.frac.info/docs/default-source/monitoring-methods/approved-methods/septtr-monitoring-method-syngenta-2006-v1.pdf?sfvrsn=a899419a_4

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 19-76-30005.

УДК 631.363

ЭНДОФИТЫ ПОБЕГОВ ЯБЛОК: ИЗУЧЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Шукова Анастасия Сергеевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, shukvaa@gmail.com*
Дренова Наталия Васильевна, *старший научный сотрудник ФГБУ «Всероссийского центра карантина растений», drenova@mail.ru*
Ерёмина Ульяна Валентиновна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, veu-q@yandex.ru*

Агаркова Надежда Алексеевна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, agarkova.nadezhda2023@yandex.com*
Волобуева Ольга Гавриловна, *д.-с.-х.н., доцент, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ovolobueva@list.ru*

Аннотация: *в статье приведены результаты исследований эндофитной микробиоты побегов яблони. Изучен видовой состав. Выделены бактерии 10 родов. Проанализирован антагонистический потенциал против возбудителя бактериального ожога плодовых культур - Erwinia amylovora. Наиболее активными оказались бактерии рода Pantoea, Pseudomonas, а также Rhodococcus и Curtobacterium*

Ключевые слова: эндофиты, побеги яблони, антагонизм, изоляты, *Erwinia amylovora*

Введение

Erwinia amylovora (Burrill) Winslow et al. - карантинный объект, вызывающий ожог у растений семейства *Rosaceae*. Постоянно ведётся поиск штаммов для создания новых биопрепаратов. Было принято решение найти антагонистов на искусственно заражённых *E. amylovora* побегах яблони (*Malus Mill.*).

Наиболее часто встречающиеся бактерии-эндофиты яблони относятся к родам: *Acinetobacter, Bacillus, Pseudomonas, Pantoea* и *Enterobacter* [2-5].

Цель исследования: изучить разнообразие антагонистических эндофитных микроорганизмов, обитающих в побегах яблони, и оценить их потенциальные возможности в борьбе с *E. amylovora*.

Материалы и методы исследования

Для опыта использовали однолетние саженцы 37 сортов, привитые на подвое 54-118.

Побеги яблони длиной 10-20 см в стадии активного роста были заражены бактерией *E. amylovora*. Через месяц после заражения отбирали сборные образцы не заразившихся и частично заразившихся побегов для исследования. Отбор побегов проводили с помощью секатора, одновременно срезая листья.

Для того, чтобы исключить наличие эпифитной микробиоты, побеги тщательно промывали с детергентом под проточной водой. Обеззараживали 70 % спиртом, затем спирт смывали стерильной дистиллированной водой и обсушивали стерильной фильтровальной бумагой. В подготовленные стерильные одноразовые стаканы измельчали побеги, взвешивали массу и заливали стерильным буфером (PBS). Встряхивали на ротационном шейкере 1,5 часа при 200 об/мин.

Для микробиологических исследований полученный экстракт высевали поверхностно с использованием шпателя Дригальского в чашки Петри на левановую среду. Каждый образец высевали без разведения и с разведениями 10^{-1},10^{-2},10^{-3},10^{-4} в двукратной повторности (Рисунок). Чашки инкубировали при 25-27 °С в течение 10 суток.

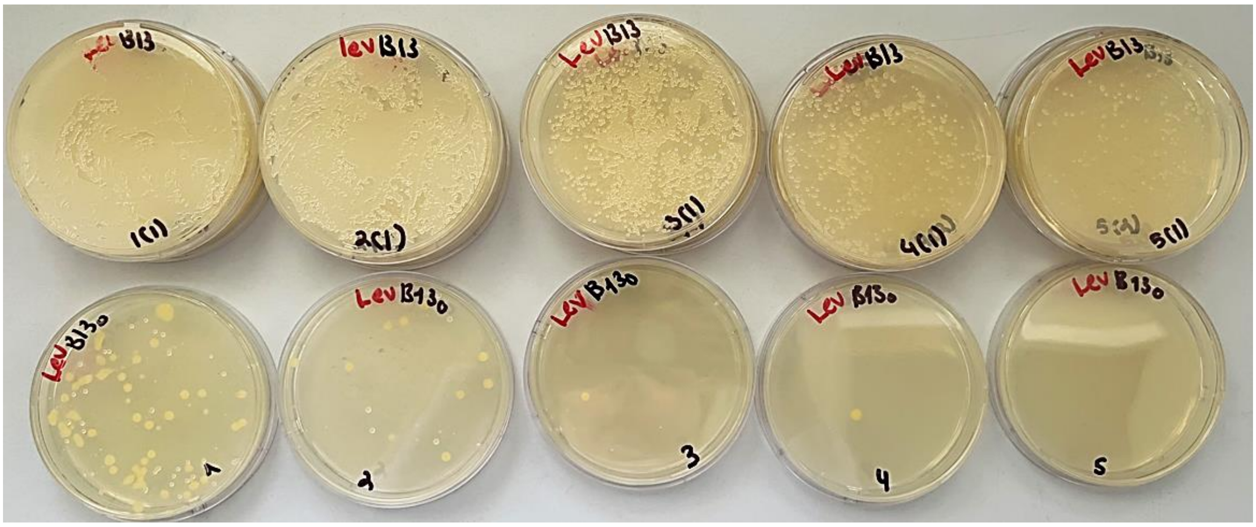


Рисунок – Посев эндофитной микробиоты образца с симптомами ожога (вверху) и без симптомов (внизу)

Анализ посева проводили на 3, 5 и 10 сутки. Учитывали количество колоний *E. amylovora* и различных морфотипов эндофитных микроорганизмов. Колонии эндофитов пересевали для выделения чистой культуры.

Антагонистическую активность эндофитов определяли методом совместного культивирования на средах R_2A и 925 [1].

Идентификацию бактерий проводили путем секвенирования участка гена 16S rDNA, амплифицируемого стандартными праймерами 27F/ 907R.

Амплификацию проводили с использование коммерческих наборов для амплификации в термоцикле C1000 Touch по следующей программе: 95 °C – 5 мин, 40 циклов: 95 °C – 30 сек, 63 °C – 30 сек, 72 °C – 1 мин, 72 °C – 10 мин. Разделение продуктов осуществляли в 1,5% агарозном геле. В качестве буферной системы использовался 1х TBE (трис-боратный буфер).

Результаты и обсуждение

В результате исследования было выделено 28 изолятов эндофитных бактерий из побегов 11 сортов: Антоновка Зуровка, Башкирский красавец, Кордоновка, Коричное белое, Антоновка Обыкновенная, Валюта, Гордеевское, Легенда, Марат Бусурин, Подарок Графскому, Сябрына.

По результатам секвенирования эндофитов, изоляты были отнесены к следующим родам: *Curtobacterium, Pantoea, Pseudomonas, Rhodococcus, Staphylococcus, Enterobacter, Leclercia, Micrococcus, Moraxella, Lelliottia*. Представители родов *Curtobacterium, Pantoea, Pseudomonas, Rhodococcus, Staphylococcus* подавляли рост *E. amylovora* на питательных средах.

В бессимптомных побегах сорта Антоновка Зуровка возбудитель отсутствовал, а концентрация антагонистических эндофитов составила $6*10^5$ КОЕ/г. В побегах с симптомами ожога сорта Гордеевское концентрация *E. amylovora* и эндофитов примерно одинаковая - $1*10^6$ и $4*10^6$ КОЕ/г соответственно. В побегах сорта Коричное белое концентрация эндофитной микробиоты значительно превышает концентрацию *E. amylovora* - $9*10^8$ и $7*10^4$ КОЕ/г соответственно (Таблица).

Таблица

Эндофиты – антагонисты *E.amylovora*

Образец	Название сорта	Предполагаемая бактерия	Процент идентификации	КОЕ/г	E.a., КОЕ/г
B2o1*	Антоновка Зуровка	*Curtobacterium aurantiacum*	99.64%	$8*10^4$	0
		Curtobacterium flaccumfaciens	99.64%		
B2o2-1*		*Rhodococcus cercidiphylli*	99.77%	$8*10^4$	0
		Staphylococcus hominis	99.65%		
B2o2-2*		*Pseudomonas kribbensis*	94.56%	$4*10^5$	0
		Pseudomonas fitomaticsae	94.56%		
B2o2-3*		*Pantoea agglomerans*	99.24%	$4*10^4$	0
		Pantoea pleuroti	99.24%		
B14	Коричное белое	*Pseudomonas petrae*	99.88%	$9*10^8$	$7*10^4$
		Pseudomonas graminis	99.88%		
C3	Гордеевское	*Pantoea pleuroti*	97.32%	$4*10^6$	$1*10^6$
		Pantoea agglomerans	97.32%		

* образцы B2o1 и B2o2 – один побег. B2o1 - верхняя часть (1 см), B2o2 - 10 см от верхней части (1 см)

Бактерии рода *Pseudomonas* встречаются в двух сортах: Коричное белое и Антоновка Зуровка. Бактерии рода *Pantoea* присутствуют в сортах Гордеевское и Антоновка Зуровка. Роды *Curtobacterium, Rhodococcus* и *Staphylococcus* определились только в сорте Антоновка Зуровка. Наибольшая концентрация эндофитной антагонистической микробиоты - в сорте Коричное белое – $9*10^8$ КОЕ/г. Таким образом изоляты, выделенные из сортов Коричное белое и Гордеевское, не подавляли развитие симптомов ожога на побегах.

В заразившихся побегах сорта Анатоновка Зуровка (данные не показаны) концентрация *E. amylovora* составила $2*10^8$ КОЕ/г, эндофитные изоляты относились к роду *Micrococcus.* Антагонистической активности на питательных средах не проявили.

Изолированные штаммы из не заразившихся побегов яблони сорта Антоновка Зуровка, перспективны для дальнейшего изучения и разработки биопрепаратов против бактериального ожога, т.к. отсутствие *E. amylovora* в побегах может быть обусловлено влиянием антагонистической микробиоты.

Некоторые виды, выделенные из побегов, являются патогенными организмами для человека и животных. К ним относятся: *Micrococcus yunnanensis/aloeverae, Staphylococcus warneri, Moraxella osloensis/tetraodonis, Leclercia adecarboxylata и Enterobacter sichuanensis.* Данные изоляты были выделены из побегов сортов - Башкирский красавец, Кордоновка, Антоновка Обыкновенная, Валюта, Легенда, Марат Бусурин, Подарок Графскому и Сябрына – в таблице не указываются.

Заключение

Результаты исследования показывали, что разнообразие эндофитов способно влиять на здоровье и продуктивность растений, что открывает новые перспективы для биологического контроля болезней и улучшения условий выращивания яблони. Дальнейшие исследования в этой области могут привести к разработке эффективных методов борьбы с болезнями и повышению урожайности плодовых культур.

Исследование проводится в рамках Государственного задания, рег. № НИОКТР 123042100020-5.

Список литературы:

1. Егоров Н.С. Микробы антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности / М.: Высшая школа, 1965. 212 с.
2. Vankova A.A., Drenova N.V., Sviridova L.A., Golovkin G.A. Endophytic microorganisms of apple fruit (*Malus domestica*) // BIO Web Conf., 39 (2021) 07004.
3. Ferreira A et al. (2018). Endophytic Bacteria Isolated from Apple Trees Exhibit Antifungal Activity. PLoS One. 13(11): e0203506.
4. Kumar A et al. (2014). Isolation and identification of endophytic bacteria from apple (*Malus domestica* Borkh.) and assessment of their ability to produce IAA. Brazilian Journal of Microbiology. 45(3): 915-22.
5. Liu H et al. (2012). Diversity and Antagonistic Potential of Endophytic Bacteria from Apple Trees against *Phytophthora mali*. Journal of Basic Microbiology. 52(3): 277-86.

Секция 4.
Микробиологические основы переработки продукции и отходов перерабатывающей промышленности АПК

УДК 636.09

РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭТИОЛОГИИ ИНФЕКЦИОННОГО ЦИСТИТА У КОШЕК

Галкина Эвелина Алексеевна, *студент 4 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева., evelina.galkina04@mail.ru*
Александрова Екатерина Александровна*, студент 4 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева., alex.kate107@mail.ru*
(Научный руководитель – Свистунов Дмитрий Валерьевич, ассистент кафедры ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. svist@rgau-msha.ru)

Аннотация*: В данной работе исследуются этиологические факторы инфекционного цистита у кошек. Бактерии группы кишечной палочки, стрептококки, стафилококки, энтерококки и цитробактер являются возбудителями инфекционного цистита у кошек. Результаты данного исследования могут быть использованы для дальнейших исследований по антибиотикотерапии инфекционного цистита у кошек, определению специфической чувствительности микрофлоры.*

Ключевые слова: цистит, кошки, инфекция, бактериологическая флора, нефропатия, ветеринарные клиники, терапия.

Материал и методы исследований

Целью данного исследования являлось ретроспективное изучение этиологических факторов инфекционного цистита у кошек, поступивших в ветеринарную клинику в период с 2017 по 2020 гг. В исследование были включены 385 кошек, продемонстрировавших клинические признаки дизурии. В анализ не включались животные, ранее получавшие терапию или хирургическое вмешательство по поводу затрудненного мочеиспускания в других ветеринарных учреждениях, а также кошки с сопутствующими заболеваниями, такими как нефропатия, сахарный диабет и гипертиреоз.

Для каждого пациента была собрана информация из медицинских карт и опросников владельцев, включающая: демографические данные (возраст, порода, пол, масса тела, рацион питания, доступ к воде), клинические симптомы такие как частота, продолжительность, устойчивость мочеиспускания, а также другие клинические проявления, связанные с мочевыводящей системой, историю болезни, репродуктивный статус, количество животных в семье, наличие стрессовых факторов.

Все кошки прошли детальное клиническое обследование с акцентом на мочеполовую и нервную систему. Проводилась пальпация мочевого пузыря до и после мочеиспускания, а также во время процесса мочеиспускания. Неврологическое обследование включало оценку анального рефлекса и рефлексов конечностей. Также проводился сбор мочи: она собиралась преимущественно (около 90%) путем цистоцентеза, в оставшихся случаях использовалась уретральная катетеризация. Физикохимический анализ включал в себя определение содержания глюкозы, билирубина, кетоновых тел, pH с использованием мочевого анализатора. Результаты физико-химического анализа (таблица 1) были следующими: среднее значение pH мочи равнялось 6,2, у пациентов с воспалением мочевого пузыря и камнями мочевыделительного тракта это значение достигало 6,9. Моча у пациентов с воспалением мочевого пузыря и пролиферативными изменениями характеризовалась более низким удельным весом. Эти образцы были собраны, в основном, у пожилых животных. Глюкозурия наблюдалась у 64% пациентов с обструкцией уретры. Уровень белка в моче был выше у пациентов с идиопатическим циститом по сравнению с остальными животными, возможно, из-за уротелиального повреждения и проникновения белков острой фазы в мочу. Образцы мочи центрифугировались на 1008 g, осадок исследовался с использованием микроскопа с в поле зрения под большим увеличением с коэффициентом 400, рассматриваемые образцы подвергались цитологическому анализу и бактериологическому исследованию с выведением антибиотикограммы. Благодаря данным манипуляциям удалось подготовить материл для дальнейших микробиологических исследований и диагностики.

Для идентификации бактерий, вызывающих инфекцию мочевыводящих путей, проводилось культивирование на следующих питательных средах:

- Агар с 5% кровью овец**:** обогащенная среда, подходящая для роста широкого спектра бактерий.
- Агар МакКонки**:** селективная среда, предназначенная для культивирования грам-отрицательных бактерий, включая *Escherichia coli*.
- Маннит-солевой агар**:** используется для выявления *Staphylococcus aureus*.
- Посевные чашки инкубировались при температуре 37°C в аэробных условиях в течение 24 часов.

Таблица 1

анализ осадка мочи

№ п/п	Показатели	Результаты
1.	Прозрачность	Мутная
2.	Запах	Неприятный
Вид осадка (в одном поле зрения микроскопа):		
3.	Лейкоциты	7
4.	Мочевые цилиндры	Единичные (гиалиновые)
5.	Эпителий	5 (переходный)
6.	Эритроциты	0-5
7.	бактерии	В большом количестве

Положительный результат бактериологического посева являлся основанием для постановки диагноза "бактериальная инфекция". Диагноз "уролитиаз" устанавливался на основании данных ультразвукового и/или рентгенологического исследования. У некоторых пациентов уролитиаз сопровождался инфекцией мочевыводящих путей.

Результаты микробиологического исследования и выводы.

Данные по составу микрофлоры в образцах мочи при бактериальном цистите представлены в таблице 2. Из 30 кошек с положительным результатом бактериологического посева, были выделены следующие микроорганизмы:

- *Escherichia coli* (16 кошек, 53,3%): наиболее частый возбудитель инфекции.
- *Staphylococcus spp.* (6 кошек, 20%): второй по распространенности возбудитель.
- *Streptococcus spp.* (5 кошек, 16,6%): третий по распространенности возбудитель.
- *Enterococcus spp.* (1 кошка, 3,3%): реже встречающийся возбудитель.
- *Citrobacter spp.* (1 кошка, 3,3%): реже встречающийся возбудитель.
- *Смешанная инфекция Streptococcus spp. и Staphylococcus spp.* (1 кошка, 3,4%): редкое явление.

У 19 кошек с уролитиазом была диагностирована бактериальная инфекция мочевыводящих путей. В этой группе *E. coli* была наиболее частым возбудителем (16 кошек, 84,2%).

На основании полученных данных можно сделать вывод, что этиологическими факторами инфекционного цистита у кошек являются бактерии группы кишечной палочки, стрептококки, стафилококки, энтерококки и цитробактер. Доминирующая микрофлора состоит из *Escherichia coli*, она является наиболее часто встречающимся возбудителем. Смешанная микрофлора встречается редко (3,4%), в большинстве случаев выделялась монокультура.

Анализ выделенной микрофлоры у кошек с циститом позволяет сделать вывод о том, что инфекцию чаще всего вызывают представители условно-патогенной микрофлоры. Эти микроорганизмы обычно обитают в организме животного и не приносят ему вреда. Однако под влиянием различных факторов их "взаимоотношения" с организмом могут измениться. Эти изменения могут быть вызваны как внешними факторами, например, стрессом, неправильным питанием, так и внутренними факторами, например, ослаблением иммунной системы.

В качестве примера можно рассмотреть *Citrobacter*, представителя семейства Enterobacteriaceae. *Citrobacter* является частью нормальной микрофлоры кишечника кошек и в нормальных условиях не приносит вреда. Однако под воздействием неблагоприятных факторов *Citrobacter*, как и другие условно-патогенные микроорганизмы, могут выйти за пределы кишечника и попасть в другие органы и системы, вызывая развитие различных заболеваний. Часто условно-патогенные микроорганизмы, попав в мочевыводящие пути, вызывают воспаление слизистой оболочки мочевого пузыря - инфекционный цистит.

Таблица 2 — состав микрофлоры мочи при бактериальном цистите

М/о	*Escherichia coli.*	*Staphylococcus spp.*	*Streptococcus spp.*	*Enterococcus spp.*	*Citrobacter spp.*	*Streptococcus spp., Streptococcus spp.*
Кошки, гол.	16	6	5	1	1	1

Заключение

Инфекционный цистит у кошек, вызванный условно-патогенной микрофлорой, является результатом нарушения естественного баланса в организме. Важно учитывать факторы, которые могут привести к изменению микрофлоры и развитию инфекционного цистита.

Список литературы:

1. Карамалак, А.И. Особенности этиологии, лечения и профилактики при мочекаменной болезни кошек: учебник/ А.И. Карамалак, А.Н. Козловский // Учен. зап. Витебск. ордена "Знак почета" гос. акад. ветеринар. медицины. - 2010. - Т. 46, Nº 1-1. - С. 218-220.
2. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. МУК 4.2.1890-04 - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. - 91 с.
3. Buffington, C.A. T. Idiopathic cystitis in domestic cats - beyond the lower urinary tract / C.A. T. Buffington // J Vet Intern Med. - 2011. - Vol. 25 (4). - P. 784-796.
4. Shvykina, A. V. Evaluation of SOME methods for the rehabilitation of dogs with intervertebral disc disease (IVDD) / A. V. Shvykina, D. V. Svistunov // 05–07 июня 2023 года, 2023.

УДК 579.64:574.4(470.62)

ОЦЕНКА МАЦЕРИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ УРБОСИСТЕМ Г. БАЛАКОВО (САРАТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Голубев Дмитрий Михайлович*, магистрант 1 курса кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, dimagolubev2018@yandex.ru*

Тарасюк Анна Константиновна*, магистрант 2 курса кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского нацио-*

нального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, kotannat@yandex.ru
Глинская Елена Владимировна*, к.б.н., доцент кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского,* elenavg-2007@yandex.ru

Аннотация: *Представлены результаты исследования мацерирующей активности углеводородокисляющих бактерий, выделенных из почв с разной степенью антропогенного влияния территории г. Балаково (Саратовская область): Acinetobacter lwoffii R44, Bacillus circulans E75, B. horikoshii P22, B. lentimorbius J64, B. pumilus S35, Mammaliicoccus lentus T18, Ochrobactrum gallinifaecis I59, Paeniglutamicibacter psychrophenolicus W48.*

Ключевые слова: углеводородное загрязнение, биоремедиация, урбосистемы, мацерация, углеводородокисляющие микроорганизмы

Контаминация почв углеводородами нефти представляет собой серьезную проблему, оказывая токсичное и канцерогенное воздействие на все живое. Одним из современных методов восстановления нарушенных территорий является ремедиация с использованием микроорганизмов [1]. Важным аспектом микробиологической рекультивации является применение эндемичных для обрабатываемой почвы бактерий, что гарантирует наиболее эффективную очистку, поскольку они функционируют в ней в оптимальных для себя условиях [2]. Для успешного проведения восстановительных мероприятий загрязненных углеводородами территорий необходим подбор штаммов микроорганизмов с определенными характеристиками, в частности, с наименьшим фитопатогенным потенциалом [3].

Целью исследования являлась оценка мацерирующей активности углеводородокисляющих бактерий урбоценозов г. Балаково
(Саратовская область).

Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского.

В исследовании использовали штаммы углеводородокисляющих бактерий, выделенные из 34 почвенных проб урбанозёмов, индустриозёмов, культурозёмов и природных почв г. Балаково в летний период 2023 г.: *Acinetobacter lwoffii* R44, *Bacillus circulans* E75, *B. horikoshii* P22, *B. lentimorbius* J64, *B. pumilus* S35, *Mammaliicoccus lentus* T18, *Ochrobactrum gallinifaecis* I59, *Paeniglutamicibacter psychrophenolicus* W48.

Балаково – крупный промышленный центр Саратовской области с населением около 182 тысяч человек (2022 г.). В городе и его пригородах расположены крупные предприятия энергетической, химической, металлургической отрасли, а также других профилей (транспортной, строительной, пищевой, легкой и пр.) [4].

Выявление фитопатогенных свойств проводили с помощью определения мацерирующей активности. Мацерация представляет собой процесс растворения межклеточного вещества растительных клеток с последующим их разъединением.

Способность к мацерации проверяли по стандартной методике. Тест-объекты (корнеплод моркови, корнеплод свёклы, клубень картофеля, листья капусты, плод перца) промывали, высушивали. Затем стерилизовали поверхность 96 % этанолом и нарезали диски растительных тканей тест-объектов. Диски тест-объектов диаметром 1 см и толщиной 0,5 см помещали в чашки Петри на фильтры, смоченные физиологическим раствором. На каждый диск наносили суточные культуры исследуемых штаммов бактерий. Чашки помещали в термостат для культивирования в течение 1-3 суток при температуре 28° С. Наличие или отсутствие мацерации определяли визуально при прикосновении к дискам бактериологической петлей [5].

Результаты экспериментов по изучению мацерирующей активности показали, что ткани корнеплода свёклы подвергали мацерации 87,5 % штаммов, а именно, все культуры микроорганизмов за исключением *O. gallinifaecis* I59. Поражения тканей корнеплода моркови были отмечены только для штамма *B. lentimorbius* J64. На остальных тест-объектах мацерация не была выявлена (рисунок).

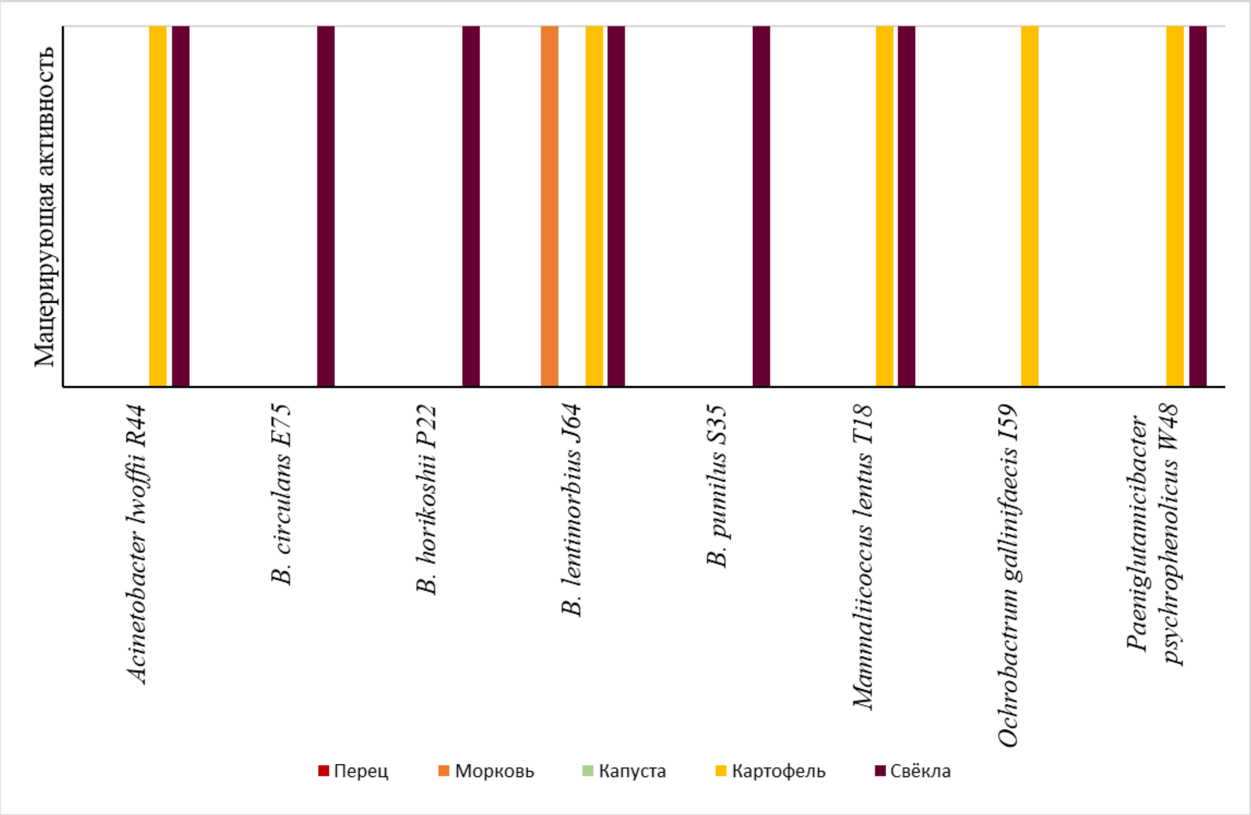


Рисунок – Мацерирующая активность выделенных штаммов углеводородокисляющих бактерий

Штамм *B. lentimorbius* J64 мацерировал 60 % исследуемых тест-культур, *A. lwoffii* R44, *M. lentus* T18 и *P. psychrophenolicus* W48 – 40 % растительных объектов.

Анализ полученных результатов показал, что 50 % исследуемых штаммов углеводородокисляющих бактерий были способны к мацерации тканей лишь одного растительного тест-объекта (корнеплод свёклы или клубень картофеля). Минимальную мацерирующую активность (25 % тест-объектов) проявили штаммы *B. circulans* E75, *B. horikoshii* P22, *B. pumilus* S35 и *O. gallinifaecis* I59 – они являются наиболее перспективными агентами для восстановления контаминированных почв. Полученные данные можно использовать для биоремедиационных мероприятий урбосистем, в частности, для создания биопрепарата, направленного на очистку территорий от углеводородного загрязнения.

Список литературы:

1 Мақсұт Д. М., Биджиева С. Х., Бисенова М. А., Аяпбергенов Е. О., Сабалдаш В. В. Исследование биотехнологического потенциала углеводородокисляющих бактерий из нефтезагрязнённых грунтов месторождения Узень // Вестник нефтегазовой отрасли Казахстана. - 2024. - Т. 6. - №3. - С. 112-123.

2 Brzeszcz J., Steliga T., Ryszka P., Kaszycki P., Kapusta P. Bacteria degrading both n-alkanes and aromatic hydrocarbons are prevalent in soils //Environmental Science and Pollution Research. – 2024. – Vol. 31. – N. 4. – P. 5668-5683.

3 Гальперина, А. Р. Выделение эпифитных микроорганизмов и оценка их фитопатогенных свойств / А. Р. Гальперина, А. Н. Пархоменко // Биологическое разнообразие: изучение, сохранение, восстановление, рациональное использование : Материалы III Международной научно-практической конференции , Керчь, 13–18 сентября 2022 года. – Симферополь: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал», 2022. – С. 26-30.

4 Обзор состояния и загрязнения окружающей среды на территории деятельности Саратовского ЦГМС – филиала ФГБУ «Приволжское УГМС» за 2022 г. Саратов: Саратовский ЦГМС, 2023. 80 с.

5 Оценка ферментативной активности и способности к мацерации бактерий *Bacillus velezensis* / Д. Л. Басалаева [и др.] // Экобиотех 2021: сборник научных трудов. – Уфа, 2021. – С. 8 – 11.

УДК 631.4

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АНТАРКТИЧЕСКОГО ОЗЕРА УНТЕРЗЕЕ

Козлов Андрей Владимирович, *д.б.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО ГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева a.kozlov@rgau-msha.ru*

Дятлов Илья Сергеевич, *аспирант 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, ylia-d@yandex.ru*

Селицкая Ольга Валентиновна, *к.б.н., доцент, кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru*
Васильева Лина Васильевна, *д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории реликтовых микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, lvasilyeva@mail.ru*
Левочкина Полина Андреевна, *студент 1 курса Института садоводства и ландшафтной архитектуры ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, apolinarialev@gmail.com*

Аннотация: *В данной работе представленные данные о физиологических особенностях четырёх штаммов, ранее выделенных из антарктического озера Унтерзее. Были описаны такие показатели как температура роста, отношение к кислотности, солёности, описаны источники ассимиляции углерода, азота и другие показатели.*

Ключевые слова: озеро Унтерзее, Антарктида, психрофильные дрожжи, физиологические особенности

Введение

Антарктида является экстремальной средой обитания для микроорганизмов, что обуславливает большой интерес к их изучению на предмет физиологических особенностей и механизмов адаптаций к условиям среды обитания. Среднегодовая температура на материке ниже 0°, высокий уровень солнечной радиации, низкая доступность питательных веществ делает среду весьма суровой для жизни и существования. Наработка и получение объёма данных о физиологических особенностях, морфологии, биохимических особенностях позволить в будущем определить грамотную систематику арктических микроорганизмов. Данная работа направлена на определение основных физиологических показателей, выделенных сотрудниками лаборатории реликтовых микробных сообществ института микробиологии РАН [Власова, 2020; Дятлов, 2022], штаммов дрожжей.

Объекты и методы

Объектами исследования в проводимой работе были пробы воды отобранные из различных слоёв озера Унтерзее в Антарктиде которые были предоставлены для исследования сотрудником коллекции культур института Биохимии и физиологии микроорганизмов РАН Акимовым В.Н. В 2011 году пробы воды были отобраны и привезены в Москву совместной Российско-Американской экспедицией [Власова, 2020; Дятлов, 2022]. Выделение культур микроорганизмов началось в том-же году сотрудниками института микробиологии РАН. Чистые культуры были выделены только к 2017-18 годам [Власова, 2020; Дятлов, 2022] из-за сложности и длительности процессов выделения.

В работе определялись такие физиологические показатели как температурные границы роста, источники ассимиляции углерода, источники ассимиляции азота, отношение к кислотности, солёности среды, влияние на рост витаминов и дрожжевого экстракта, концентрации источника углерода.

Определение температурных границ роста

В опыте использовалась среда 1974 АТСС с содержанием солей Хантера. В качестве источника углерода использовалась сахароза с содержанием 0,3% (режим стерилизации среды 1 атм. 121°С 20 мин.). После стерилизации среды засевали исследуемыми штаммами и культивировали при температурах в 4°С; 10°С; 15°С; 20°С, 25°С и 30°С в течении 7-ми суток.

Определение источников ассимиляции углерода

Суть метода заключается в качественном определении источника углерода, необходимо для благоприятного роста исследуемых в ходе работы культур. Для проведения опыта использовалась среда 1974 АТСС, содержащую в себе соли Хантера [R.M. Atlas, 2010].

В качестве моно- и дисахаридов использовались: глюкоза, сахароза, ксилоза, фруктоза, манноза, лактоза, мальтоза, галактоза, крахмал, целлобиоза, инулин. Для определения способности культуры расти на средах с кислотами, использовали следующие натриевые и кальциевые соли органических кислот: ацетат натрия, лактат кальция, цитрат натрия, пропионат натрия, фумарат натрия, щавелевокислый натрий, D-глюкуронат кальция. Из спиртов, в качестве источника углерода, использовались метанол и инозитол. Также в качестве источника углерода использовали монометиламин. В качестве контроля использовалась среда без добавления источника углерода, т.е. минеральный фон. Готовые среды автоклавируют при режиме: 1 атм. 121°С в течении 20 минут.

Культивирование проводилось в 3-х повторностях в течении 7 суток при температуре в 15°С.

Определение источников ассимиляции азота

Определение источников ассимиляции азота производилось на среде 603 АТСС, в составе которой в качестве фона, содержащего азот, присутствовал дрожжевой экстракт как стимулятор роста вместо привычного для этой среды $(NH_4)_2SO_4$ [R.M. Atlas, 2010].

Для опыта была приготовлена среда следующего состава (г/л): сахароза – 2; дрожжевой экстракт 0,05; NaH_2PO_4 – 0,07; $MgCl_2*6\ H_2O$ – 0,04. В качестве источников азота использовались следующие соли с навесками (г/л): $(NH_4)_2SO_4$ – 0,250; NH_4Cl – 0,203; NH_4NO_3 – 0,152; $NaNO_3$ – 0,323.

Определение навесок солей производился из расчета 0,0532 г азота на литр среды. Стерилизация сред при 0,5 АТМ и 111°С в течении 20 мин.

Особенность опыта заключается в том, что снятие результатов проводилось после 2-го пересева на вариант с источником ассимиляции азота. Это необходимо для исключения использования азота из исходной среды.

Определение отношения к кислотности среды

Суть метода заключается в качественном определении границ зон угнетения и зоны оптимума для всех штаммов при их оптимальной температуре роста.

В качестве основы использовалась среда 603 АТСС. Для подкисления среды использовалась HCL, а для подщелачивания NaOH. Контроль кислотности среды производился с помощью pH метра ЭКСПЕРТ-001 до и после стерилизации по контрольной пробирке. Стерилизация проводилась при 0,5 атм. 111°С 20 мин.

В опыте использовались варианты среды в трёх повторностях с pH: 3; 4; 5; 6; 7; 7,5; 8; 9; 10; 11. Каждый вариант был в 3-х повторностях. Культивирование проводилось при температуре +15 градусов в течении 12 суток.

Определения отношения к солёности среды

В качестве основы использовалась та же среда что и в прошлых опытах – 603 АТСС. Как фактор солёности в данном опыте использовался хлорид натрия – NaCl (ХЧ). Готовились варианты в трёх повторностях с следующим содержанием NaCl: 0,5%; 1%; 2%; 3%; 4%; 5%; 6%; 7%; 8%; 9%. Стерилизация при тех же условиях. В качестве контроля выступала среда 603 АТСС без добавления в неё хлорида натрия.

Определение проводилось на двух штаммах – 131 и 111 так как 131-й штамм физиологически схож с штаммов 72, а штамм 111 схож с штаммов 1638.

Культивирование производилась в термостате при температуре +15°С 12 суток.

Определение влияния на рост концентрации источника углерода

Для установления оптимальных концентраций источника ассимиляции углерода исследуемыми штаммами готовилась среда 603 АТСС с следующими концентрациями сахарозы: 0,25%; 0,5%; 1%; 1,5%; 2%. Стерилизация проводилась при 0,5 атм. 111°С 20 мин. Определение проводилось также на примере штаммов 111 и 131.

Культивация производится в термостате при температуре +15°С в течении 17 суток.

Определения влияния на рост дрожжевого экстракта и витаминов

Для установления влияния содержания витаминов в среде на рост и развитие микроорганизмов. Для этого приняли 3 варианта: без дрожжевого экстракта и витаминов; с добавлением дрожжевого экстракта (0,05 г/л), без витаминов; без дрожжевого экстракта при наличии блока витаминов (Биотин; Тиамин; Фолиевая к-та; Б-12; Рибофлавин; Пантетон; Никотинамид-динуклеотид; Бензойная к-та). В качестве основы готовилась и использовалась среда 603 АТСС с содержанием сахарозы 0,25%. Стерилизация производится при температуре 111°С и 0,5 АТМ.

Определение производилось для всех 4-х штаммов при температуре инкубации +15°С в течении 10 суток в 3-х повторностях для каждого варианта.

Учёт микроорганизмов

Поскольку исследуемые микроорганизмы образуют помутнение жидкой питательной среды в нашей работе используется нефелометрический метод учёта микроорганизмов. Количество клеток в суспензии определяли с помощью фотоэлектроколориметра (ФЭКа) при длине волны в 600 нм. Полученные значения выражали в показателях нефелометра [Нетрусов, 2005].

Результаты

Оптимум температур

Исходя из полученных данных в ходе исследования можно сделать вывод, что оптимальной температурой роста для 4 штаммов дрожжей является +15°С. Верхний температурный предел роста для всех 4-х штаммов является температура в +20°С. В зоне +25°С наблюдается заметное подавление развития всех 4-х исследуемых штаммов. При температуре в +4°С рост дрожжей проявляется заметно лучше, чем в зоне +25°С что подтверждает возможность жизни при экстремально низких температурах.

Источники ассимиляции углерода

В ходе работы были установлены источники ассимиляции углерода для всех 4 исследуемых штаммов дрожжей. Исходя из средних значений, приведённых в таблице №1, можно сделать вывод что для всех 4-х исследуемых штаммов одним из наилучших источников углерода является Сахароза.

Для штамма 131 наилучший источник – сахароза, также данный штамм достаточно хорошо ассимилирует углерод из глюкозы и ацетата натрия, но при этом почти не использует углерод из пропионата натрия.

Для штамма 72 наилучший источник – глюкоза, также данный штамм достаточно хорошо ассимилирует углерод из ксилозы, сахарозы, глюконата кальция и метанола, но при этом почти не использует углерод из пропионата натрия.

Для штамма 111 наилучший источник – сахароза, также данный штамм достаточно хорошо ассимилирует углерод из фруктозы и глюкозы, но при этом почти не использует углерод из цитрата натрия.

Для штамма 1638 наилучший источник – Ацетат натрия, также данный штамм достаточно хорошо ассимилирует углерод из сахарозы, но при этом почти не использует углерод из цитрата натрия.

Таблица 1

Источники ассимиляции углерода исследуемых штаммов

Субстрат	Оптическая плотность отн. ед.			
	Культура 131	Культура 72	Культура 111	Культура 1638
Контроль	0,060	0,055	0,065	0,090
Глюкоза	0,310	0,320	0,450	0,355
Инозитол	0,205	0,230	0,100	0,105
Мальтоза	0,215	0,225	0,360	0,375
Галактоза	0,125	0,120	0,135	0,145
Ксилоза	0,265	0,310	0,205	0,130
Фруктоза	0,280	0,265	0,490	0,345
Манноза	0,110	0,150	0,120	0,115
Целлобиоза	0,240	0,200	0,120	0,130
Инулин	0,115	0,100	0,110	0,130
Крахмал	0,160	0,145	0,100	0,105
Лактоза	0,125	0,120	0,100	0,135

Продолжене таблицы №1

Сахароза	0,330	0,280	0,510	0,500
Оксалат натрия	0,215	0,255	0,200	0,270
Цитрат натрия	0,120	0,120	0,055	0,075
Лактат кальция	0,150	0,160	0,145	0,155
Фумарат натрия	0,110	0,125	0,115	0,120
Пропионат натрия	0,025	0,025	0,135	0,175
Ацетат натрия	0,295	0,200	0,400	0,530
Глюкуронат кальция	0,227	0,300	0,105	0,205
Метанол	0,190	0,300	0,390	0,320
Монометиламин	0,120	0,260	0,360	0,310

Источники ассимиляции азота

Исходя из данных эксперимента можно сделать вывод, что штаммы, синтезирующие в своём жизненном цикле каротиноиды, ведут себя активнее чем каротиноидные штаммы.

Для штамма 72 наилучшим источником является нитрат аммония.

Штамм 131 использует в качестве источника ассимиляции азота хлорид и нитрат аммония.

Для штаммов 111 и 1638 наилучшим источником ассимиляции азота является сульфат аммония, вторым по значимости источником – хлорид аммония.

Отношение к кислотности среды

Все исследуемые штаммы дрожжей предпочитают рост в среде с нейтральной реакцией (диапазон pH 7-7,5). Штаммы микроорганизмов лучше воспринимают кислую среду обитания в отличии от щелочной среды.

Отношение к солёности среды

Исходя из данных опыта даже при минимальной концентрации соли в 0,5% идёт значительное подавление роста исследуемых дрожжей. Штамм 111 ведёт себя более активнее в среде с содержанием солей чем 131 штамм.

Влияния на рост концентрации источника углерода

Для штаммов 111 и 131 оптимум концентрации источника ассимиляции углерода находится в диапазоне 0,5-1,5%. При этом пик для штамма 111 составляет в 0,5%, а для штамма 131 в 1,5%.

Влияния на рост дрожжевого экстракта и витаминов

Витамины незначительно подавляют рост микроорганизмов, а дрожжевой экстракт, наоборот, улучшает рост микроорганизмов.

Список литературы:

1. Власова А.В. Дрожжи озера Унтерзее (Антарктида) // Выпускная квалификационная работа (ВКР) РГАУ-МСХА М.: 2020 49с.
2. Дятлов И.С. Изучение психрофильных дрожжей оз. Унтерзее // Выпускная квалификационная работа (ВКР) РГАУ-МСХА М.: 2022 52с
3. Чернов И.Ю. Дрожжи в природе. / Чернов И.Ю. – Товарищество научных изданий КМК, Москва – 2013 – С.336

4. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии: Учеб. Пособие для студентов высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др.; под ред. А.И. Нетрусова.; Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
5. Atlas R.M. Handbook of microbiological media. 4th ed. Taylor and Francis Group, LLC. 2010. 2043 p.

УДК 631.4

МОРФОЛОГИЯ ПСИХРОФИЛЬНЫХ ДРОЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОЗ. УТНЕРЗЕЕ

Козлов Андрей Владимирович, *д.б.н., профессор, заведующий кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО ГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева a.kozlov@rgau-msha.ru*
Дятлов Илья Сергеевич, *аспирант 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, ylia-d@yandex.ru*
Селицкая Ольга Валентиновна, *к.б.н., доцент, кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru*
Васильева Лина Васильевна, *д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории реликтовых микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, lvasilyeva@mail.ru*
Таирова Софья Романовна, *студент 1 курса Института садоводства и ландшафтной архитектуры ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, tairovasof@gmail.ru*

Аннотация: *В работе представлены данные морфологического описания штаммов, выделенного из антарктического озера Унтерзее. Установлено систематическую принадлежность исследуемых штаммов до семейства.*

Ключевые слова: озеро Унтерзее, Антарктида, психрофильные дрожжи, дрожжи, морфология

Введение

Антарктида является очень интересным и уникальным объектом исследований. Её уникальность заключается в первую очередь в том, что на материк не оказывалось антропогенное воздействие человека до появления первых экспедиции в 1901 году. Антарктида имеет особый статус – на территории континента и шельфов запрещена добыча рудных и не рудных полезных ископаемых, запрещены ядерные испытания и хранение ядерных отходов и пр. На территории Антарктиды разрешены научные исследования, направленные на её всестороннее изучение. Исходя из исторических сведений и договоре об Антарктиде от 1.12.1959 с момента её открытия и по сей день на материке проводились различные исследования, направленные на его изучение, тем самым оказывая минимальное техногенное воздействие на среду.

Изучение микроорганизмов и иных обитателей Антарктиды идёт и по сей день. В силу различных неблагоприятных факторов среды обитания, микроорганизмы приобрели механизмы адаптации, которые позволяют им выживать в столь экстремальных условиях среды к тому же полученные механизмы обуславливают биотехнологическую ценность микроорганизмов. Среди таких адаптаций, ценных для биотехнологии, можно выделить: устойчивость к низким температурам самих микроорганизмов так и их ферментов.

Район исследования

Район проведения исследования был расположен в 90 км южнее станции Новолазаревская в горах Грубера. Само озеро Унтерзее располагается по координатам 71°20′ ю.ш. 13°45′ в.д. и представляет собой экстремально олиготрофное озеро. Средняя глубина озера составляет примерно 130 метров [Wand et al., 2006]. Озеро имеет две части различные по глубине и разделённые перегородкой [Wand et al., 2006].

Вода в глубоководной части имеет температуру стабильно в диапазоне от 0 до 5 градусов Цельсия. Толща воды в озере разделена на 3 части – аэробную часть с содержанием кислорода до 200%; переходную часть с концентрацией кислорода 160-0% и анаэробную часть с глубинами 0-63 м; 64-79 м и 80-130 м соответственно.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования в данной работе были пробы воды, отобранные с различных глубин оз. Унтерзее. толщи воды в диапазоне 15-80 м. Температура воды в местах отбора проб составляла 5°C, а её кислотность (pH) составляла 7,5.

Пробы воды были предоставлены в ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН сотрудником коллекции культур института Биохимии и физиологии микроорганизмов РАН Акимовым В.Н. Образцы были отобраны и привезены в 2011 году из совместной Российско-Американской экспедиции, которая исследовала физико-химический состав озера Унтерзее. Работа по исследованию проб озера Унтерзее, выделению чистых культур началась сотрудниками лаборатории реликтовых микробных сообществ института микробиологии им. Виноградского (входит в состав ФИЦ) в том же году. Вследствие длительности процесса получения накопительных и чистых культур, сами чистые культуры дрожжей были получены сотрудниками лаборатории реликтовых микробных сообществ института микробиологии РАН, к 2017-2018 г [Власова, 2020; Дятлов, 2022].

Пробы воды отбирались из толщи воды в диапазоне 15-80 м. Температура воды в местах отбора проб составляла 5°C, а её кислотность (pH) составляла 7,5. Образцы воды транспортировали в термоизоляционных контейнерах с использованием системы 55-PLUS^{TM} MONUTOR (Millipore, Billreica, MA, USA) с целлюлозным фильтром для дрожжей, как указано производителем. До проведения экспериментов пробы хранили при температуре в 5°C [Власова, 2020; Дятлов, 2022].

В нашей работе использовалось 4 штамма дрожжей, выделенных из разных слоев озера Унтерзее расположенного в Антарктиде на Земле Королевы Мод: слой № 7 – глубина отбора 46 м: выделен штамм № 72; слой № 11 – глубина отбора 63 м: выделен штамм № 111; слой № 13 – глубина отбора 68 м: выделен штамм № 131; слой № 16 – глубина отбора 76 м: выделен штамм № 1638.

Для культивирования исследуемых микроорганизмов использовали жидкую и плотную агаризованную среду АТСС 603, содержащую соли Хатнера [R.M. Atlas, 2010].

Морфологическое описание ранее выделенных дрожжей проводилось в соответствии с последними стандартами их описания, изложенным в монографии «Дрожжи в природе» профессором Черновым И.Ю. вышедшей в 2013 году. Описание морфологии включает себя описание:

Макроморфологические (культуральные) признаки. При описании макроморфологических признаков описывается характер роста на плотных и жидких питательных средах. В описании роста на жидкой питательной среде необходимо отразить способность к образованию плёнки, мути, осадка и т.п., а также цвету образований(я). В описании роста культуры на плотной питательной среде приводится характеристика штриха, характеристики колоний, способность к образованию плодовых тел. Приведённые признаки определяются визуально или с помощью ФЭК (в случае определения мути) на 30-е сутки культивирования.

Микроморфологические признаки. Характеризуют особенности клеточного строения культуры – размеры и формы клеток, а также тип конидиогенеза, формирование бесполых спор и имеющиеся способы половой репродукции. Описание данных признаков проводится с помощью методов микроскопии на 3-е; 30-е сутки культивирования.

Результаты исследования

Макроморфология

При культивировании на жидкой питательной среде исследуемые штаммы образуют обильный осадок и помутнение среды, при этом не образуют плёнок, что указывает на отсутствие способности ими образовывать мицелий.

На плотной питательной среде исследуемые штаммы образуют колонии слизистой консистенции, что указывает на их возможное отношение к базидиомицетовым дрожжам родов *Cryptococcus, Rhodotorula, Sporobolomyces*, выделяющих в течении жизни большое количество внеклеточных полисахаридов.

Штаммы №72 и №131 на плотной питательной среде образуют колонии белого цвета, которые с течением времени темнеют, приобретая более серые оттенки (рис. 1), в то время как штаммы №1638 и №111 формируют колонии розовых оттенков (рис. 2) из-за того, что они синтезируют каротиноиды. Наличие каротиноидных пигментов у данных штаммов, характерно для родов *Rhodotorula* и *Sporobolomyces* базидиомицетовых дрожжей.

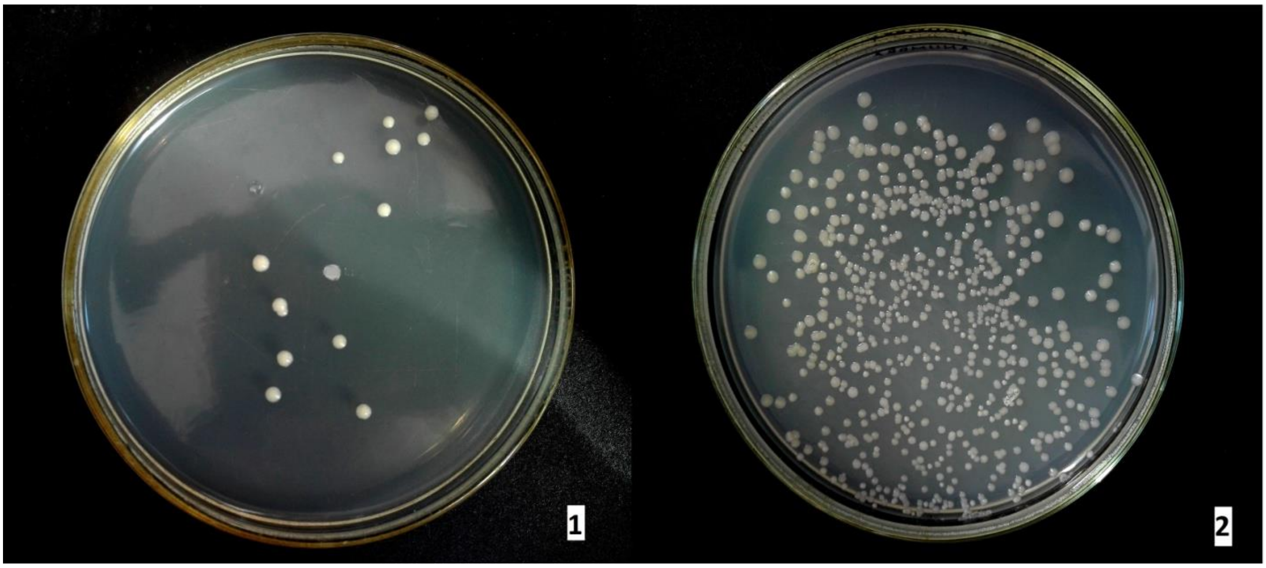


Рисунок 1. Рост на плотной питательной среде: 1 – штамм № 131;
2 – штамм № 72.

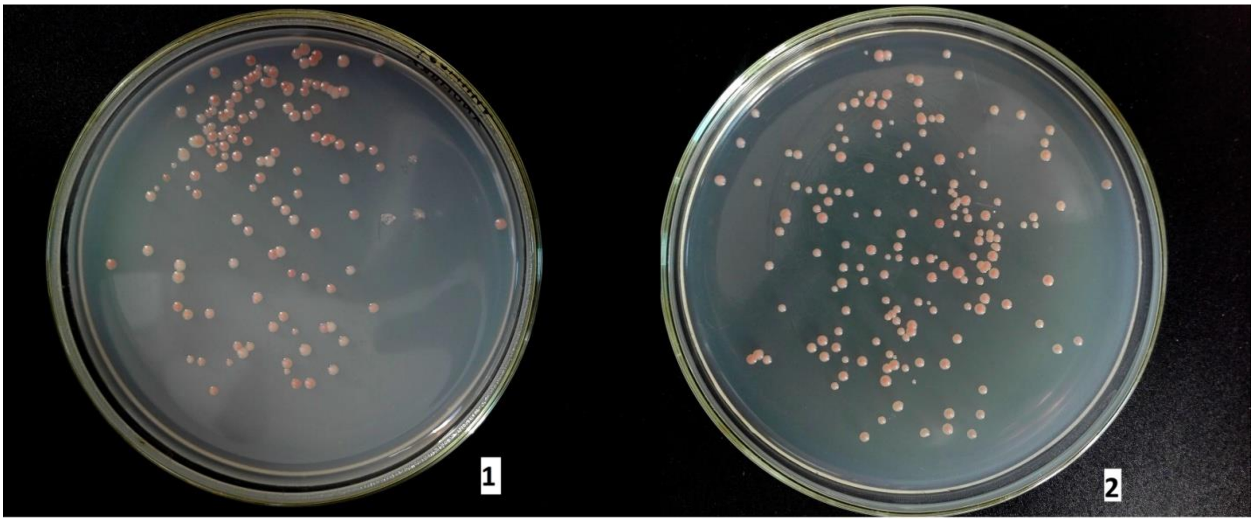


Рисунок 2. Рост на плотной питательной среде: 1 – штамм № 111,
2 – штамм № 1638.

Микроморфология

Все исследуемые в данной работе штаммы дрожжей размножаются по энтеробластическому типу вегетативного размножения.

При проведении исследований были установлены размеры всех исследуемых штаммов: штамм №72 – (4-6)×(4,2-7) мкм; штамм №131 – (3,5-6)×(4-6) мкм; штамм №111 – (2,5-5)×(3-8) мкм; штамм №1639 – (2,5-6)×(3-8) мкм.

Клетки штаммов №72 и №131 внешне очень схожи и представляют собой клетки шаровидной формы с полярным и симподиальным почкованием – когда почки у дрожжей вырастают из одного локуса одновременно или последовательно (рис. 3). Клетки вышеуказанных штаммов могут располагаться одиночно попарно или в виде «клеверного» листа из-за симподиального почкования (рис. 4).

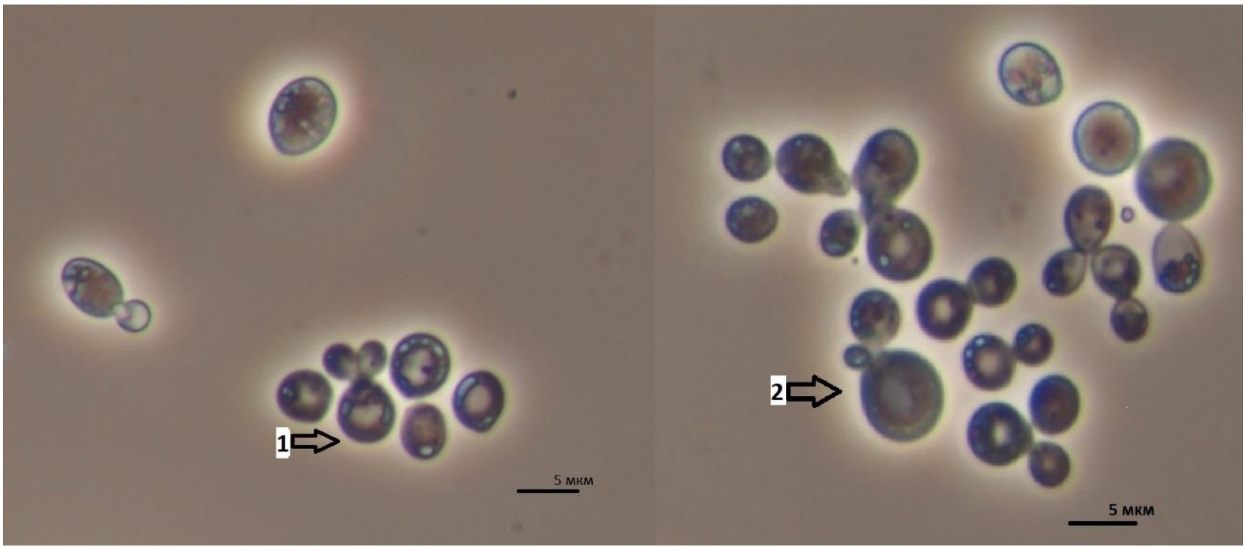


Рисунок 3. Симподиальное почкование штамма №72:
1 – одновременное вырастание двух почек из одного локуса;
2 – последовательное вырастание почек из локуса

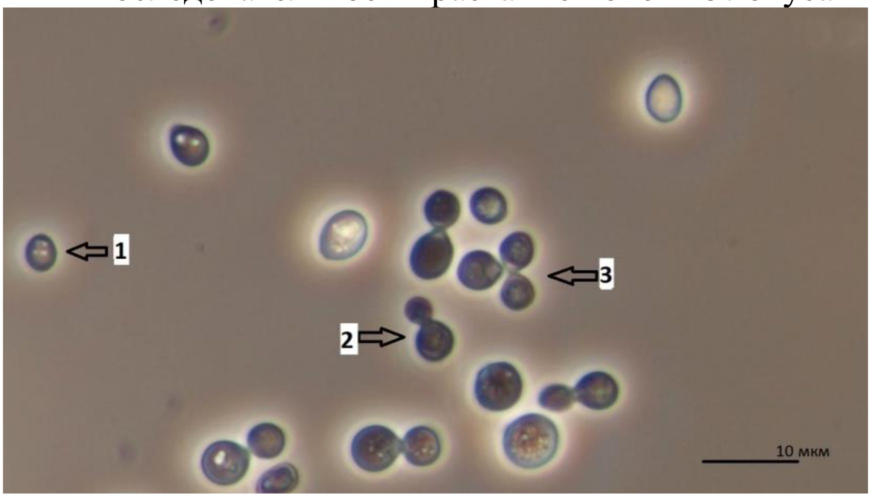


Рисунок 4. Расположение клеток дрожжей штамма № 131: 1 – одиночное, 2 – попарное, 3 – в виде клеверного листа

Клетки штамма №111 имеют яйцевидную форму. Размножение проходит полярным почкованием, реже многополярным (рис. 5). Клетки располагаются по одиночке или в парах.

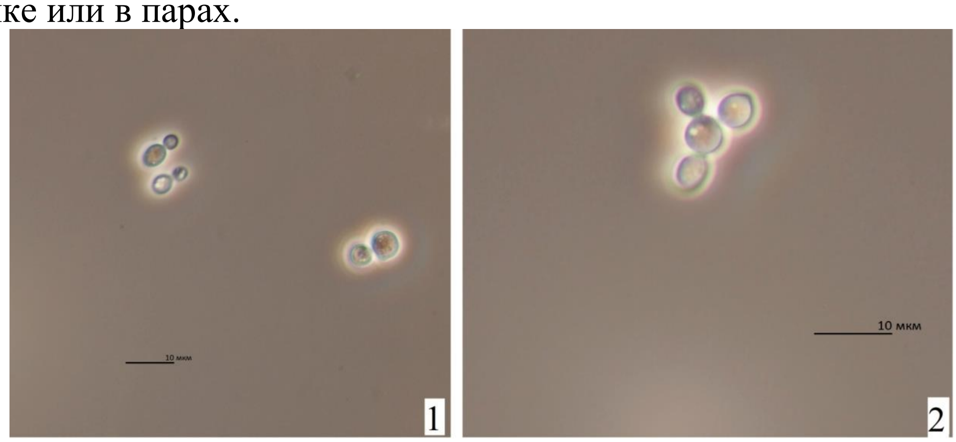


Рисунок 5. Почкование штамма № 111: 1 – полярное; 2 – многостороннее

Штамм №1638 представлен клетками овальной формы, которые размножаются полярным либо многосторонним почкованием. Клетки данного штамма располагаются поодиночке, попарно или в коротких цепочках (рис. 6).

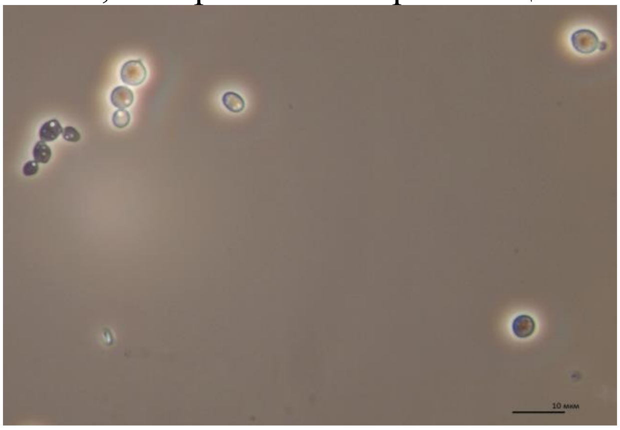


Рисунок 6. Образование цепочек штаммом № 1638

У исследуемых штаммов в ходе исследования не было обнаружено баллистоспор, аскоспор и баллистоконидий.

Таким образом, по ряду характерных морфологических признаков можно сделать вывод, что исследуемые штаммы относятся к базидиомицетовому аффинитету.

Список литературы:

1. Власова А.В. Дрожжи озера Унтерзее (Антарктида) // Выпускная квалификационная работа (ВКР) РГАУ-МСХА М.: 2020 49с.
2. Дятлов И.С. Изучение психрофильных дрожжей оз. Унтерзее // Выпускная квалификационная работа (ВКР) РГАУ-МСХА М.: 2022 52с
3. Чернов И.Ю. Дрожжи в природе. / Чернов И.Ю. – Товарищество научных изданий КМК, Москва – 2013 – С.336
4. Atlas R.M. Handbook of microbiological media. 4th ed. Taylor and Francis Group, LLC. 2010. 2043 p.
5. Wand U., Samarkin V.A., Nitzsche H.M., Hubber ten H.) W. Biogeochemistry of methane in the permanently ice-covered Lake Untersee, central Dronning Maud Land, East Antarctica // Limnol. Oceanogr. 2006. V. 51. № 2. P. 1180–1194

УДК 631.4

КАРСТОВЫЕ ПОЛОСТИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЫ КАК ИСТОЧНИК НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ АМИЛАЗ

Козлов Андрей Владимирович, *д.б.н., профессор, заведующий кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО ГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева a.kozlov@rgau-msha.ru*

Дятлов Илья Сергеевич, *аспирант 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, ylia-d@yandex.ru*

Селицкая Ольга Валентиновна, *к.б.н., доцент, кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru*
Вишневская Ольга Павловна*, Студент 3 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева o-vish@bk.ru*
Кульчицкая Виктория Андреевна, *студент 1 курса Института садоводства и ландшафтной архитектуры ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, kulchitskayavicktoria@yandex.ru*

Аннотация: *В данной работе было приведены данные первого микробиологического исследования карстовой пещеры Подмосковная. В работе описывается выделение и исследование амилолитических микроорганизмов по ключевым физиологическим и морфологическим признакам.*

Ключевые слова: карст, пещера Подмосковная, низкотемпературная амилаза, психрофильные микроорганизмы

Введение

Изучение микроорганизмов пещер представляют значительный интерес для различных областей науки. В пещерах микроорганизмы существуют в условиях отсутствии источника света; постоянно низкой и стабильной температуры; постоянной влажности и при низкой доступности питательных веществ [Хижняк С.В., Пампуха В.Т., 2016].

Спрос на ферменты в последние годы только растёт, но по-прежнему остаётся проблема предлагаемого разнообразия ферментов. Амилолитические ферменты входят в топ по востребованности на рынке (примерно 25% от всего рынка ферментов [Хижняк С.В., Пампуха В.Т., 2016]). Амилолитические ферменты применяют в сельском хозяйстве, а также в перерабатывающей и пищевой отрасли.

Амилазы в современном мире применяются для конверсии крахмала в глюкозу и/или олигосахариды. Их активно используют в крахмалопаточном и бродильном производствах, а также для отбеливания растительного сырья в текстильном и бумажном производствах [Дятлов И.С. 2024; P.M. De Souza, P. Oliveira Magalhães, 2010].

Цель работы: Поиск и описание психрофильных и психроактивных микроорганизмов-амилолитиков в закрытом «русском» карсте.

Район исследования

Исследуемый объект – карстовая пещера «Подмосковная» располагается в среднем течении р. Пахра. Урез воды в реке у нижнего бьефа плотины 116м, а в верхнем 120м [Неходцев В.А., Гаршин Д.И., Пожидаев А.М., 2021]. Плотна располагается севернее деревни Новленское.

Карстовая пещера «Подмосковная» расположена в левом борту реки Пахры на относительной высоте примерно в 120м над уровнем моря в толще известняков мячковской серии среднего карбона. Толща известняков представлена белыми органогенными известняками местами переполненные множеством остатков представителей фауны (раковины хорист, иглами морских ежей и остатками другой фауны).

Отложения известняка перекрыты юрскими отложениями, четвертичными ледниковыми отложениями, отложениями надпойменных террас в свою очередь местами прескрытых делювиальными отложениями.

Сама пещера «Подмосковная» является одной из самых больших в центральной России (самая большая в Московской Области). Её общая длина на момент топосъёмки (2020 год) составляет 151 при денивеляции (перепаде) составляет 5 метров [Неходцев В.А., Гаршин Д.И., Пожидаев А.М., 2021]. Пещера имеет два чётко выделенных этажа. Первый (верхний) этаж более узкий и короткий этаж. Нижний этаж более длинный, габариты створа более свободны.

Объекты исследования

Объектами исследованиями в нашей работе были пробы донных отложений карстовой пещеры, отобранные из разных частей двух этажей карстовой пещеры «Подмосковная». На верхнем (первом) этаже пещеры образцы были отобраны из двух точек В1 и В2. С нижнего (второго) этажа пещеры было отобрано 5 образцов из точек Н1; Н2; Н3; Н4; Н5. Отличительной чертой нижнего (второго) этажа является гораздо более мощный слой донных отложений зачастую с чётко выраженной слоистостью.

Все образцы с двух этажей пещеры донных отложений были отобраны 14 мая 2023 года за один этап проб отбора. После отбора образцы были доставлены на кафедру микробиологии и иммунологии для выделения амилолитических микроорганизмов.

Методы исследования

Выделение чистых культур

Выделение изолятов амилолитических микроорганизмов из образцов донных отложений пещеры «Подмосковная» производилась методом предельных разведений на крахмал-аммиачный агар (КАА) следующего состава (г/л): Агар-Агар – 20,0; Крахмал – 10,0; NH_4NO_3; KH_2PO_4 – 1; $MgSO_4 *7H_2O$ – 0,5; KCl – 0,5; $FeSO_4$ – 0,1 (pH = 6,5-7). Стерилизация при 0,5 АТМ и 111°С в течении 20 мин. Посевы производились из разведений от 10^{-1} до 10^{-6}. Культивация производилась при + 10°С.

Пересевы и очистка культур производилась также на крахмал-аммиачном агар с интервалами в 2-3 дня при культивации при +10°С.

Хранение чистых культур производилась на скошенном агаре при температуре 4-5°С.

Морфологическое описание

Макроморфологические (культуральные) признаки – характеризует рост колонии изолята (-ов) на питательных средах (жидких/плотных). На жидких питательных средах описываются способность образовывать плёнки, муть, осадок (характеризуется цвет, формы, структуру образований и т.д.). Кроме описания роста на жидких питательных средах проводится описание роста на плотных питательных средах, характеризуется штрих культуры, её отдельно стоящая колония, образование плодовых тел, репродуктивная система и так далее.

Микроморфологические признаки – характеризуется особенности клеточной морфологии отдельных клеток и гифов, строение мицелия, формирование бесполых спор, способы половой репродукции.

Определение температурных границ роста

Температурные границы зоны оптимума и зоны роста определялась по боковой скорости роста на крахмал-аммиачном агаре. Измерения производилась в трёхкратной повторности в нескольких проекциях на седьмые сутки культивирования. Культивирование производилась при температурах: +5; +10; +15; +20; +25 и +30°С.

Определение оптимума температур амилаз

Определение активности амилаз, продуцируемых выделенными изолятами, при различных температурах производилась для определения температурного оптимумам исследуемых амилаз. Измерения производились при температурах в 30;40;50 и 60°С.

Для определения активности амилаз при выбранных температурах определялась по скорости полного обесцвечивания водного раствора водорастворимого крахмала, окрашенного 0,1% раствором I_2 после добавления культуральной жидкости (в соотношении 1:1), температура поддерживается с помощью водяной бани.

Для данного опыта исследуемые культуры культивировались на жидкой питательной среде (КАА без добавления агара) в течении 7 суток.

Результаты

Выделение чистых культур

В ходе выделения чистых культур было выделено 6 различных изолятов амилолитических микроорганизмов из разных образцов донных отложений карстовой пещеры «Подмосковная». Распределение микроорганизмов в образцах приведено в таблице №1.

Таблица №1

Количественное распределение штаммов в образцах, $N*10^6$ КОЕ/г

образец	Штамм					
	А4	Б4	О4	Т4	Р4	Г2
В1	0	3	1	6	0	8
В2	0	2	7	8	0	6
Н1	0	7	0	15	0	7
Н2	1	0	15	19	7	14
Н3	0	0	11	17	4	0
Н4	3	0	17	25	2	15
Н5	3	11	14	21	0	16

Оптимум температур

Оценка боковой скорости роста при разных температурах проводилась на 7-е сутки культивирования на плотной питательной среде. Данные измерений, проведённых в трёх повторностях приведены на рисунке 1.

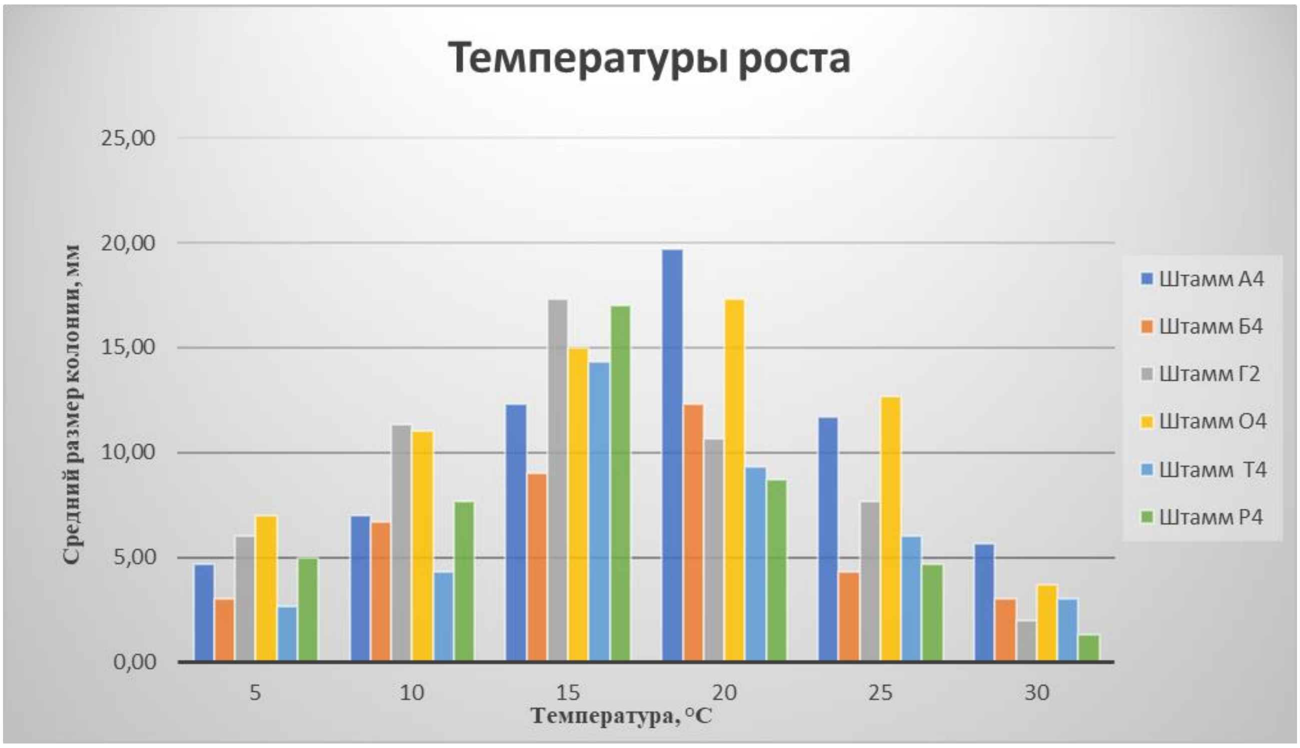


Рисунок 1. График зависимости размера колонии исследуемых штаммов от температуры [Дятлов И.С. 2024]

Оптимум температур для 3 исследуемых штаммов (Г2; Т4; Р4) амилолитических микроорганизмов является +15°С, а в зоне +25…30°С наблюдается активное подавление данных штаммов, следовательно, данные микроорганизмы являются психрофильными.

Для штаммов А4; Б4 и О4 оптимумом температур в +20°С, которая является пограничной между психрофильными и мезофильными микроорганизмами. Данные штаммы амилолитических микроорганизмов подавляются в зоне +30°С активнее чем в зоне +10°С, опираясь на данный факт можно сделать вывод, что штаммы А4; Б4 и О4 относятся к психрофильным микроорганизмам.

Амилолитическая активность

Для амилаз, продуцируемых штаммами О4; Г2; Т4; Р4, оптимум температур лежит в диапазоне 50± **3**°С.

Для амилаз, продуцируемых штаммами Б4; А4, оптимум температур лежит в диапазоне 60± **3**°С.

Активность амилаз, продуцируемых исследуемыми микроорганизмами, находится на одном уровне с такими продуцентами амилаз как:

- Bacillus sp. WRD616 (50 °C) [Дятлов И.С. 2024]
- Bacillus subtilis JS-2004 (50 °C) [Дятлов И.С. 2024]
- Amphibacilus sp. NM-RA2 (54 °C) [Дятлов И.С. 2024]
- Bacillus sp. TS 23(60°C) [Дятлов И.С. 2024]

Список литературы:
1. Дятлов И.С. Амилолитическое микробное сообщество грунта карстовой пещеры «Подмосковная» как источник продуцентов низкотемпературных амилаз // Выпускная квалификационная работа (ВКР) РГАУ-МСХА М.: 2024. 70с.
2. Неходцев В.А., Гаршин Д.И., Пожидаев А.М. Строение и история развития пещеры подмосковная / В.А. Неходцев, Д.И. Гаршин, А.М. Пожидаев // Вестник Московского университета. Серия 5. География. – 2021. – № 5. – С. 109–123
3. Хижняк С.В., Пампуха В.Т., Микробные сообщества карстовых пещер как потенциальный источник низкотемпературных амилаз // Биологические науки. – 2016 – С.104-110
4. De Souza, P.M. Application of microbial α-amylase in industry – A review / P.M. De Souza, P. Oliveira Magalhães // Brazilian Journal of Microbiology. – 2010. – № 4. – P. 850–861.

УДК 631.4

Загрязнение почв свинцом и цинком угрожает экосистемам и здоровью. Bacillus subtilis и Pseudomonas putida – биоиндикаторы, их ферментативная активность (амилаза, протеаза, липаза, уреаза) позволяет оценить уровень загрязнения и разработать стратегии биоремедиации для устойчивого управления земельными ресурсами.

Козлов Андрей Владимирович, *к.б.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии, РГАУ – МСХА им. Тимирязева a.kozlov@rgau-msha.ru*
Никитенко Антон Михайлович, *магистр 2 курса,* Институт Мелиорации, Водного Хозяйства И Строительства им. Костякова, кафедра Экологии и Природопользования, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. Тимирязева, brokendrummachine@mail.ru
Журавлёв Дмитрий Иванович, *магистр 2 курса,* Институт Мелиорации, Водного Хозяйства И Строительства им. Костякова, кафедра Экологии и Природопользования, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. Тимирязева, dimzhur03@gmail.com

Аннотация: *загрязнение почв тяжёлыми металлами, такими как свинец и цинк, представляет серьёзную угрозу для устойчивости экосистем и здоровья человека. Тяжёлые металлы, накапливаясь в почвах, нарушают природные процессы, затрудняют самоочищение почвы и снижают её продуктивность. В статье рассматриваются почвенные бактерии Bacillus subtilis и Pseudomonas putida как биоиндикаторы загрязнения почв, их способность адаптироваться к изменениям в химическом составе среды и эффективность использования микробной ферментативной активности для оценки уровня загрязнения. Проведённый анализ активности ключевых ферментов, таких как амилаза, протеаза, липаза и уреаза, позволяет детально оценить влияние тяжёлых металлов на почву и предлагать стратегии для биоремедиации и устойчивого управления земельными ресурсами.*

Ключевые слова: Загрязнение почв, Тяжёлые металлы, Экосистемная устойчивость, Почвенные бактерии, Биоиндикаторы загрязнения, Адаптация бактерий, Уровень загрязнения, Влияние тяжёлых металлов, Биоремедиация.

Введение.

На фоне глобального роста урбанизации и промышленного развития экологическая безопасность почв становится критически важной задачей для устойчивого развития территорий и сохранения биоразнообразия. Один из наиболее острых вопросов современной экологии — это загрязнение почв тяжёлыми металлами, такими как свинец и цинк, которые накапливаются в городских и пригородных почвах в результате промышленной и транспортной деятельности. Такие загрязнители представляют собой серьёзную угрозу не только для здоровья экосистем, но и для здоровья человека, так как способны проникать в биологические цепи и накапливаться в пищевых продуктах. Загрязнённые почвы утрачивают плодородие, устойчивость к внешним воздействиям и способность к самовосстановлению, что требует разработки эффективных мер для предотвращения деградации почв и восстановления их функций.

Особую важность в данном контексте приобретают микробные индикаторы, позволяющие оценивать экологическое состояние почвы и проводить мониторинг её загрязнения. Исследования показывают, что почвенные бактерии *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas putida* играют ключевую роль в экологическом равновесии почв, поскольку их метаболическая активность чувствительна к химическим изменениям в почвенной среде. Это делает их перспективными объектами для биоиндикации, так как их реакция на загрязнение даёт более полное представление о реальном состоянии почвы по сравнению с традиционными физико-химическими методами. Изучение метаболических реакций этих бактерий на присутствие токсичных металлов позволяет не только оценить уровень загрязнения, но и понять механизмы адаптации и устойчивости почвенной микрофлоры, что важно для разработки эффективных мер по биоремедиации и восстановлению экосистем.

Литературный обзор:

Экологическое значение почвенных экосистем.

Почва — это ключевой компонент биосферы, который выполняет множество экологических функций, включая регуляцию водного баланса, круговорот питательных веществ и поддержание биоразнообразия. Однако современные экологические исследования подтверждают, что почвы городских экосистем всё чаще подвергаются интенсивному загрязнению, особенно тяжёлыми металлами. Загрязнённые тяжёлыми металлами почвы теряют свою способность к самоочищению и регенерации, что делает их уязвимыми к деградации. Накопление свинца и цинка в почве нарушает микробные процессы, которые необходимы для поддержания её продуктивности и способности к восстановлению, что ведёт к сокращению биоразнообразия и снижению стабильности почвенного покрова.

Свинец, например, является высокотоксичным металлом, способным накапливаться в почве в течение долгого времени. Он ингибирует ферментативные процессы, подавляет микробные реакции, что нарушает способность почвы выполнять её биогеохимические функции. Это особенно опасно в городских экосистемах, где почва уже испытывает значительное антропогенное давление. Цинк, хотя и является важным микроэлементом, при высоких концентрациях также оказывает токсичное воздействие, нарушая микробное сообщество и взаимодействие микроорганизмов с другими компонентами почвы. Под влиянием этих факторов почва утрачивает способность к самоочищению, что нарушает её продуктивность и делает её экосистемные функции уязвимыми.

Почвенные бактерии как индикаторы загрязнения.

В условиях нарастающего загрязнения почв возрастающее значение приобретает микробиологический мониторинг. Почвенные бактерии, такие как *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas putida*, являются важными участниками почвенного круговорота веществ и играют ключевую роль в поддержании её устойчивости. Благодаря способности бактерий к быстрому реагированию на изменения химического состава почвы они могут служить биоиндикаторами загрязнения тяжёлыми металлами. Под воздействием свинца и цинка их метаболическая активность изменяется, что сказывается на их ферментативной активности, уровне размножения и выживаемости. [2]

Микробиологический подход к экологическому мониторингу позволяет не только фиксировать наличие загрязнения, но и оценивать его воздействие на функции почвы. Поскольку почвенные бактерии играют роль катализаторов в процессах разложения органических веществ, углеродного и азотного обмена, изменение их активности указывает на ухудшение условий для жизни микроорганизмов. [1] Изучение активности ферментов, таких как амилаза, протеаза, липаза и уреаза, позволяет делать выводы о состоянии почвенных экосистем и степени их загрязнения. Эти ферменты играют важные роли в обеспечении почвы энергией и питательными веществами, а снижение их активности служит признаком нарушения микробных сообществ и деградации почв.

Методы исследования:

Определение ферментативной активности.

Для оценки воздействия тяжёлых металлов на почвенные микроорганизмы применяются методы определения активности ключевых ферментов, таких как амилаза, протеаза, липаза и уреаза. Эти ферменты выполняют фундаментальные функции в почвенной экосистеме, участвуя в круговороте углерода и азота, разложении органических веществ и поддержании структурной целостности почвы. Воздействие тяжёлых металлов, таких как свинец и цинк, приводит к ингибированию ферментативной активности, что негативно отражается на экологической устойчивости и плодородии почвы. [4]

1. Амилаза.

Амилаза катализирует гидролиз сложных углеводов, включая крахмал, до простых сахаров, таких как глюкоза. Это обеспечивает микроорганизмы доступными источниками энергии и питательных веществ, поддерживая углеродный обмен в почве. Под воздействием тяжёлых металлов активность амилазы снижается, поскольку свинец и цинк могут блокировать активные центры фермента или нарушать его конформацию. Для оценки активности амилазы используется метод, при котором к бактериальной суспензии добавляют крахмальный субстрат и специфический реагент, который изменяет цвет по мере расщепления крахмала. Показатели активности амилазы позволяют сделать выводы о жизнеспособности почвы и доступности углерода, необходимого для поддержания микробных сообществ.

2. Протеаза.

Протеаза разлагает белковые молекулы до аминокислот, которые становятся источником доступного азота для почвенных организмов. Протеолитическая активность имеет важное значение в азотном цикле и разложении органического вещества, делая азот доступным для растений и других микроорганизмов. Под воздействием тяжёлых металлов, особенно свинца, активность протеаз ингибируется, так как металлы могут связываться с аминокислотными остатками активного центра, блокируя ферментативные реакции. Снижение активности протеазы является индикатором ухудшения азотного обмена и недостаточной доступности азота в загрязнённых почвах. Это препятствует росту и развитию микрофлоры и растений, что может быть оценено путём измерения скорости расщепления белков в почвенных образцах.

3. Липаза.

Липаза катализирует расщепление жиров и липидов до глицерина и свободных жирных кислот, которые используются микроорганизмами для построения клеточных мембран и хранения энергии. Липиды играют ключевую роль в поддержании структурной устойчивости почвы, так как они участвуют в образовании коллоидных комплексов и мембранных структур, способствующих стабильности почвенного покрова. Тяжёлые металлы, такие как цинк и свинец, подавляют липолитическую активность, поскольку металлы могут изменять структуры липидных комплексов, блокировать активные центры липазы или вызывать оксидативный стресс, что приводит к разрушению липидных мембран. Это нарушает разложение липидов и уменьшает структурную устойчивость почвы, делая её более уязвимой к эрозии и деградации.

4. Уреаза.

Уреаза катализирует гидролиз мочевины, образуя аммиак и углекислый газ, что имеет важное значение для азотного цикла в почве. Этот фермент играет ключевую роль в преобразовании мочевины в доступные формы азота, поддерживая почвенное микробное сообщество и способствуя росту растений. Тяжёлые металлы, такие как свинец, могут ингибировать активность уреазы, так как свинец способен взаимодействовать с сульфгидрильными группами в структуре фермента, что приводит к снижению его каталитической активности. Измерение активности уреазы обычно проводят по изменению pH раствора с мочевиной, что позволяет оценить степень нарушения азотного обмена в загрязнённой почве.

Воздействие и влияние тяжёлых металлов на метаболизм.

Наличие тяжёлых металлов в почве оказывает значительное влияние на её способность поддерживать биологические процессы и экосистемные функции. Почвенные бактерии, такие как *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas putida*, под воздействием тяжёлых металлов изменяют свою метаболическую активность, что приводит к ингибированию таких ферментов, как амилаза, протеаза, липаза и уреаза. Эти ферменты играют важнейшую роль в переработке органических веществ и поддержании структурной устойчивости почвы, и их ингибирование свидетельствует о деградации экосистемы.

Свинец и цинк нарушают углеродный и азотный обмен, что приводит к снижению способности почвы к самоочищению и изменению её микробного состава. В частности, свинец ингибирует активность ферментов, заменяя кальций и магний в их молекулярной структуре. Это воздействие приводит к снижению активности амилазы, что уменьшает эффективность разложения органических веществ и ухудшает состояние почвы. Подобные изменения вызывают экологическую деградацию почвы и её биоразнообразия, а также снижают устойчивость к антропогенному воздействию. [4]

Цинк, хотя и является необходимым микроэлементом, при высоких концентрациях подавляет активность протеаз и липаз, что нарушает круговорот веществ и ослабляет метаболические процессы в микробном сообществе. Это снижает способность почвы к восстановлению, препятствует её структурному развитию и ухудшает её экологическое состояние. Деградация микробного сообщества под воздействием тяжёлых металлов ведёт к нарушению экосистемных процессов, таких как круговорот питательных веществ, разложение органики и очищение почвы от загрязняющих веществ.

Экологическая значимость результатов и перспективы.

Изучение изменений ферментативной активности и метаболизма почвенных бактерий под влиянием тяжёлых металлов даёт возможность выявить нарушения на самых ранних стадиях деградации экосистемы. Применение бактерий *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas putida* как биоиндикаторов загрязнения почв позволяет проводить раннюю диагностику загрязнения и предотвращать ухудшение состояния почвы, что является ключевым фактором для поддержания экологической безопасности. [3] Эти методы мониторинга могут стать основой для устойчивого управления земельными ресурсами в условиях повышенного антропогенного воздействия.

Экологическое значение данных исследований заключается в разработке устойчивых методик биоремедиации, способных восстанавливать экологическую устойчивость почв, насыщенных тяжёлыми металлами. [5] Развитие таких подходов будет способствовать поддержанию биоразнообразия, улучшению качества почв и защите здоровья экосистем. Исследования в этом направлении также открывают перспективы для создания экологически безопасных технологий восстановления городских и сельских территорий, которые играют важную роль в поддержании устойчивого развития и здоровья окружающей среды.

Список литературы:
1. Aleksey Sizentcov, Elena Sal’nikova, Elena Barysheva, Yaroslav Sizentcov and Veronika Sal’nikova Biotoxicity of heavy metal salts to Bacillus subtilis and their sorption properties E3S Web Conf., 157, 2020
2. Lei Lei, Chen Jiahui , Liao Weifang , Liu Pulin. Determining the Different Mechanisms Used by Pseudomonas Species to Cope With Minimal Inhibitory Concentrations of Zinc via Comparative Transcriptomic Analyses Frontiers in Microbiology 2020
3. Lin H, Chen G, Zhao H, Cao Y. Variable metal resistance of P. putida CZ1 biofilms in different environments suggests its remediation application scope. J Environ Manage. 2021. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34358938/ (accessed 01 November 2024)
4. Teng Z, Shao W, Zhang K, Huo Y, Li M. Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from heavy metal contaminated soils and their potential for lead immobilization. J Environ Manage. 2019 Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30342331/ (accessed 01 November 2024)
5. Xiaofang Li, Menglin Sun, Luting Zhang, Roger D. Finlay, Renlu Liu, Bin Lian, Widespread bacterial responses and their mechanism of bacterial metallogenic detoxification under high concentrations of heavy metals, Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022.

УДК 631.4

СТИМУЛЯЦИЯ НАНОЧАСТИЦАМИ ЖЕЛЕЗА ПРОЦЕССА ТЕМНОВОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОТХОДОВ С ОБРАЗОВАНИЕМ БИОВОДОРОДА

Потехина Мария Алексеевна, *аспирант 2 курса института Агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, mashery1999@gmail.com*
(Научный руководитель – Селицкая Ольга Валентиновна, к.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru; Литти Юрий Владимирович, к.б.н., заведующий лаборатории антропогенных мест обитания, ФИЦ Биотехнологии РАН, litty-yuriy@mail.ru)

В современном мире человечество все больше и больше беспокоится об ухудшении климата, неуклонном росте цен на углеводороды, и конечно же, об опасности для здоровья, которая связана с токсичными веществами, находящимися в воздухе. Ученые прилагают все усилия для создания экологически чистых источников энергии взамен существующего ископаемого топлива. Поскольку энергия является ключевым атрибутом социально-экономического прогресса любой страны, многие правительства вкладывают значительные средства в разработку безопасных и устойчивых технологий производства биотоплива. Благодаря производству биоводорода могут быть решены многочисленные критические проблемы, такие как энергетическая безопасность, экологическая устойчивость и утилизация отходов.

Темновая ферментация (ТФ) - экологически чистый метод переработки органических отходов, позволяющий снизить нагрузку на окружающую среду. Основным продуктом данного процесса является водород, используемый в качестве газообразного топлива. Поскольку ферментативное производство биоводорода является процессом, опосредованным микробами, два ключевых фермента, а именно гидрогеназа и нитрогеназа, являются основными факторами, непосредственно влияющими на ТФ. Субстрат имеет решающее влияние на выработку биоводорода в процессе ТФ. Актуальной в настоящее время является переработка сточных вод, пищевых и сельскохозяйственных отходов, постоянно образующихся в больших количествах на различных производствах. Гидролитические и ацидогенные микроорганизмы, участвующие в ТФ, разлагают биополимеры с образованием более простых соединений, в частности, водорода. Многие исследователи сосредоточили свои усилия на оптимизации его получения. Эффективным способом повышения продукции водорода является предварительная обработка субстрата физическими или химическими методами с целью инактивации или снижения активности водородпотребляющих микроорганизмов, а также оптимизация соотношения C/N за счет совместного сбраживания субстратов различной природы. Применение наноматериалов для повышения биологической активности и извлечения метаболитов при производстве биоводорода методом ТФ также вызывает большой интерес ученых. Более того, наноматериалы могут индуцировать микробный метаболизм при очень низкой концентрации. Например, наночастицы железа с нулевой валентностью все чаще используются для очистки окружающей среды и промышленных сточных вод для удаления хлорированных загрязняющих веществ и тяжелых металлов благодаря своей экологичности и высокой эффективности. Добавление в среду культивирования частиц или растворимых соединений металлов, в том числе, железа, является известным методом усиления гидрогеназной активности и, следовательно, стимуляции продукции водорода [1, 2]. В качестве активных продуцентов водорода могут выступать как чистые, так и смешанные культуры микроорганизмов. Использование монокультур или обогащение сообщества позволяет обеспечить стабильность системы и высокий выход водорода [3].

Целью данной работы является определение оптимальных параметров процесса ТФ смеси распространенных отходов агропромышленного комплекса (пшеничной соломы и свиного навоза) монокультурой *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* SP-H2, включающих предобработку, совместное сбраживание и усиление гидрогеназной активности за счет подбора оптимальной железосодержащей добавки. На первом этапе было выявлено оптимальное соотношение субстратов (соломы и свиного навоза) при совместном сбраживании, изучена эффективность физической (тепловая обработка) и химической (добавление хлороформа и 2-бромэтансульфоната (BES)) предобработки субстратов для последующей ферментации бактерией *T. thermosaccharolyticum* SP-H2. На втором этапе эксперимента для смеси ко-субстратов с наилучшими показателями ТФ было определено наиболее эффективное соединение железа (нулевалентного железа, магнетита и гематита) и его концентрация. Оптимальное соотношение соломы и свиного навоза составило 66:33. Самой эффективной предобработкой оказался тепловой шок (105°C). Максимальный выход биоводорода составил 22,6 мл H_2/г ОВ. Анализ микробного сообщества сброженной биомассы с различным соотношением C/N и предобработкой показал разнообразие типичных ацидогенных, гидролитических и синтрофных представителей (*Herbinix, Clostridium sensu stricto 1, Ureibacillus, Tepidimicrobium* и т.д.), что указывает на активное биоразложение лигноцеллюлозного субстрата. Для эксперимента по улучшению продукции водорода наночастицами железа были использованы их концентрации 50, 100, 200, 400 и 800 мг/л. Наилучший выход водорода был получен при добавлении 200 мг/л наночастиц нулевалентного железа. Вышеперечисленные методы оптимизации процесса ТФ, такие как совместное сбраживание соломы и свиного навоза в соотношении 66:33, тепловая предобработка субстрата и внесение 200 мг/л частиц Fe^0 способствуют эффективной переработки сельскохозяйственных отходов с повышенным выходом биоводорода.

Изучение новых видов термофильных микроорганизмов, помимо фундаментального вклада, имеет большое значения для создания и/или оптимизации биотехнологических процессов. У термофильных микроорганизмов существует большое количество физиологических механизмов для защиты от теплового стресса, и дальнейшее изучение этих микроорганизмов поможет понять не только физиологию, но также каким образом их можно использовать в биотехнологии. Многие биотехнологические процессы протекают при высокой температуре, поэтому изучение термофильных организмов может существенно разнообразить применяемые технологии. Более подробное изучение микроорганизмов, способных участвовать в процессе очистки сточных вод и переработке отходов агропромышленного комплекса поможет усовершенствовать биотехнологический процесс, подобрать оптимальные условия, а также сделать его более экономически выгодным. Чистый энергоноситель биоводород может быть получен с использованием отходов сельского хозяйства, которые являются возобновляемыми по своей природе. Органический субстрат, богатый целлюлозой, является наиболее подходящим сырьем для производства биоводорода путем темновой ферментации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках проекта № 13.2251.21.0173 (идентификационный номер RF----2251.61322X0051)

Список литературы:

1. Promoting dark fermentation for biohydrogen production: potential roles of iron-based additives / Y. Ren [et al.] // Int. J. Hydrog. Energy. – 2022. – Vol. 47, № 3. – P. 1499-1515.

2. Investigating the effects of iron and nickel nanoparticles on dark hydrogen fermentation from starch using central composite design / M. Taherdanak [et al.] // Int. J. Hydrog. Energy. – 2015. – Vol. 40, № 38. – P. 12956-12963.
3. Dark fermentative biohydrogen production from lignocellulosic biomass: Technological challenges and future prospects / J. F. Soares [et al.] // Renew. Sustain. Energy Rev. – 2020. – Vol. 117. – P. 109484.

УДК: 637.12.047

ДИНАМИКА КМАФА И М В МОЛОКЕ КОРОВ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ ТЕРАПИИ СКРЫТЫХ МАСТИТОВ

***Подъяпольская Анна Алексеевна**, студент 2 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. anutafilina75@gmail.com*
***Абуденов Сергей Ярославович**, студент 2 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. abudenov05@gmail.com*
***Северина-Максименко София Тарасовна**, студент 2 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. sanechkaseverina@gmail.com*
(Научный руководитель – Маннапова Рамзия Тимергалеевна, д-р биол. наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», ram.mannapova55@mail.ru)

***Аннотация**: В исследовании представлена динамика количества микробов, образующих колонии в 1 мл (КМАФА) и мезофильных микроорганизмов (М) в молоке коров, больных скрытым маститом. Цель работы – провести сравнительный анализ эффективности различных методов терапии скрытых маститов на уровень микробной контаминации молока.*

***Ключевые слова*:** динамика, КМАФ, микробное число, молоко, коровы, скрытые маститы, терапия, эффективность, интрацистернальная инъекция, лазеротерапия.

Материал и методы исследований

Работа выполнялась в лабораториях кафедры микробиологии и иммунологии, ветеринарной медицины ФГБОУ РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева, на молоке полученном от 18 животных, больных субклинической формой мастита.

Коров разделили на 6 групп. Первая группа была контрольной, здоровой, остальные (2-6) — опытные с скрытым маститом. Коров 2 группы лечению не подвергали. В 3 группе использовали препарат Мастивин, в 4 группе - Мастивин с лазеротерапией, в 6 группе —Пропомаст с лазеротерапией. Мастивин вводили внутрицистернально по 8 г, один раз в сутки, в течение 5 дней. Пропомаст применяли по 10 м, один раз в день после дойки, на протяжении 3 дней. Лазеротерапия проводилась в течение 5 дней, по 3-5 минут процедуры на пораженную область. Исследования проводились в течение 30 дней, с периодическим взятием проб молока для иммунологических и бактериальных анализов.

Подсчет микробов в молоке проводили методом Брида. Этот метод позволяет точно определить количество колониеобразующих единиц (КоЕ) микробов с помощью посева молока на питательную среду. После инкубации образцов в контролируемых условиях, происходит визуализация колоний, что позволяет сделать выводы о микробиологическом фоне молока. Результаты подсчета КМАФА (количество микробов, образующих колонии) и М (микроорганизмы) анализировались в динамике, что позволило оценить эффективность различных методов терапии скрытых маститов у коров в течение эксперимента. Данные были собраны на разных этапах (через 5, 10, 20, 30 и 60 дней) и подверглись статистической обработке для выявления значимых различий между группами. Таким образом, данный подход способствует определению оптимальных методов лечения для восстановления здоровья животных и улучшения качества молока.

Результаты исследований

Результаты исследования динамики изменения содержания в молоке коров КМАФА и М представлены в таблице 1.

В молоке коров 1 контрольной группы содержание КМАФА и М в процессе эксперимента имело незначительное повышение, что связано с субъективными причинами, которые вызваны изменяющимися условиями содержания и кормления, снижением иммунного статуса животных. Их фоновый уровень составил $4{,}8 \cdot 10^5$. В последующие сроки эксперимента этот показатель увеличивался и превысил данное значение на 5, 10, 20 и 30 сут. опыта в 1,23 раза (на 110,0 тыс. КОЕ/мл), в 1,43 раза (на 210,0 тыс. КОЕ/мл), в 1,6 раза (на 290,0 тыс. КОЕ/мл), в 1,77 раза (на 370,0 тыс. КОЕ/мл). Следует отметить, что эти изменения в контроле не являются существенными, хотя и не служат позитивным признаком и указывают на необходимость устранения их причин (ибо размножение микроорганизмов в молоке идет в выраженной прогрессии).

Содержание КМАФА и М в молоке коров, больных скрытым маститом, в начале опыта (фон) колебалось на уровне от 7,4 до 8,0 КОЕ/мл, что превысило показатель контроля в 1,54-1,66 раза (на 260,0 – 320 КОЕ/мл).

Уровень КМАФА и М в молоке животных 2 группы, в процессе опытов, имел тенденцию к дальнейшему выраженному увеличению. На 5 сут. от начала эксперимента их содержание превысило фоновое значение в 3,73 раза (на 2 млн.50 тыс. КОЕ/мл), на 10 сут. – в 4,8 раза (на 2 млн.850 тыс. КОЕ/мл), на 20 сут. - в 5,2 раза (на 3 млн.150 тыс. КОЕ/мл), на 30 сут. - в 7,6 раза (на 4 млн.950 тыс.КОЕ/мл). Такое молоко соответствует не классному молоку. Это уже свидетельствует о переходе скрытого мастита в клинически выраженный мастит.

Таблица 1 – Динамика в молоке коров КМАФА и М (КОЕ/мл)

Группы	Препараты	Стат. показатель	Сроки исследования в сутках				
			Фон	От начала опытов			
				5	10	20	30
1	**Контроль (здоровые)**	M	$4{,}8 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^5$	$6{,}9 \cdot 10^5$	$7{,}7 \cdot 10^5$	$8{,}1 \cdot 10^5$
		±m	$0{,}9 \cdot 10^5$	$2{,}1 \cdot 10^5$	$1{,}1 \cdot 10^5$	$1{,}3 \cdot 10^5$	$1{,}4 \cdot 10^5$
		Cv, %	12,5	11,3	10,6	11,3	12,5
2	**Больные, не леченные**	M	$8{,}9 \cdot 10^5$	$2{,}8 \cdot 10^6$	$3{,}6 \cdot 10^6$	$3{,}9 \cdot 10^6$	$5{,}7 \cdot 10^6$
		±m	$1{,}5 \cdot 10^5$	$1{,}8 \cdot 10^6$	$0{,}6 \cdot 10^6$	$2{,}6 \cdot 10^6$	$0{,}6 \cdot 10^6$
		P	**	**	**	*	**
		Cv, %	11,2	42,9	11,1	6,8	7,0
3	**Мастивин**	M	$7{,}8 \cdot 10^5$	$9{,}9 \cdot 10^5$	$8{,}7 \cdot 10^5$	$7{,}9 \cdot 10^5$	$7{,}2 \cdot 10^5$
		±m	$1{,}7 \cdot 10^5$	$2{,}1 \cdot 10^5$	$2{,}2 \cdot 10^5$	$1{,}6 \cdot 10^5$	$1{,}4 \cdot 10^5$
		P	**	*	*	**	*
		Cv, %	14,5	14,1	9,2	13,5	13,0
4	**Пропомаст**	M	$7{,}4 \cdot 10^5$	$8{,}3 \cdot 10^5$	$6{,}0 \cdot 10^5$	$4{,}5 \cdot 10^5$	$3{,}8 \cdot 10^5$
		±m	$1{,}1 \cdot 10^5$	$1{,}4 \cdot 10^5$	$1{,}4 \cdot 10^5$	$2{,}2 \cdot 10^5$	$0{,}9 \cdot 10^5$
		P	**	*	**	*	**
		Cv, %	9,9	11,2	15,6	17,8	15,8
5	**Мастивин + лазер**	M	$7{,}6 \cdot 10^5$	$7{,}9 \cdot 10^5$	$6{,}9 \cdot 10^5$	$6{,}4 \cdot 10^5$	$6{,}7 \cdot 10^5$
		±m	$2{,}5 \cdot 10^5$	$2{,}1{,}1 \cdot 10^5$	$1{,}1 \cdot 10^5$	$0{,}9 \cdot 10^5$	$0{,}5 \cdot 10^5$
		P	*	*	*	**	*
		Cv, %	21,9	19,4	15,5	9,7	5,8
6	**Пропомаст + лазер**	M	$6{,}8 \cdot 10^5$	$8{,}1 \cdot 10^5$	$5{,}7 \cdot 10^5$	$5{,}6 \cdot 10^5$	$6{,}0 \cdot 10^5$
		±m	$1{,}1 \cdot 10^5$	$0{,}9 \cdot 10^5$	$0{,}6 \cdot 10^5$	$0{,}8 \cdot 10^5$	$1{,}5 \cdot 10^5$
		P	**	*	*	*	*
		Cv, %	10,8	8,5	7,0	10,3	6,8

Примечание: $p<0{,}05$*, $p \geq 0{,}05$**

Лечение животных препаратом Мастивин (3 группа) значительно затормаживало активность КМАФА и М в молоке коров, больных скрытым маститом. На 5 сут. опыта их показатель несколько повысился – в 1,23 раза (на 190 тыс. КОЕ/мл). В последующие сроки эксперимента уровень КМАФА и М в молоке коров 3 группы динамично снижался. К 10 сут. исследований содержание КМАФА и М в молоке коров 3 группы продолжало превышать фоновый показатель в 1,08 раза (на 70,0 тыс. КОЕ/мл). На 20 и 30 сут. эксперимента уровень КМАФА и М в молоке коров 3 группы был ниже его фонового уровня – в 1,01 и 1,11 раза (на 10,0 и 80,0 тыс/мл). То есть они составили 790,0 и 720,0 тыс. КОЕ/мл, что соответствует молоку 2 класса.

Более выраженное снижение показателя КМАФА и М в молоке наблюдалось у коров 4 группы. Здесь процесс снижения активности размножения КМАФА и М отмечался с 10 сут. опыта. На 10, 20 и 30 сут. эксперимента уровень КМАФА и М снизился в молоке, по сравнению с его первоначальным фоновым значением, в 1,23; 1,64 и 1,94 раза (на 140,0; 290,0 и 360,0 тыс. КОЕ/мл), составив 600,0; 450,0 и 380,0 тыс. КОЕ/мл). Показатель содержания КМАФА и М в молоке коров 4 группы к концу опыта соответствовал молоку 1 класса.

Показатели КМАФА и М в молоке коров 5 группы были ниже, чем в молоке животных 3 группы, но до конца эксперимента превышали данные по 4 и, особенно выражено, по 6 группе.

Восстановление микробного баланса молока по КМАФА и М, в сторону физиологически допустимых единиц, регистрировалось у животных 6 группы. Здесь уровень КМАФА и М на 5, 10, 20 и 30 сут. снизился, по сравнению с фоновым значением, в 1,09; 1,37; 1,5 и 2,69 раза (на 70,0; 210,0; 260,0 и 490,0 тыс. КОЕ/мл). Показатель КМАФА и М молока коров 6 группы к концу эксперимента соответствует молоку высшего класса.

Заключение

Комплексное лечение коров с скрытым маститом препаратом Пропомаст в сочетании с лазеротерапией является наиболее эффективным способом, способствующим восстановлению содержания КМАФА и М в молоке до нормальных физиологических значений.

Список литературы:

1. Айтышев, С.А. Диагностика скрытых маститов у коров / С.А. Айтышев, М.С. Айтжанов // Развитие научной, творческой и инновационной деятельности молодежи : Сборник статей по материалам XV Всероссийской (национальной) научно-практической конференции молодых учёных, Курган, 14 декабря 2023 года. – Курган: Курганский государственный университет, 2023.
2. Акбаев, Р. М. Скрытый (субклинический) мастит у крупного и мелкого рогатого скота при содержании в условиях частных подворий / Р.М. Акбаев, А.А. Золотухина, С.М. Розинский // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2024. – № 2(106). – С. 207-211.
3. Кошелева, Д.Д. Скрытый мастит у коров: современные методы лечения в АО "Щелкуское" в 2021 г / Д.Д. Кошелева // Молодежь и наука. – 2022. – № 2.
4. Современное состояние и перспективы развития животноводства России и стран СНГ / В.И. Трухачёв, Ю.А. Юлдашбаев, И.Ю. Свинарев [и др.]. – Москва: ООО «Мегаполис», 2022. – 337 с.

УДК 628.35

ПРИМЕНЕНИЕ *CHLORELLA SOROKINIANA* В ОЧИСТКЕ СТОЧНЫХ ВОД НА ПРОИЗВОДСТВАХ АПК

Суханова Ирина Максимовна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Lifebe82@mail.ru.*
Яникеева Татьяна Сергеевна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, tanya123yan@gmail.com.*
Логинова Марина Игоревна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, mi_loginova@mail.ru.*
Николаенко Артём Андреевич, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, arte.agct@gmail.com.*
(Научный руководитель – Чередниченко Михаил Юрьевич, к.б.н., доцент, до-

цент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, cherednichenko@rgau-msha.ru)

Аннотация: *в статье отображены физиологические и морфологические особенности водоросли Chlorella sorokiniana, а также рассмотрены способы повышения ее продуктивности.*

Ключевые слова: Chlorella sorokiniana, очистка, сточные воды, биомасса, тяжелые металлы

Chlorella sorokiniana – пресноводная зеленая микроводоросль, хорошо культивируемая как в лабораторном культиваторе, так и в промышленном масштабе. Она способна переносить воздействие тяжелых металлов таких как Cu, Cd, As без значительного замедления роста, протестирована для биоремедиации при загрязнении тяжелыми металлами. Ее уникальные свойства могут найти большое применение в очистке сточных вод на местах перерабатывающей промышленности АПК, причем собранная биомасса может служить сырьем для производства корма для животных, биоудобрений, а также альтернативного топлива – биодизеля.

C. sorokiniana – небольшая устойчивая одноклеточная водоросль (диаметром 2-4,5 мкм). Она способна миксотрфно расти на различных источниках углерода и азота, может хорошо расти в широком диапазоне температур

Клетки *C. sorokiniana* имеют эллипсоидную или шаровидную форму. Молодые клетки обычно имеют размеры от 1,5 до 2,0 мкм, тогда как зрелые клетки достигают 5-6 мкм в диаметре. Клетки с автоспорами могут достигать 7-8 мкм.

Анализ сухой массы *C. sorokiniana* показывает, что этот вид в среднем на 40 % состоит из белка, на 30–38 % из углеводов и на 18–22 % из липидов. Большой интерес представляют антиоксиданты хлорофилл (3,5 % от сухой биомассы); каротиноиды, которые составляют до 0,69 % в пересчете на сухую биомассу. В белке хлореллы находятся все незаменимые аминокислоты, необходимые для роста дрожжей. В 1 г массы сухого вещества водоросли содержится витамина В1 – 2– 18 мкг; В2 – 21–28; В6 – 9; С – 1300–1500; К – 6; РР – 110–180; Е – 10–350; пантотеновой кислоты – 12–17; фолиевой кислоты – 485; биотина – 0,1; лейковорина – 22 мкг

При культивировании на агаризированной среде при температуре 36 °С через шесть дней образуются выпуклые гладкие колонии диаметром 1-2 мм, окрашенные в темно-зеленый цвет.

В лабораторных условиях водоросль хорошо растет на минерально-органических питательных средах.

Процесс изменения обмена веществ у микроводоросли *C. sorokiniana* для удаления опасных веществ включает несколько ключевых механизмов, которые активируются в ответ на различные стрессовые условия, такие как высокая концентрация загрязняющих веществ или ультрафиолетовое (УФ) облучение.

В ответ на окислительный стресс происходит увеличение синтеза каротиноидов: каротиноиды, такие как β-каротин и фукоксантин, играют важную роль в защите клеток от окислительного повреждения. Исследования показывают, что периодическое УФ-облучение может привести к увеличению содержания каротиноидов в биомассе до 29,5 % по сравнению с контрольными образцами [1].

Это связано с тем, что каротиноиды действуют как антиоксиданты и защищают клетки от вредного воздействия свободных радикалов.

УФ-облучение также приводит к морфологическим изменениям в клетках, таким как увеличение размера клеток и образование вакуолей, что может быть связано с процессами апоптоза.

C. sorokiniana способна адаптироваться к высоким концентрациям загрязняющих веществ (например, тяжелых металлов или органических соединений): в условиях загрязнения происходит активация альтернативных метаболических путей, что позволяет водорослям эффективно удалять ионы металлов и другие токсичные вещества из окружающей среды. Это может включать синтез специфических белков и ферментов, которые связывают или преобразуют токсичные соединения.

В условиях стресса *C. sorokiniana* может также подвергаться автофлокуляции (процесс, при котором клетки агломерируют и оседают на дно). Это облегчает последующее извлечение биомассы из воды и увеличивает эффективность очистки.

Оптимизация условий культивирования также играет важную роль в изменении обмена веществ. Использование добавок, таких как пиридоксин (витамин B_6) и перекись водорода, может стимулировать активность антиоксидантных ферментов и увеличить продукцию каротиноидов без значительного ущерба для клеток. Это создает условия для более эффективного удаления загрязнителей.

На рост водорослей влияют несколько факторов, в том числе состав среды, освещение, температура, источник азота, источник углерода, размер инокулята, аэрация, фотопериод, кислород, CO_2, pH, солёность и другие небиологические факторы [4].

Для выращивания оптимально нейтральное значение pH = 7, хотя водоросль способна переносить перепады до pH = 11,0-12,0.

Максимальное количество биомассы, полисахаридов и белков наблюдается при внесении источников азота (мочевины), источников углерода (глицерина и карбоната натрия), фосфора, магния и железа.

Chlorella sorokiniana может вытеснить аэробные и анаэробные бактерии в потреблении ацетата при гетеротрофном росте с использованием нестерилизованных сточных вод тёмной ферментации с выходом углерода 55% из ацетата, таким же образом может усваиваться и бутират. Концентрация бутирата выше 0,1 г/л подавляет рост микроводорослей, в то время как концентрация 0,3 г/л допустима при миксотрофном росте. Однако считается, что ингибирующее действие бутирата ослабевает в присутствии ацетата из-за первоначального накопления биомассы за счёт потребления ацетата и вторичного потребления бутирата для выработки энергии.

По результатам выращивания *C. sorokiniana* в течение 15 суток в BG-11 при интенсивности освещения 3000 люкс наблюдалась зависимость концентрации биомассы от температуры. При этом максимальная продуктивность была при 30°С. В сравнении наблюдается следующая зависимость: 30°С > 25°С > 20°С > 35°С [5].

При освещении 4000 люкс повышается производительность биомассы, при этом такие условия могут быть достигнуты в естественной среде, что указывает на то, что, оптимизация интенсивности освещения может снизить эксплуатационные расходы на электроэнергию.

Было замечено, что рост в гетеротрофных условиях (84,73 %) происходит намного быстрее, чем в миксотрофных условиях (<0,01 %) [2].

При рециркуляции среды до четырех раз, наблюдалось снижение скорости роста на 3-18%, соответственно, при этом содержание углеводов составляло 8–10%, а также присутствовали некоторые ингибирующие полиненасыщенные кислоты.

Небольшое наличие примесей тяжелых металлов положительно воздействует на рост биомассы. Однако для водоросли существует лимитирующее значение примесей, при котором численность популяции начинает уменьшаться. Противостоять этому и повысить производительность водоросли для биотехнологических применений можно благодаря использованию бактерий *Azospirillum brasilense Cd* и *Bacilus pumilus* ES4 [3].

Помимо фенотипических изменений обе бактерии вызывают увеличение количества общих липидов, общих углеводов и хлорофилла *a*. Совместная культура с бактерией *Azospirillum brasilense* снижает окислительный стресс у *C. sorokiniana* (воздействие меди и недостаток кислорода).

Таким образом, внесение бактериальных культур может помочь в регуляции численности *C. sorokiniana* при сильном увеличении концентраций примесей.

Было замечено, что возраст культуры влияет на эффективность флокуляции. Лучше всего флокуляция происходит при добавлении 200 мг $г^{-1}$ $AlCl_3$. Результаты флокуляции биомассы, собранной в конце периодического процесса, показали эффективность выше 99%. Однако неорганические флокулянты, такие как хлорид железа и алюминия могут приводить к загрязнению биомассы или надосадочной жидкости избытком поступающих ионов. С другой стороны, при очистке сточных вод загрязнение биомассы является второстепенной задачей, а избыток ионов в очищенной воде может быть удалён с помощью ионообменных колонн.

Для промышленного использования водоросли одним из самых перспективных способов является направленное культивирование в фитобиореакторах. Они позволяют создать контролируемые условия, ведущие к получению максимального количества биомассы. Более того, подвергая водоросль стрессовым условиям, можно добиться повышения синтеза каротиноидов, что делает биомассу ценным источником антиоксидантов, а высокие адаптивные свойства положительно сказываются на последующем выведении культуры из контролируемых условий в естественную среду.

Сотрудничество между биоперерабатывающими заводами и системами биологической очистки сточных вод для получения биомассы и биоэнергии является отличным вариантом для выращивания микроводорослей в различных условиях. Такой подход не только минимизирует потребление пресной воды, но и снижает затраты на внесение питательных веществ, а также способствует удалению азота и фосфора из сточных вод. В результате получается биомасса, которая может быть использована в качестве ресурса для биотоплива. Этот метод требует малых затрат электроэнергии и дает большой выход биомассы, которая может быть использована в качестве ресурса для биотоплива.

Список литературы:

1. Bulynina S.S., Ziganshina E.E., Ziganshin A.M. Growth Efficiency of *Chlorella sorokiniana* in Synthetic Media and Unsterilized Domestic Wastewater // BioTech. 2023. Vol. 12(3). Art. 53. 20 p. DOI:10.3390/biotech12030053
2. Lu T., Su K., Ma G. [et al.] The growth and nutrient removal properties of heterotrophic microalgae *Chlorella sorokiniana* in simulated wastewater containing volatile fatty acids. // Chemosphere. 2024. Vol. 358. Art. 142270 DOI: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142270
3. Nanda M., Jaiswal K.K., Kumar V. [et al.] Micro-pollutant Pb(II) mitigation and lipid induction in oleaginous microalgae *Chlorella sorokiniana* UUIND6. // Environmental Technology & Innovation. 2021. Vol. 23. Art. 101613. 10 p.
4. Taghavijeloudar M., Yaqoubnejad P., Amini-Rad H. [et al.] Optimization of cultivation condition of newly isolated strain *Chlorella sorokiniana pa.91* for CO_2 bio-fixation and nutrients removal from wastewater: Impact of temperature and light intensity. // Clean Techn Environ Policy. 2023. Vol. 25. P. 589-601. DOI: 10.21203/rs.3.rs-195210/v1
5. Yaqoubnejada P., Amini-Rada H., Taghavijeloudar M. Optimization of cultivation condition of newly isolated strain chlorella // Clean Technologies and Environment Policy. 2021. DOI: 10.21203/rs.3.rs-195210/v

УДК 631.4

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ИЗВЕСТИ И БИОПРЕПАРАТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Храпоничев Пётр Владимирович*, магистрант 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*

Калапкина Анастасия Михайловна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*

Травников Игорь Дмитриевич*, магистрант 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева*

(Научный руководитель – Селицкая Ольга Валентиновна, к.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева)

Аннотация: *Отходы от производства взрывчатых веществ, представляют собой серьезную экологическую проблему из-за их потенциальной токсичности и химической загрязнен-*

ности. Ведь в процессе производства взрывчатых веществ используются различные химические соединения, содержащие остатки взрывчатых веществ, химических реагентов, которые могут оказаться в сточных водах и накапливаться в осадке.

Ключевые слова: Осадок, взрывчатые вещества, биологическая активность, удобрения.

Сельское хозяйство сталкивается с множеством вызовов, связанных с устойчивым использованием земельных ресурсов. Одной из ключевых задач является повышение плодородия почвы, что напрямую влияет на урожайность и качество сельскохозяйственной продукции. Дерново-подзолистые почвы, широко распространенные в умеренных широтах, и часто страдают от повышенной кислотности и недостаточной биологической активности из-за применения пестицидов, что ограничивает их агрономическую ценность. В связи с этим, актуальной задачей является разработка и оптимизация методов агрохимической мелиорации.

Одним из способов оптимизации может являться переработка и последующее использование в сельском хозяйстве различных отходов промышленного производства. В том числе и осадка сточных вод от производства взрывчатых веществ. Осадки сточных вод — это продукт, который образуется в результате очистки сточных вод в очистных сооружениях.

Они содержат как органические, так и неорганические вещества, включая питательные вещества, которые могут быть полезны для сельскохозяйственных культур при правильном использовании.

Использование удобрений на основе осадка сточных вод — это практика использования обработанных осадков как источника питательных веществ для сельскохозяйственных культур. Этот метод может быть очень эффективным, так как осадок содержит азот, фосфор, калий, а также микроэлементы, такие как цинк и медь, которые необходимы для роста растений.

Поэтому важно упомянуть и об экологических последствиях: выбросы осадков в окружающую среду могут привести к загрязнению водных ресурсов и почвы. Что может оказывать негативное влияние на местные экосистемы и здоровье людей. Сама же обработка осадков сточных вод требует специализированных технологий и методов, направленных на устранение или минимизацию содержания вредных веществ. Это может включать физико-химическую очистку, биологическую обработку или другие технологии в зависимости от состава осадка.

В связи с этим, в данной работе будет рассмотрено удобрение на основе осадка сточных вод от производства взрывчатых веществ. Так как, при очистке осадка удобрения на его основе, могут содержать различные химические элементы, такие как азот, фосфор, калий и другие питательные вещества, которые могут быть использованы как основные ингредиенты при производстве удобрений.

Целью же данного исследования будет являться оценка потенциального влияния биопрепарата на основе осадка сточных вод от производства взрывчатых веществ, в сравнении со стандартным известковым NPK удобрением на агрохимическую и микробиологическую активность почвы.

В данном исследовании проводилась оценка изменения численности определенных групп почвенных микроорганизмов под влиянием различных доз удобрений.

Сам опыт проходил путем обработки пожнивных остатков различными дозами биопрепарата и извести (от нуля до трех) с последующей заделкой в почву на различную глубину (0-2см) и (0-20см).

При проведении исследований в полевых условиях, при мелкой заделке (0-2 см) численность всех исследованных групп микроорганизмов была выше, чем при более глубокой заделке (0-20 см), что можно объяснить более высокой численностью аэробных гетеротрофных микроорганизмов в верхних слоях почвы и лучшей аэрацией.

Особый интерес представляли целлюлозолитические микроорганизмы. Численность микроорганизмов этой группы имела тенденцию к снижению в вариантах с внесением извести. Внесение удобрения на основе осадка сточных вод во всех испытанных дозах не привело к существенному изменению численности этих микроорганизмов в образцах на момент анализа.

Культивируемые аммонификаторы были представлены бациллами, стрептомицетами и неспорообразующими палочковидными бактериями.

Так как почвенная микрофлора наиболее быстро и чутко реагирует на изменение условий при загрязнении.

Поэтому изменения в почвенной микрофлоре можно использовать для ранней диагностики антропогенного влияния

Аммонифицирующие бактерии, они же гнилостные, могут служить индикаторными микроорганизмами в почве если исследование связано с разложением растительных остатков. Среди микромицетов были выявлены грибы таких родов как: Aspergillus, Fusarium, Rhizopus. Целлюлозолитики были в основном представлены преимущественно стрептомицетами.

В варианте без удобрений разнообразие культивируемых микроорганизмов было выше, но доминировали бациллы. В вариантах с внесением удобрения на основе осадка сточных вод отмечено доминирование стрептомицетов, причем их доля увеличивалась в ряду: без удобрений - 1 доза -2 дозы.

А в варианте в 3 дозами – они обнаружены не были. Аналогично – вариант с внесением минеральных удобрений, где также стрептомицеты выявлены не были, а доминировали грибы рода Aspergillus.

Количество аммонифицирующих бактерий изменялось в зависимости от глубины заделки пожнивных остатков и дозы удобрения, наибольшие изменения были зафиксированы при внесении двух доз в обоих вариантах.

Наибольшие изменения в численности микромицетов были обнаружены в варианте с тремя дозами удобрения при мелкой заделке и варианте с применением одной дозы, при глубокой.

Таким образом, можно сделать вывод, что при данном типе обработке осадка сточных вод, применение его как удобрения будет оказывать положительный эффект как на микробное сообщество, катализируя процессы разложения растительных остатков, так и на кислотность среды почвы, действуя по схожему принципу, что и стандартные известковые удобрения.

Список литературы:

1. Мерзлая Г.Е., Зябкина Г.А., Нестеревич И. А., Фомкина Т.П. Агроэкологическая оценка использования осадка сточных вод // Агрохимия, 1995. №5.С. 102-108.

2. Методы и инженерные решения проблемы обработки и утилизации осадка сточных вод. М.: Прима-Пресс, 2000.

3. Докучаева Л.М., Юркова Р.Е., Шалашова О.Ю. О правилах проведения мероприятий по химической мелиорации почв // Пути повышения эффективности орошаемого земледелия. 2016. № 4(64). С. 177–182.

4. Лапа В.В. Система применения удобрений / В.В. Лапа. – Гродно, 2011.

5. Сабо Е.Д., Кормилицына О.Т. Биологическая активность дерново-подзолистых суглинистых почв и методы их микробиологической характеристики // Лесной вестник. – 2001. – № 1. – С.75-79.

Секция 5.
Современные проблемы и перспективы микробиологического синтеза

УДК 579.66

USE OF OIL-OXIDIZING MICROORGANISM FOR PRODUCTION PURPOSES

Davydov Vladislav Olegovich, *Postgraduate Student of the Department of Microbiology and Biotechnology Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, vladislav.davydov-23@yandex.ru*
(Head of Research – Drevko Yaroslav Borisovich, Cand. Sci. (Chem.), Assoc. Prof. at the Department of Microbiology and Biotechnology Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, drevko@list.ru)

Abstract: *The possibility of using microorganisms not only for oil biodegradation, but also for indicating oil pollution of soil and water volumes is truly relevant in the current time. The main objective of this study was to evaluate the assimilative capacity of one microorganism Pseudomonas Putida 02 from Ulyanovsk State Agrarian University based on a nutrient medium - meat-and-peptone agar with the addition of oil and resistance to various concentrations of oil when grown on a solid nutrient medium.*

Key words: biodestructor, oil-oxidizing microorganisms, watered unprepared oil, cultural characteristics.

Introduction

Oil pollution causes great damage to the environment and their elimination is complicated by the multitude of hydrocarbon compounds contained in oil. The possibility of using microorganisms not only for oil biodegradation, but also for indicating oil pollution of soil and water volumes is truly relevant in the current time.

In recent decades, there has been a demand for the development of biopreparations for the elimination of oil pollution. The diversity of hydrocarbon compounds entering the environment poses the task of developing a universal biodestructor with high assimilative capacity.

The possibility of using microorganisms to transform a mixture of organic compounds is disputed. It is generally accepted that any bacterial strain is capable of destroying a limited number of oil compounds, and that a consortium of microorganisms must be used to effectively use them. The limitations of this method are manifested by disadvantages resulting from cometabolism with the formation of unknown intermediate persistent and toxic compounds [1].

Biodestructors have taken a stable position in the field of industrial application. In 2016, the scientific center of LLC “Gazprom-VNIIGAZ” of PJSC “Gazprom” developed the oil biodestructor “BIOROS” based on the saprophytic microorganism Acinetobacter calcoaceticus. Its use is aimed at cleaning land, water bodies, industrial waste from oil, grease, gasoline, fuel oil and drilling waste. The decay products are organic acids, carbon dioxide and water [2].

In scientific research by A.A. Vetrova the activity of microorganisms was tested when adding 1,0% oil to a synthetic base for cultivation, followed by reseeding to determine the number of colony-forming units (CFU). The highest degree of oil destruction was found in a sample with a P. Chlororaphis strain. PCL1391 (pBS216) up to 47,7% [5].

In addition to the role of oil biodestructor, microorganisms can act as an indicator of oil pollution. Optimal conditions for oil-oxidizing microorganisms (OOM), including ambient temperature, affect the amount of OOM [3].

The possibility of cultivating microorganisms is represented by sampling contaminated soil and water in areas close to the place of oil production and processing. In laboratory conditions, microorganisms are grown in a minimum salt solution with the addition of 1% oil as the only source of carbon. Thus, way highlighted And researched Pseudomonas aeruginosa, Achromobacter sp. and Bacillus anthracis, Bacillus cereus, Aneurinibacillus migulanus, and Brevibacillus borstelensis [4,5].

The aim of this study was to investigate the assimilative capacity of the microorganism Ps. Putida in a nutrient medium containing oil from 5 vol.% to 25 vol.%.

Research methods and discussion

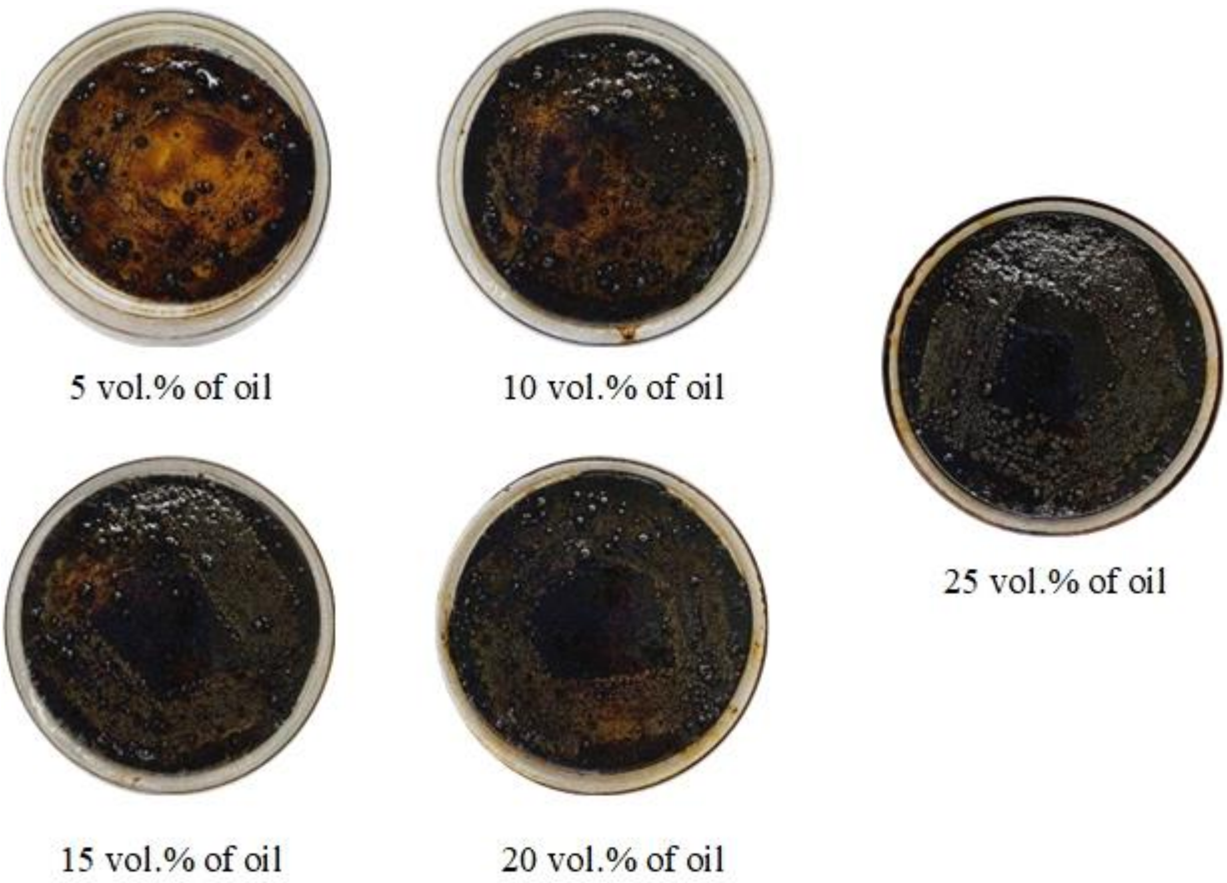
The work used a strain of bacteria Pseudomonas Putida 02 from Ulyanovsk State Agrarian University. Ps. Putida is an aerobe and the optimum temperature range for growth is from 28 to 30 ^{o}C.

In the study of assimilative capacity, a nutrient medium for determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs TU 9398-132-78095326-2011 and crude watered unprepared oil of LLC “UNIVERSE NAFTA” with a density of 900±32 kg/m^3 (based on the results of 3 measurements) were used.

Ps. Putida microorganism, in a lyophilized state, was transferred from a sealed ampoule into a sterile test tube with 10 ml of HMF broth. After 24 hours of cultivation, it was transferred to a Petri dish with meat-peptone agar to determine the purity of the culture by cultural and morphological characteristics.

Preparation of nutrient media with oil content from 5% to 25% by volume was carried out in sterile measuring cups by adding oil to meat-and-peptone agar, followed by mixing and transferring the medium to a Petri dish.

The daily culture was transferred from the MPB into Petri dishes with a nutrient medium containing oil.



The microorganism Ps. Putida, grown on MPA with the addition of 5-25 vol. % of oil.

The presented images clearly show colonies of the microorganism Ps. Putida, and for greater reliability and verification of the assimilative capacity, each sample containing oil was reseeded onto pure MPA.

Conclusions

The study of the assimilative capacity and resistance of the microorganism Ps. Putida to an oil-containing nutrient medium showed that the oil content does not affect the growth of the microorganism. From this, it can be assumed that the strain of the microorganism is capable of developing in a wide range of concentrations of oil products from 5 vol. % to 25 vol. %. Based on the above, the microorganism Ps. Putida can be considered a culture promising for use in the creation of biopreparations intended to combat remediation of environments contaminated with high concentrations of oil products.

References:

1. Pleshakova E.V. Introduction of oil-oxidizing microorganisms into contaminated soil: problems and prospects // Izvestiya Saratov University. A new series. Chemistry series. Biology. Ecology, 2011. - vol. 11. - pp. 102-111.
2. Gorobtsova N.S., Lyubskaya O.G. Comparative analysis of preparations for soil purification from oil sludge // Successes of modern science, 2018. - No. 1. - pp. 17-20.
3. Vetrova A.A., Nechaeva I.A., Ignatova A.A., Puntus I.F., Arinbasarov M.U., Filonov A.E., Boronin A.M. The effect of catabolic plasmids on the physiological pa-

rameters of bacteria of the genus Pseudomonas and the efficiency of biodegradation of oil // Microbiology, 2007. - Vol. 76, No.3. - pp. 354-360.
4. Koneva M.N., Stupnikova N.A. Oil-oxidizing microorganisms as indicators of oil pollution of watercourses in Petropavlovsk-Kamchatsky // International Scientific Research Journal, 2021. – №7 (109). – pp. 23-27.
5. Srwa A. Mohammed, Taha J. Omar, Ayad H. Hasan Degradation of crude oil and pure hydrocarbon fractions by some wild bacterial and fungal species // Molecular Networks. - 2023

УДК 579.64

СРАВНЕНИЕ ДИНАМИКИ ЛАККАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ PLEUROTUS PULMONARIUS, STECCHERINUM MURASHKINSKYI, TRAMETES HIRSUTA И CORIOLOPSIS CAPERATA НА СОДЕРЖАЩЕЙ СОЛОМУ СРЕДЕ

Алешкина Анастасия Вячеславовна*, магистрант 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ Во РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, awwanubiss@yandex.ru*
Снегирев Дмитрий Владимирович, *старший преподаватель кафедры микробиологии и иммунологии кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, antiminc@mail.ru*

Аннотация: *Разложение растительных материалов происходит преимущественно благодаря действию ферментов микроорганизмов, вызывающих деструкцию целлюлозы, гемицеллюлоз, лигнина. [6].*

В природе разложение целлюлозы происходит в результате симбиотического взаимодействия различных микроорганизмов и их сложных целлюлолитических систем.

Деструкция целлюлозы может происходить в аэробных и анаэробных условиях. Деструкторами целлюлозы в аэробных условиях являются грибы, истинные бактерии, миксобактерии, актиномицеты. [7],

Процессы деградации лигноцеллюлозного материала базидиомицетами включают действие сложного мультиферментного комплекса целлюлаз, гемицеллюлаз и лигниназ, что отражает сложность и комплексность деградируемого ими материала. Анализ литературы показывает, что в качестве грибов, способствующих ускорению компостирования, предлагается использовать плесневые грибы [1], Syncephalasrum recetosum [5], грибы рода Penicillium [2], консорциум, содержащий штаммы грибов родов Trichoderma, Ergillus, Penicillium и Trametes [3] и др.

Ключевые слова: базидиомицеты, целлюлоза, деструкция целлюлозы, ферменты, микроорганизмы.

Данные по ферментативным активностям, полученные при культивировании исследуемых штаммов, на несодержащей солому средах, принимали за контроль. Культивирование штаммов на содержащих солому средах условно обозначали как опыт. Исследование динамики лакказной активности проводили спектрофотометрически, используя в качестве субстрата сирингалдазина.

Ранее было показано, что при глубинном культивировании грибов *Pleurotus pulmonarius*, *Steccherinum murashkinskyi* и *Coriolopsis caperata* на оптимизированных методом многофакторного эксперимента средах уровни активности лакказы в культуральной жидкости *Coriolopsis caperata* и Steccherinum murashkinskyi значительно превышают таковые для *Pleurotus pulmonarius* на всем протяжении процесса культивирования. Профили активности у этих грибов схожи и максимум активности фермента наблюдается на 36 день культивирования, но при этом активность у *Coriolopsis caperata* в 11 раз, а Steccherinum murashkinskyi в 9 раз больше, чем у *Pleurotus pulmonarius*. Аналогичную динамику активности пероксидазы, причем активность в культуральной жидкости гриба *Coriolopsis caperata* в 10 раз, а *Steccherinum murashkinskyi* в 12 раз больше больше, чем у *Pleurotus pulmonarius*, что показывает практически одинаковую разницу в абсолютных значениях продукции ферментов лигнолитического комплекса данными штаммами.

Динамика лакказной активности при культивировании *Pleurotus pulmonarius* представлена на рис. 1. Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что профили ферментативной активности опыта и контроля схожи и основное отличие наблюдается в уровне продукции фермента. В течение 24 суток культивирования ферментативная активность контроля и опыта была практически одинакова, поскольку питательные вещества были в достаточном количестве. На 37 сутки наблюдался максимум активности как в опытных образцах, так и в контроле, при этом активность фермента в опытных образцах была больше почти в 3,5 раза. Возможно, это связано с тем, что в первые 24 дня грибом были утилизированы легкодоступные источники углерода и азота (богатая среда) и лишь затем процесс деградации соломы интенсифицировался, причем при деградации соломы грибами в экспериментных образцах образовались водорастворимые соединения, которые использовались в качестве источников углерода и азота. Вероятно, при этом также образовываются продукты разложения соломы, которые индуцируют биосинтез фермента данным штаммом.

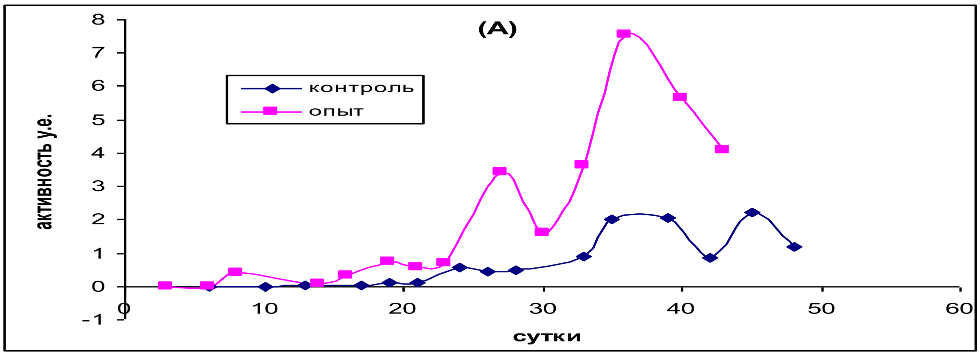


Рисунок 1 – Динамика лакказной активности при поверхностном культивировании *Pleurotus pulmonarius* на средах, содержащих солому

Динамика лакказной активности в процессе культивировании *Coriolopsis caperata*, *Steccherinum murashkinskyi* и *Trametes hirsuta* представлена на рисунках 2, 3 и 4. Как видно из представленных данных при культивировании идет ингибирование компонентами соломы или продуктами ее деградации примерно в 18, 2 и 13 раз для штаммов *Coriolopsis caperata*, *Steccherinum murashkinskyi* и Trametes hirsuta соответственно.

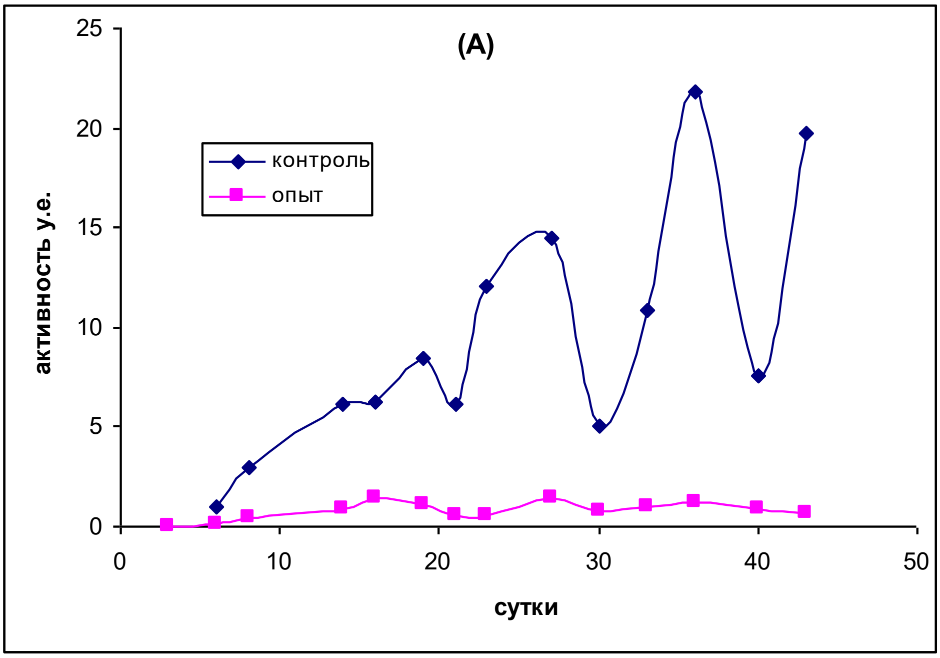


Рисунок 2 – Динамика лакказной активности *Coriolopsis caperata* при поверхностном культивировании

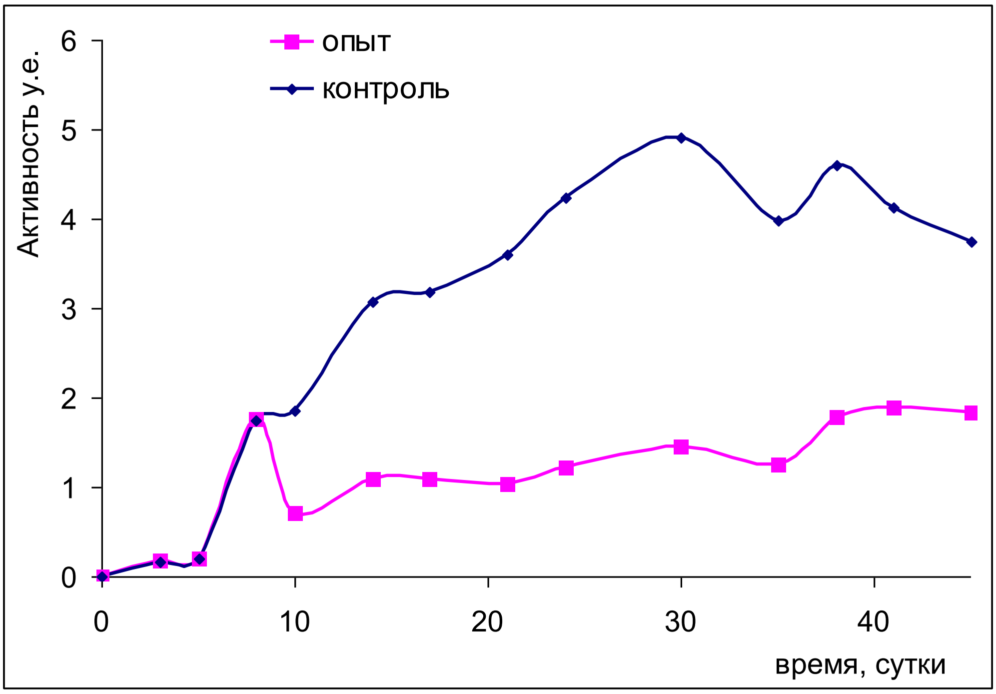


Рисунок 3 – Динамики лакказной активности *Steccherinum murashkinskyi* при жидкофазном культивировании

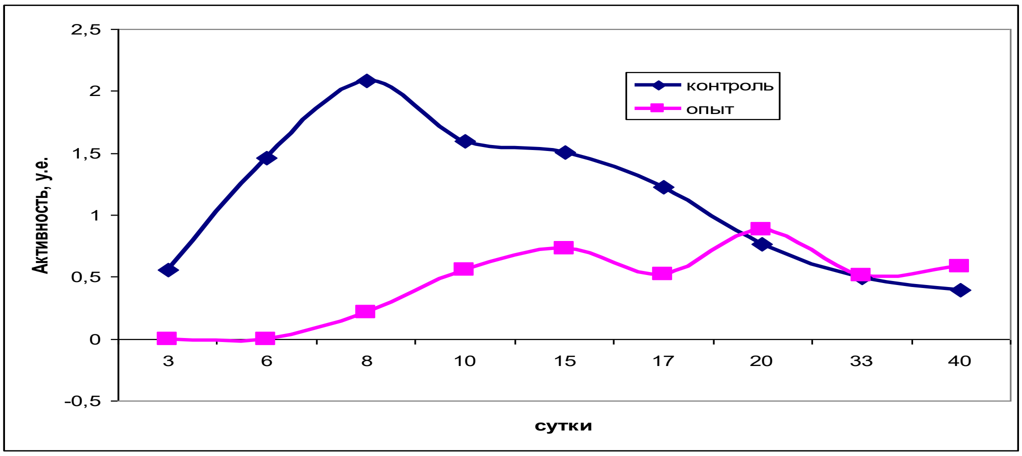


Рисунок 4 – Динамики лакказной активности *Trametes hirsute* при жидкофазном культивировании

Исходя из полученных данных можно сделать выводы, что профили активности схожи и отличаются уровнем ферментативной активности. Стоит отметить, что в данном случае наблюдается обратная картина, в контрольных образцах активность значительно выше – в 2-18 раза – чем в экспериментальных. Это может быть связано с тем, что в процессе деструкции соломы образуются соединения, которые ингибируют продукцию фермента-лакказы грибами *Coriolopsis caperata*, *Steccherinum murashkinskyi* и *Trametes hirsuta*.

Значительный интерес представляет сравнение динамики лакказной активности в экспериментальных образцах при культивировании *Coriolopsis caperata* и *Pleurotus pulmonarius*. Наблюдается, ингибирование лакказы *Coriolopsis caperata* соединениями, образующимися при биотрансформации соломы, причем степень ингибирования – 4 раза. обратный процесс наблюдается при культивировании *Pleurotus pulmonarius* – лакказная активность индуцируется продуктами биотрансформации соломы. Так, в момент максимальной активности уровни активности ферментов, продуцируемых *Pleurotus pulmonarius* и *Coriolopsis caperata*, различаются в 7,5 раз. При этом профили активностей обоих грибов совпадают.

Из полученных данных видно, что при росте на соломе гриба *Byssomerulius avellaneus* происходит индукция биосинтеза лакказы и ее активность увеличивается в 195 раз, аналогичная картина наблюдается и для базидиомицета *Irpicodon pendulus*, где увеличение составляет 27,5. Наибольшей разницей в ферментативных активностях при росте на богатой среде обладал Trametes versicolor, которая составила 233 раза.

Таким образом, грибы 1 группы, которые дают высокую продукция фермента при глубинном культивировании и достаточно высокую продукцию лакказ при поверхностном ингибируются продуктами деградации или компонентами соломы (образующимися при стерилизации субстрата в водной среде). однако базидиомицеты этой группы у которых низкий биосинтез лакказы при глубинном культивировании и достаточно высокий при глубинном культивировании в прилутствии соломы (*Pleurotus pulmonarius*) ведут себя аналогично грибам 2 группы, где активность фермента увеличивается в присутсвии соломы.

Список литературы

1. Vakhrushev A.; Volkov B. Method for processing sewage wastewater sediment into biohumus // RU2051137 – Дата публикации 1995-12-27.
2. Volchatova I.V.; Medvedeva S.A.; Kolomiets E.I.; Lobanok A.G. Method of organomineral fertilizer preparing // RU2192403 – Дата публикации 2002-11-10.
3. Iangui Lin; Yiming Wang. Agriculture castoff compost ternary microorganism composite microbial inoculum // CN101186879 – Дата публикации 2008-05-28.
4. Бондарцева М.А. Экоморфология грибов современная. // Микология в России тезисы докладов второго съезда микологов России - 2022 - Т. 2 - С.220-221
5. Головлева Л.А., Леонтьевский А.А. Биодеградация лигнина. // В кн.: Успехи микробиологии. М.: Наука. 1990. Т.24, с. 128-156.
6. Саловарова В.П., Козлов Ю.П. Эколого-биотехнологичекие основы конверсии растительных субстратов. // М: РУДН – 2021.- 331с.
7. Vinarov A.Ju.; Smirnov V.N.; Sokolov D.P.; Sementsov A.Ju.; Erina T.Eh. Manure water reprocessing method and apparatus // RU2186475 – Дата публикации 2002-08-10.

УДК: 547.485.-341.735

ВЛИЯНИЕ НЕОБРАБОТАННОГО ЯНТАРЯ И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ НА РЕАКЦИЮ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

Галкин Пётр Константинович, *студент 3 курса, направление подготовки 36.03.01 «Ветеринарно- санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. ptr.galkin.04@mail.ru*
Иванова Виталина Ивановна, *студент 3 курса, направление подготовки 36.03.01 «Ветеринарно- санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Vitalinalv11@yandex.ru*
Боненкова София Ивановна, *студент 3 курса, направление подготовки 36.03.01 «Ветеринарно- санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. bonenkova@icloud.com*
(*Научный руководитель – Свистунов Дмитрий Валерьевич, ассистент кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», dimitriisvist@mail.ru)*

Аннотация: *В работе представлены данные опытов по сравнительному изучению влияния* *янтарной кислоты и легких отрицательных ионов необработанного янтаря на миелограмму. Установлено стимулирование образования янтарной кислотой и необработанным янтарем образования в костном мозге клеток зернистого, эритроидного и лимфоидного ростков.*

Ключевые слова: янтарная кислота, необработанный янтарь, миелограмма, зернистый росток, эритроидные и лимфоидные клетки.

Введение. Янтарная кислота – естественный промежуточный продукт обменных процессов и встречается в каждой клетке тела. Она участвует в окислении пищевых веществ (углеводов, жиров и белков), при котором энергия этих соединений превращается в удобную для использования форму - энергию особых макроэргических связей в молекулах АТФ, белки, жиры и углеводы расщепляются до простых соединений: аминокислот, жирных кислот, глюкозы. При измельчении янтаря в порошке находиться свободная янтарная кислота. Сегодня установлено, что в янтаре содержатся вещества, способствующие поддержанию активности быстрого пути окисления субстратов в митохондриях. Установлено, что при добавлении в среду с митохондриями янтарной кислоты они начинают потреблять больше кислорода. При этом дыхание ускоряется только до какого-то предела и дальнейшее добавление янтарной кислоты не изменяет его интенсивности. Обнаружено, что янтарная кислота, введенная в организм, участвует в процессе клеточного дыхания и активирует его так же, как синтезированная внутри клеток. Ускоряя процессы дыхания в клетках, янтарная кислота снижает содержание в них невостребованного кислорода и, таким образом, уменьшает вероятность образования свободных радикалов. Влияние на организм янтарной кислоты зависит от состава и формы её препаратов, их дозы и состояния организма [1, 2, 3 ,4, 5].

Целью настоящих исследований явилось- изучить влияние разных форм введения янтарной кислоты на состояние миелограммы крыс.

Материал и методы исследований. Работа выполнялась на базе лаборатории микробиологии, иммунологии Башкирского госагроуниверситета и в Центре янтарного оздоровления объединения «Мелисса» (г. Уфа). В опытах по изучению влияния необработанного янтаря на процессы пролиферации и дифференциации клеток костного мозга были белые лабораторные крысы с 1-месячного возраста весом 55,0-60,0 г, полученные из питомника лабораторных животных ФГОУ ВПО «Микроген» - Иммунопрепарат. Крысы 1-й группы были контрольные. Они находились в одинаковых условиях кормления и содержания с животными 2-й и 3-й групп. Крысы 2-й и 3-й групп – опытные. Животные 2 группы 2 часа в сутки в течение 10 дней содержались в фанерном ящике, выстланным янтарем, размером 60×60×60 см., т.е. находились под влиянием лёгких отрицательных ионов, фитонцидов необработанного янтаря и аэрозолей янтарной кислоты (аэроионов янтаря). Крысам 3 группы в рацион вносили янтарный порошок в дозе 0,5 г на голову, 1 раз в день. Взятие материала для изучения миелограммы проводили до начала опытов, а затем через 3, 7, 15, 30, 50 дней.

Результаты исследований. Клетки зернистого ростка лейкоцитов в костном мозге крыс 1 контрольной группы, за период наших опытов, выделялись в пределах от 34,9 до 36,4%. В костном мозге животных 2 и 3 групп регистрировалась значительная активизация этих клеток. На 3 день опыта содержание клеток зернистого ростка лейкоцитов увеличилось в костном мозге крыс этих групп в 1,19 и 1,13 раза (на 7,0 и 4,8%). Эта тенденция нарастала по срокам опыта и к 7 дню уровень клеток зернистого ростка лейкоцитов в костном мозге крыс 2 и 3 групп был выше, чем в контроле, в 1,32 и 1,24 раза (на 11,6 и 8,9%), к 15 дню в 1,68 и 1,57 раза (на 23,8 и 19,9%), к 30 дню в 1,66 и 1,59 раза (на 24,0 и 21,4%), к 50 дню в 1,66 и 1,53 раза (на 23,4 и 18,9%). При этом описываемый показатель в костном мозге крыс 2 группы был незначительно, но достоверно выше, чем у животных 3 группы, на эти же сроки опыта, соответственно, в 1,05 раза (на 2,2%), в 1,06 раза (на 2,7%), в 1,07 раза (на 3,9%), в 1,04 раза (на 2,6%) и 1,08 раза (на 4,5%).

Данные, полученные при исследовании в миелограмме динамики изменения содержания клеток эритроидного ростка представлены в таблице.

Клетки эритроидного ростка в миелограмме крыс 1 контрольной группы, за период опыта, выделялись в пределах от 26,9 до 28,0%. Их значение в костном мозге крыс 2 и 3 групп в процессе опыта повышалось. Уровень клеток эритроидного ростка в костном мозге крыс 2 группы увеличился к 3 дню от начала опыта в 1,32 раза (на 9,0%), к 7 дню в 1,5 раза (на 13,5%), к 15 дню в 1,73 раза (на 19,9%), к 30 дню в 1,87 раза (на 24,6%), к 50 дню в 1,85 раза (на 23,3%). Подобным образом, несколько меньшими темпами, отмечалось повышения числа клеток эритроидного ростка в костном мозге крыс 3 группы. Их уровень превышал показатели животных 1 контрольной группы на 3 день опыта в 1,25 раза (на 7,1%), на 7 день в 1,44 раза (на 12,1%), на 15 день в 1,63 раза (на 17,2%), на 30 день в 1,78 раза (на 22,1%), на 50 день в 1,82 раза (на 22,4%).

Таблица – Влияние необработанного янтаря на динамику изменения содержания клеток эритроидного ростка в миелограмме крыс (%)

Группы животных	Стат. показатель	Фон	Сроки исследования в днях от начала опытов				
			3	7	15	30	50
1. Контроль	M	27,40	27,70	26,90	27,00	28,00	27,20
	D	1,71	2,46	1,93	2,65	1,26	1,73
	√5	2,236	2,236	2,236	2,236	2,236	2,236
	±m	0,76	1,10	0,86	1,18	0,56	0,77
	Cv, %	6,23	8,89	7,18	9,80	4,49	6,37
2. Легкие отрицательные ионы янтаря	M	27,30	36,70	40,40	46,90	52,60	50,40
	D	1,92	1,92	2,07	2,56	2,41	2,07
	√5	2,236	2,236	2,236	2,236	2,236	2,236
	±m	0,86	0,86	0,93	1,14	1,08	0,93
	Cv, %	7,05	5,24	5,13	5,46	4,58	4,11
	r		0,984	0,995	0,991	0,994	0,986
	td		6,44	10,65	12,09	20,24	19,20
	P		**	***	***	***	***

Продолжение таблицы

3. Янтарный порошок с кормом	M	27,00	34,80	39,00	44,20	50,10	49,60
	D	1,41	1,64	2,12	2,95	1,95	3,51
	√5	2,236	2,236	2,236	2,236	2,236	2,236
	±m	0,63	0,73	0,95	1,32	0,87	1,57
	Cv, %	5,24	4,72	5,44	6,67	3,89	7,07
	r		0,970	0,997	0,999	0,999	0,990
	td		5,36	9,43	9,71	21,30	12,80
	P		**	***	***	***	***

Содержание лимфоидных клеток в костном мозге крыс 1 контрольной группы, за период наших исследований, выделялось на уровне от 4,96 до 5,34%. Уровень клеток лимфоидного ряда в костном мозге крыс 2 и 3 групп, в процессе опытов, имел тенденцию к активному повышению. Их значения превышали показатели животных 1 группы к 3 дню опыта соответственно, в 1,54 и 1,41 раза (на 2,85 и 2,18%), к 7 дню в 1,94 и 1,7 раза (на 5,06 и 3,78%), к 15 дню в 2,66 и 2,33 раза (на 8,56 и 6,86%), к 30 дню в 2,54 и 2,18 раза (на 7,71 и 5,91%), к 50 дню в 2,23 и 1,76 раза (на 6,4 и 4,0%). При этом содержание лимфоидных клеток, во все сроки опыта, в костном мозге крыс 2 группы было выше, чем у животных 3 группы.

Заключение. Необработанный янтарь, испускающий легкие отрицательные ионы, выделяемые им фитонциды (аэроионы) и янтарная кислота активизируют в костном мозге процессы пролиферации клеток зернистого ростка лейкоцитов в 1,6 и 1,59 раза (на 24,0 и 21,4 %), эритроидного ростка – в 1,87 и 1,78 раза (на 24,6 и 22,1 %) и лимфоидных клеток – в 2,66 и 2,33 раза (на 8,56 и 6,86 %). Эти данные были также подтверждены в работах [3,4,5] на свиньях и крысах при экспериментальном гипотериозе и шумовом стрессе.

Список литературы:

1. Гоникман Э.И. Одежда и камни, которые лечат. – М., 2000, 266 с.
2. Маннапова Р.Т. Иммунитет, микробиоценоз и биохимические реакции при воздействии на организм необработанного янтаря Р.Т. Маннапова, Р.А. Рапиев. - Монография. - Москва .- 2009. - 188с.
3. Маннапова Р.Т. Коррекция биохимического статуса организма аэроионами янтаря / Р.Т. Маннапова, Р.А. Рапиев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. - Казань. - 2013. - Т.-213. - С.135-139
4. Рапиев Р.А. Влияние янтаря иммуноморфологическую перестройку лимфотических узлов крыс / Р.А. Рапиев, Р.Т. Маннапова // Морфологические ведомости. Международный морфологический журнал.-Москва-Берлин. - 2006. - №1-2. - С.242-243.
5. Рапиев Р.А. Экологичная коррекция необработанным янтарем гематологических показателей при экспериментальном гипотиреозе / Р.А. Рапиев // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. Том 114, выпуск 3, Приложение 1. Часть Экология, природные ресурсы. Рациональное природопользование. Охрана окружающей среды. - Москва. - 2009. - С.77-79

УДК 631.4

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОБОГАЩЁННОГО ЙОГУРТА С ОРЕГАО

***Дунченко Нина Ивановна**, д-р техн. наук, профессор, заведующая кафедрой Управления качеством и товароведение продукции ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, voloshina@rgau-msha.ru*

***Селицкая Ольга Валентиновна**, к.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, oselitskaya@rgau-msha.ru*

***Валаа Рашед**, аспирант кафедры Управления качеством и товароведение продукции ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева*

***Смирнова Екатерина Сергеевна,** студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, smirnovaes2003@mail.ru*

***Аннотация:** В статье представлены результаты исследований влияния внесения масла орегано в различных концентрациях на молочнокислых бактерий закваски в процессе ферментации и последующего хранения готового продукта.*

***Ключевые слова:** йогурт, масло орегано, молочнокислые бактерии*

Введение

Йогурт производится сквашиванием пастеризованного, гомогенизированного молока, в которое добавляют закваску. Йогуртовая закваска представляет собой культуры молочнокислых бактерий (*Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus*). Согласно ГОСТу РФ, с 1 января 2001 года только продукты, содержащие живые йогуртовые культуры и не прошедшие термическую обработку, могут называться «йогуртами». Поскольку йогуртная закваска добавляется после пастеризации, йогурт остается «живым». В этой связи в йогурте нормируется количество жизнеспособных клеток лактобактерий - не менее, чем 10^7 КОЕ/мл и бифидобактерий – не менее, чем 10^6 КОЕ/мл.

Все кисломолочные продукты улучшают аппетит, оказывают послабляющее действие, а также выводят радионуклиды, соли тяжелых металлов, токсины и шлаки. Таким образом, кисломолочные продукты улучшают пищеварительные процессы, снижают риск развития инфекционно-воспалительных и аутоиммунных заболеваний кишечника, а также могут применяться для лечения патологий желудочно-кишечного тракта. Кисломолочные напитки с бифидобактериями, которые являются нормальной микрофлорой кишечника, обладают биологической ценностью и терапевтическими свойствами. Бифидобактерии, содержащиеся в кисломолочных напитках, оказывают защитное действие и подавляют развитие многих патогенных микробов. Поэтому кисломолочные напитки с бифидобактериями являются эффективным средством в борьбе с дисбактериозами кишечника.

Йогурты, обогащенные различными добавками более ценны, особенно с точки зрения содержания соединений, способствующих укреплению здоровья, включая клетчатку, фенольные соединения, витамины, жирные кислоты и минералы. Правильно подобранная высококачественная растительная добавка может способствовать улучшению как общих, так и антиоксидантных свойств продукта (Wajs, J. et al.,2023).

Орегано или душица (*Origanum vulgare*) относится к эфиромасличным культурам и широко используется как приправа к различных блюдам, а также в медицине и парфюмерии. В литературе имеется множество статей, посвященных антимикробной активности эфирных масел, в частности растений семейства Яснотковые в отношении широкого спектра микроорганизмов (Seydim A.C.,2006).

Цель исследования: оценить влияние масла орегано на численность молочнокислых бактерий в процессе приготовления йогурта и при хранении готового продукта.

Объекты и методы

Для постановки опыта было использовано молоко отборное пастеризованное «Домик в деревне», жирность составляла 3,4-4,5%, без заменителя молочного жира. Производитель АО «Вимм-Билль-Данн». Также использовалась закваска «Натуральный биойогурт АктиБио», жирность которой составляла 3,5%, без вкусовых добавок, без лактозы. В качестве добавки было использовано масло орегано, состав которого в процентном соотношении составляет: 33% - масло дикого орегано, 66% - масло алтайского льна, 1% - желатин халяль.

Схема опыта включала следующие варианты:

1. Контроль (без добавок) содержит: 85% пастеризованного молока, 10% сухого обезжиренного молока, 5% йогуртовая закваска;_2. Йогурт с 0,5% маслом орегано содержит: 84,5% пастеризованного молоко, 10% сухого обезжиренного молока, 5% йогуртовая закваска, 0,5% масла орегано;_3. Йогурт с 1% маслом орегано содержит: 84% пастеризованное молоко, 10% сухого обезжиренного молока, 5% йогуртовая закваска, 1% масла орегано;_4. Йогурт с 1,5% маслом орегано содержит: 83,5% пастеризованное молоко, 10% сухого обезжиренного молока, 5% йогуртовая закваска, 1,5% масла орегано;_5. Йогурт с 2% маслом орегано содержит: 83% пастеризованное молоко, 10% сухого обезжиренного молока, 5% йогуртовая закваска, 2% масла орегано.

Все ингредиенты, кроме эфирного масла, смешивали, смесь разливали по 100 мл в стерильные контейнеры. Масло орегано добавляли непосредственно в контейнеры согласно схеме опыта. Образцы инкубировали в термостате при температуре 43±2°С. Через сутки убирали в холодильник, где хранили в течение 26 дней при температуре 4±2°С. Образцы на анализ отбирали через каждые два часа в процессе ферментации и на 1, 8, 15, 20 и 26 сутки хранения. Численность молочнокислых бактерий проводили методом посева на среду MRS.

Обсуждение

В результате проведенных исследований были получены следующие данные (рис.1):

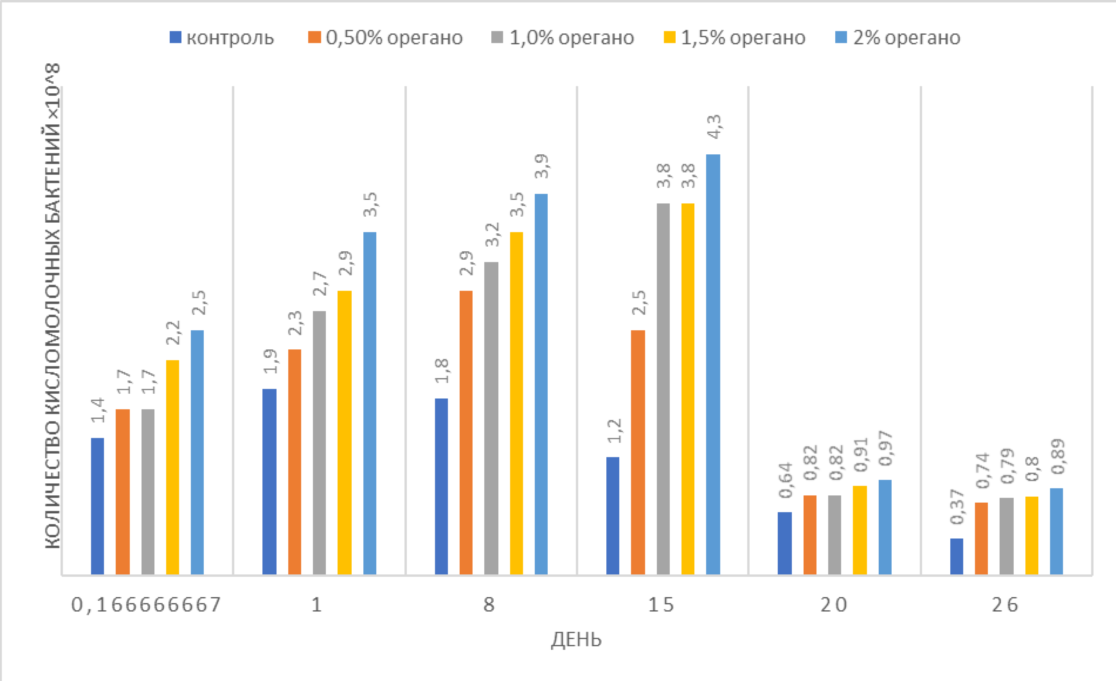


Рис 1- Изменение количества молочнокислых бактерий в йогурте с различным количеством масла орегано в процессе хранения

Добавление масла орегано не ингибировало рост молочнокислых бактерий закваски в процессе приготовления йогурта. Была выявлена тенденция, что с увеличением процентного содержания масла орегано возрастает и количество молочнокислых бактерий в продукте. С увеличением количества эфирного масла (0,5% 1,0% 1,5% 2,0%) в йогурте численность молочнокислых бактерий в продукте в процессе ферментации достигает более высокого уровня. Рост численности молочнокислых бактерий в течение 24 часов после начала сквашивания был зафиксирован во всех вариантах, включая контроль. Микроскопирование показало доминирование лактобацилл в образцах. На фотографии - препарат йогурта с 1% масла орегано при сквашивании 24 часа (рис.2).

Первые 8 дней хранения готового продукта численность молочнокислых бактерий находится примерно на уровне 10^8 КОЕ/мл. В вариантах с добавление орегано численность продолжала незначительно увеличиваться, в то время как в контрольном образце без масла орегано началось постепенное уменьшение количества микроорганизмов.

Через 15 дней было отмечено снижение численности молочнокислых бактерий не только в контроле, но и в вариантах с низким содержание эфирного масла (0,5 и 1,0%) в то время, как в вариантах с более высокими концентрациями (1,5 и 2,0%), численность не снижалась, а продолжала незначительно увеличиваться.

Через 20 дней хранения происходит резкое падение численности молочнокислых бактерий до уровня 10^7 КОЕ/мл. К 26 дню количество микроорганизмов уменьшилось еще в 1,5-2 раза, по сравнению с результатом, полученным на 20 день наблюдений.

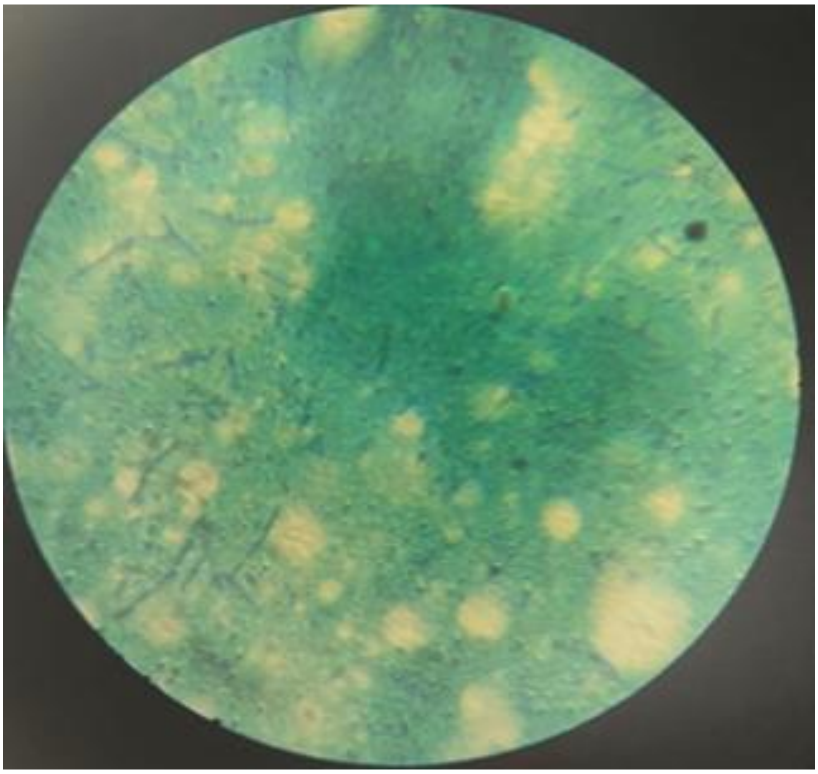


Рис 2- Фотография препарата йогурта с 1% масла орегано при сквашивании 24 часа

Выводы

Таким образом, установлено, что масло орегано в концентрациях 0,5 – 2,0% положительно влияет на процесс сквашивания. Показано, что жизнеспособность молочнокислых бактерий закваски при хранении йогурта с добавкой масло орегано – очень высокая, масло орегано положительно влияет на качество готового йогурта в процессе хранения.

Список литературы

1. Fujitoshi Yanogida, Yi-sheng Chen, Takashi Shinohara, 2005. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Soils in Vineyard, Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi. Journal of General Applied Microbiology, Vol 51, page 313-318.
2. Reddy, N.S., and Ranganathan, B. 1983. Purification and properties of antimicrobial substances produced by Streptococcus diacetylactis S1-67/C. Milchwissenschaft 38, 726-730
3. Cordain, L. et al. Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**, 341–354 (2005).
4. Marco, M. L. et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr. Opin. Biotechnol.* **44**, 94–102 (2017).

5. Seydim A.C., Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils/ Seydim A.C., Sarikus G.// Food Res Int. 2006;39:639–44.
6. Stefanovic, E., Fitzgerald, G. & McAuliffe, O. Advances in the genomics and metabolomics of dairy lactobacilli: a review. *Food Microbiol.* **61**, 33–49 (2017).
7. Wajs, J., Brodziak, A. and Król, J. Shaping the physicochemical, functional, microbiological and sensory properties of yoghurts using plant additives/ J. Wajs, A. Brodziak, and J. Król// Foods. 2023 №12(6). P.1275.

УДК 631.4

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В БАКТЕРИЯХ *RHODOCOCCUS RHODOCHROUS*, РЕГУЛИРУЕМАЯ МОЧЕВИНОЙ

Исаева Софья Максимовна, *студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, sofya.m.isaeva@gmail.com.*

Шемякина Анна Олеговна*, КК НБИКС НИЦ «Курчатовский институт», shemyakina.a.o@gmail.com.*

Гречишникова Елена Геннадьевна*, к.б.н., КК НБИКС НИЦ «Курчатовский институт», elena.g.grechishnikova@gmail.com.*

Лавров Константин Валерьевич*, к.б.н., КК НБИКС НИЦ «Курчатовский институт», lavrov.ko@gmail.com.*

Кожаева Оксана Владимировна*, магистрант 2 курса, ФГБОУ ВО МПГУ,* kozhaeva.oxanaw@gmail.com

Кореньков Сергей Алексеевич*, студент 4 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, korenkov-serezha@mail.ru*

Яненко Александр Степанович*, д.б.н., КК НБИКС НИЦ «Курчатовский институт», yanenko_as@nrcki.ru*

(Научный руководитель – Козлов Андрей Владимирович, д.б.н., доцент, заведущий кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.kozlov@rgau-msha.ru*)*

Аннотация: *Данная работа посвящена расширению набора регулируемых промоторов, пригодных для конструирования штаммов на основе бактерий Rhodococcus, активно использующихся в биоремедиации и биокатализе. В работе исследуется мочевино-зависимая регуляция активности промотора генов нитрилгидратазы P_{nh} в штаммах Rhodococcus rhodochrous M8 и M33. Штамм M8 демонстрирует увеличение нитрилгидратазной активности в 33 раза при наличии мочевины, тогда как штамм M33 показывает лишь 21% индукцию. Похожие результаты были получены при исследовании влияния мочевины на экспрессию гена ациламидазы под контролем промотора P_{nh} в составе автономной плазмиды pRY3-P_{nh}-aam: ациламидазная активность в M8 pRY3-P_{nh}-aam индуцируется в 3,6 раза при 10% индукции в M33 Δfull pRY3-P_{nh}-aam. Полученные результаты закладывают основу удобной экспрессионной системы для изучения амид-зависимой регуляции промотора P_{nh}.*

Ключевые слова: *Rhodococcus,* промотор нитрилгидратазы, регуляция экспрессии, мочевина.

Введение

Бактерии рода *Rhodococcus* – неспорообразующие, аэробные грамположительные кокки, относящиеся к отделу актинобактерий. Для *Rhodococcus* характерно разнообразие уникальных катаболических ферментов, позволяющих преобразовывать большое количество естественных и ксенобиотических органических соединений. Другой особенностью является прочная клеточная стенка, благодаря которой клетки *Rhodococcus* механически устойчивы в агрессивных средах. Благодаря этому бактерии рода *Rhodococcus* обладают высоким биотехнологическим потенциалом и нашли свое применение в биоремедиации и биокатализе [3, 5]. Конструирование и улучшение промышленных штаммов требует регулируемой экспрессии рекомбинантных генов в этих бактериях.

Для такой экспрессии требуются высокоактивные промоторы, активность которых регулируется добавкой недорогих веществ в среду для выращивания бактерий. Конструирование генетических кассет, осуществляющих такую экспрессию, осуществляется из фрагментов ДНК, содержащих промотор и ген транскрипционного регулятора, специфичный для этого промотора. Для *Rhodococcus* таких наборов «промотор-регулятор» известно и изучено крайне мало [1, 9]

В одной из описанных в *Rhodococcus* систем с высокоактивной регулируемой экспрессией задействован промотор генов нитрилгидратазы (далее - НГ) P_{nh} из штамма *R. rhodochrous* M8 [2]. Из всех внутриклеточных растворимых белков доля целевого белка, ген которого располагается под данным промотором, составляет 30-50%. Активность P_{nh} зависит как от присутствия мочевины, недорогого соединения, производящегося в промышленных масштабах, так и от присутствия ионов кобальта [11]. Изучена и разработана регулируемая присутствием ионов кобальта экспрессия генов под контролем P_{nh} [7]. Однако, в силу токсичности кобальта, использование такой регуляции в промышленности не желательно. Мочевина, в силу своей доступности и нетоксичности, могла бы быть практически применимым регулятором экспрессии генов, поставленных под контроль P_{nh}. Для разработки экспрессионной системы, регулируемой мочевиной, не хватает информации о гене (генах) – транскрипционных регуляторах активности P_{nh}.

Известен штамм *R. rhodochrous* M33, полученный из штамма M8 с помощью адаптивной лабораторной эволюции [6]. Отличительно чертой M33 в сравнении с штаммом M8 является сниженная регуляция НГ активности мочевиной [13]. Также в НГ опероне в штамме M33 отсутствуют функциональные гены *nhmC* и *nhmD* (см рис.). Ближайшие гомологи генов *nhmCD* – гены *nhhCD* из штамма *R. rhodochrous* J1, которые участвуют в амидной регуляции НГ активности [4]. Это позволяет предположить, что *nhmCD* вовлечены в аналогичный процесс в штамме M8.

В данной работе исследуется регуляция экспрессии генов под контролем промотора P_{nh} мочевиной в штаммах *R. rhodochrous* M8 и M33 с помощью разных репортеров и в разной локализации (хромосома/плазмида).

Методы

Таблица

Штаммы и плазмиды, использованные в работе

Штамм/плазмида	Генотип	Фенотип	Источник
M8	*nhmBAG*[1], *nhmCD*[2]	Природный почвенный изолят, обладает НГ активностью, регулируемой мочевиной	[10]
M33	*nhmBAG, ΔnhmCD*	Производный штамма M8, обладает НГ активностью со сниженной регуляцией мочевиной	[13]
M8 pRY3-P_{nh}-aam	*nhmBAG, nhmCD* кассета P_{nh}-aam в составе автономной плазмиде	Обладает НГ и ациламидазной активностями, регулируемыми мочевиной	Эта работа
M33 Δfull pRY3-P_{nh}-aam	Δ*nhmBAG*, Δ*nhmCD* кассета P_{nh}-aam в составе автономной плазмиде	Обладает ациламидазной активностью, слабо регулируемой мочевиной	[6]
pRY3-P_{nh}-aam	Автономная плазмида, содержит репликон pRC4 для репликации в Rhodococcus, кассету P_{nh}-aam[3]-cblA[4]	–	[6]

[1] *nhmBAG* – гены бета- и альфа-субъединц НГ и ген активатора НГ

[2] *nhmCD* – предполагаемые гены мочевино-зависимых регуляторов

[3] *aam* – ген ациламидазы [8],

[4] *cblA* – ген кобальт-зависимого транскрипционного репрессора [7]

Культивирование бактерий и измерение оптической плотности (ОП) суспензий. Клетки выращиваются в жидкой минерально-синтетической (MS) среде со следующим составом: Na2HPO4 · 12H2O, 2,8 г/л; KH2PO4, 0,8 г/л; MgSO4 · 7H2O, 0,5 г/л; FeSO4 · 7H2O, 0,005 г/л; CoCl2 · 6H2O, 0,01 г/л; глюкоза, 5 г/л (pH 7.0-7.2). При выращивании штаммов, содержащих автономные плазмиды, в среду добавляется дрожжевой экстракт, 1 г/л и апрамицин, 100 мкг/мл. В качестве источника азота варьируется: мочевина, 6 г/л или NH_4NO_3 2 г/л.

В пробирки объемом 40 мл добавляют 5 мл среды и суспензию клеток до конечной ОП 0,08, и инкубируют со встряхиванием со скоростью 300 оборотов в минуту при 30°C.

ОП суспензий клеток измеряется на планшетном спектрофотометре, в объёме пробы 300 мкл, при длине волны 492 нм и длине пути 8 мм (высота жидкости в лунке планшета).

Измерение ациламидазной (Аам) активности клеток. Методика основана на способности ациламидазы гидролизовать 4'-нитроацетанилид (НАА) до уксусной кислоты и окрашенного продукта - п-нитроанилина (НА).

Для измерения активности в микропланшетах проводятся последовательные трехкратные разведения суспензий клеток в буфере Tris HCl. После инкубации при 37°С в течение 15 минут к разведениям добавляется нагретый до 37°С НАА. Смесь инкубируется при температуре 37 °С в течение 20 минут. Реакция останавливается центрифугированием при температуре 0 °С в течение 2 минут при 3700 об/мин. После центрифугирования определяется концентрация НА в надосадочной жидкости. Определение проводится с использованием планшетного спектрофотометра при длине волны 405 нм и длине пути около 7 мм. Одна единица удельной ациламидазной активности соответствует количеству мкмоль НА, синтезированному 1 мг сухого веса клеток за 1 минуту (мкмоль/мг с.в.*мин).

Измерение нитрилгидратазной (НГ) активности. Методика основана на способности нитрилгидратазы гидролизовать акрилонитрил (АН) до акриламида (АА) с максимумом поглощения в УФ спектре.

Для измерения НГ активности клетки промываются и ресуспендируются в фосфатном буфере (pH 7.5). В лунке микропланшета смешиваются 100 мкл суспензии клеток с оптической плотностью 0,05 ед и 100 мкл раствора 2% АН. Реакция проходит в течение 5 минут при комнатной температуре и останавливается добавлением 100 мкл 1,7% соляной кислоты. 100 мкл смеси переносятся в планшет для измерения ОП и готовятся последовательные трехкратные разведения в дистиллированной воде. ОП измеряется при длине волны в 235 нм в объеме 200 мкл на планшетном спектрофотометре. Одна единица удельной НГ активности соответствует количеству мкмоль АА, синтезированному 1 мг сухого веса клеток за 1 минуту (мкмоль/мг с.в.*мин).

Электротрансформация клеток Rhodococcus rhodochrous.

Во время электротрансформации электрокомпетентные рецепиентные клетки поглощают плазмидную ДНК под воздействием электрического импульса.

Компетентные клетки хранятся в кельвинаторе при -80°С. Перед электротрансформацией клетки размораживаются в ледяной бане в течение 2-3 минут. К свежеразмороженной суспензии добавляется раствор очищенной плазмидной ДНК, охлажденный до 0°С. Смесь инкубируется в ледяной бане в течение 1 минуты. Порация проходит в ледяной кювете шириной 2 мм при 2500 V. Сразу после импульса клетки переносятся в 900 мкл среды LB (состав: триптон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, хлористый натрий – 5 г/л) и подвергаются термошоку при 40°С в течение 10 мин. Затем клетки инкубируются на качалке при 600 оборотов в минуту в течение 2 часов. Полученные клетки распределяют шпателем на агаризованной селективной среде LB (агар-агар 20 г/л) с антибиотиком (апрамицин 100 мкг/мл).

Результаты и обсуждение

Сравнение нитрилгидратазной активности в штаммах Rhodococcus rhodochrous M8 и M33. Влияние мочевины на активность P_{nh} в штаммах М8 и М33 оценивали по уровню активности НГ, служившей в данном случае репортёрным геном (рис. А). Культуры штаммов выращивали на минимальной среде MS с глюкозой, и мочевиной или нитратом аммония в качестве единственного источника азота. Среда содержала также $CoCl_2$ что было необходимо как для формирования активного белка НГ, так и для снятия кобальт-зависимой репрессии P_{nh}.

ОП культуры и удельную НГ-активность клеток измеряли в динамике, в течение 70 ч. Показана индукция НГ активности штамма М8 в 33 раза в присутствии мочевины, в то время как в штамме М33 показана индукция в 21% (кратность в 1,2 раза) (см рис. В). При этом уровень НГ активности штамма М8 в присутствии мочевины составлял 46% от индуцированного уровня активности штамма М33.

Получение штамма M8 pRY3-P_{nh}-aam. Для дальнейшего исследования амид-зависимой регуляции промотора P_{nh} в клетках *R. rhodochrous* удобнее использовать систему экспрессии на автономной плазмиде, основанную на цветной ферментативной реакции. Для конструирования такой системы мы использовали автономную плазмиду pRY3-P_{nh}-aam, в которой под контролем P_{nh} помещен ген ациламидазы из штамма *R. erythropolis* TA37 [8] и присутствует ген *cblA*, кобальт-зависимого репрессора промотора P_{nh} (рис. Б). Ранее в нашей лаборатории был сконструирован штамм M33 Δfull pRY3-P_{nh}-aam, в котором делетированы гены нитрилгидратазы в хромосоме и присутствует плазмида pRY3-P_{nh}-aam. Для сравнения влияния мочевины на активность P_{nh} в штаммах М8 и М33 по репортерной активности ациламидазы был получен штамм M8 pRY3-P_{nh}-aam методом электропорации.

Сравнение ациламидазной активности в штаммах Rhodococcus rhodochrous M8 pRY3-P_{nh}-aam и M33 Δfull pRY3-P_{nh}-aam. Культуры штаммов M8 pRY3-P_{nh}-aam и M33 Δfull pRY3-P_{nh}-aam выращивали на минимальной среде MS с мочевиной или нитратом аммония в качестве единственного источника азота. Для снятия кобальт-зависимой репрессии P_{nh} и более корректного сравнения с вышеописанным опытом в среда также добавили $CoCl_2$.

ОП культуры и удельную ациламидазную активность измеряли в динамике в течение 94 ч. Ациламидазная активность штамма M8 индуцировалась мочевиной в 3,6 раз, в штамме M33 Δfull активность индуцировалась на 10% (1,1 раза) (см рис. Г). В отличии от регуляции НГ активности в штамме M8, уровень активности репортерного фермента в штамме M8 pRY3-P_{nh}-aam в условиях индукции достигал уровня M33 Δfull pRY3-P_{nh}-aam и значительно меньше репрессировался в отсутствии мочевины. Сниженная кратность регуляции в обоих плазмидных штаммах может быть связана с повышенной копийностью промотора по сравнению с копийностью предполагаемых регуляторных генов.

Заключение

В данной работе детально изучена индукция мочевиной нитрилгидратазной активности в штаммах *R. rhodochrous* M8 и M33. Показано, что регуляция мочевиной сохраняется при замене репортерного гена под контролем промотора P_{nh}, а также при переносе экспрессионной кассеты на автономную плазмиду pRY3. Дальнейшая работа будет направлена на разработку экспрессионной системы на основе плазмиды pRY3 и репортерного гена *aam*, содержащая различные комбинации генов *nhmCD* в составе экспрессионной кассеты. Это позволит выявить роли белков NhmC и NhmD в транскрипционной регуляции промотора P_{nh} и приблизит нас к получению промышленных штаммов *R. rhodochrous* с новыми удобными способами регуляции целевой активности.

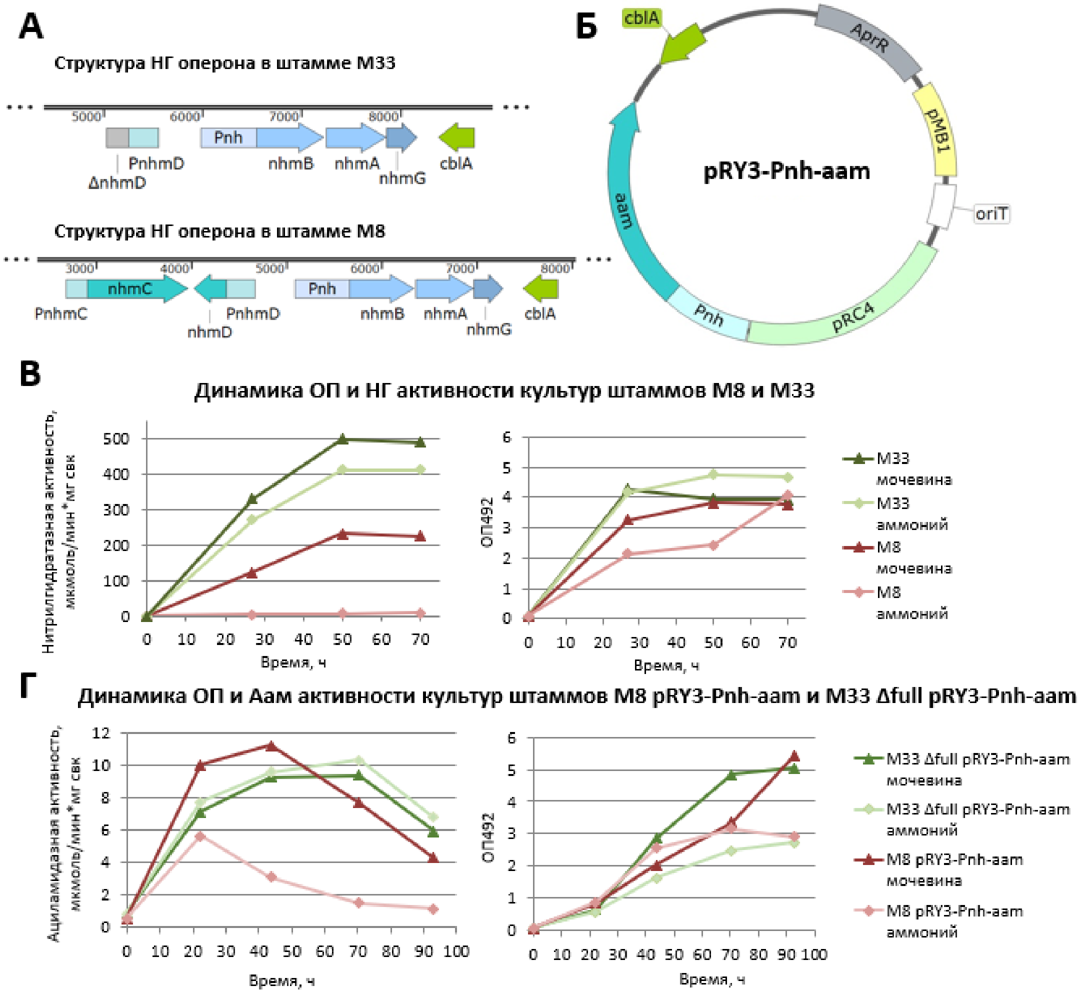


Рисунок. **А.** Структрура НГ оперона в штаммах М8 и М33. **Б.** Структура плазмиды pRY3-Pnh-*aam*. pMB1 - репликон для поддерждания в *E.coli*; pRC4 - репликон для поддержания в *R. rhodochrous*; oriT - ориджин переноса; AprR - ген устойчивости к апрамицину. **В**. Графики нитрилгидратазной активности и роста штаммов Rh. rhodochrous M8 и M33. **Г**. Графики ациламидазной активности и роста штаммов *Rh. rhodochrous* M8 pRY3-Pnh-aam и M33 Δfull pRY3-Pnh-aam. Значения рассчитаны как средние из двух независимых

Список литературы:

1. DeLorenzo D.M., Moon T.S. Construction of genetic logic gates based on the T7 RNA polymerase expression system in *Rhodococcus opacus* PD630 // ACS Synthetic Biology. - 2019. - №8 (8). - С. 1921-1930.

2. Grechishnikova E.G., Shemyakina A.O., Novikov A.D., Kalinina T.I., Lavrov K.V., Yanenko A.S. Structure of the Regulatory Region of Nitrile Hydratase Genes in *Rhodococcus rhodochrous* M8, a Biocatalyst for Production of Acrylic Heteropolymers // Microbiology. - 2024. - №93 (4). - С. 472-477.

3. Jiao S., Li F., Yu H., et al. Advances in acrylamide bioproduction catalyzed with *Rhodococcus* cells harboring nitrile hydratase // Applied Microbiology and Biotechnology. - 2020. - №104 (3). - С. 1001-1012.

4. Komeda H., Kobayashi M., Shimizu S. A Novel Gene Cluster Including the *Rhodococcus rhodochrous* J1 *nhlBA* Genes Encoding a Low Molecular Mass Nitrile Hydratase (L-NHase) Induced by Its Reaction Product// The journal of biological chemistry. - 1996. - №271 (26). - С. 15796-15802.

5. Krivoruchko A., Kuyukina M., Ivshina I. Advanced *Rhodococcus* biocatalysts for environmental biotechnologies // Catalysts. - 2019. - №9 (3). - С. 236–236.

6. Lavrov K. V., Shemyakina A. O., Grechishnikova E. G., Gerasimova T. V., Kalinina T. I., Novikov A. D., Leonova T. E., Ryabchenko L. E., Bayburdov T. A., Yanenko A. S. A new concept of biocatalytic synthesis of acrylic monomers for obtaining water-soluble acrylic heteropolymers // Metabolic Engineering Communications. - 2024. - №18

7. Lavrov K. V., Shemyakina A. O., Grechishnikova E. G., Novikov A. D., Derbikov D.D., Kalinina T. I., Yanenko A. S. New *cblA* gene participates in regulation of cobalt-dependent transcription of nitrile hydratase genes in *Rhodococcus rhodochrous* // Research in Microbiology. - 2018. - №169. - С. 227-236.

8. Lavrov K.V., Zalunin I.A., Kotlova E.K. Yanenko A.S. A new acylamidase from *Rhodococcus erythropolis* TA37 can hydrolyze N-substituted amides // Biochemistry (Moscow). - 2010. - №75. - С. 1006-1013.

9. Nakashima N., Tamura T. A novel system for expressing recombinant proteins over a wide temperature range from 4 to 35 ^{o}C. // Biotechnology and bioengineering. - 2004. - №86 (2). - С. 136-148.

10. Pogorelova T.E., Ryabchenko L.E., Sunzov N.I., Yanenko A.S. Cobalt-dependent transcription of the nitrile hydratase gene in *Rhodococcus rhodochrous* M8 // FEMS Microbiology Letters. - 1996. - №144 (2-3). - С. 191-195.

11. Shemyakina A. O., Grechishnikova E. G., Novikov A. D., Asachenko A. F., Kalinina T. I., Lavrov K. V., Yanenko A. S. A Set of Active Promoters with Different Activity Profiles for Superexpressing *Rhodococcus* Strain // ACS Synthetic Biology. - 2021. - №10 (3). - С. 515-530.

12. Shemyakina A. O., Grechishnikova E. G., Novikov A. D, Lavrov K. V., Yanenko A. S. Genomic analysis of adaptive laboratory evolution of Rhodococcus rhodochrous strains – biocatalysts for acrylic monomers production // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure / Systems Biology (BGRS/SB-2024): The Fourteenth International Multiconference (August 5–10, 2024, Novosibirsk, Russia) : Ab-

stracts . - Novosibirsk: Inst. of Cytol. and Genetics, Sib. Branch of the Russ. Acad. of Sci.; Novosib. State Univ., 2024. - С. 1469-1471.
13. Yanenko A.S., Astaurova O.B., Gerasimova T.V., Polyakova I.N., Pogorelova T.E., Paukov V.N. Regulation of nitrile utilization in Rhodococcus // Biotekhnologiya. - 1995. - №0. - С. 7-8.

УДК 631.452

РОЛЬ КОРИНЕБАКТЕРИЙ В МОЛЕКУЛЯРНОМ СИНТЕЗЕ

Козлов Андрей Владимирович, *д.б.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a_v_kozlov@mail.ru*
Милькина Анастасия Антоновна, *магистрант 1 курса Института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, anastasia.milkina02@mail.ru*
Березка Алексей Эдуардович, *магистрант 1 курса Института агробиотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, kafka-aphorism@yandex.ru*
Морозов Федор Владимирович, *магистрант 1 курса кафедры почвоведения, геологии и ландшафтоведения ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, fedor20165265@gmail.com*

Аннотация: *В докладе рассматривается роль коринебактерий в молекулярном синтезе аминокислот и их значимость в биотехнологической промышленности. Коринебактерии, как грамположительные бактерии, обладают способностью эффективно продуцировать аминокислоты, такие как глутаминовая кислота и лизин, посредством ферментации. Обсуждаются генетические и биохимические аспекты их метаболических путей, а также методы улучшения штаммов для повышения производительности. Важно отметить, что оптимизация синтеза данных соединений имеет большое значение для пищевой и кормовой индустрий. В заключении подчеркивается потенциал дальнейших исследований в области генетической модификации коринебактерий для улучшения их производственных характеристик и расширения спектра синтезируемых веществ.*

Ключевые слова: коринебактерии, аминокислоты, ферментация.

Введение

Коринебактерии представляют собой род грамположительных бактерий, имеющих важное значение в области биотехнологии, особенно в контексте промышленного синтеза аминокислот. Будучи природными продуцентами ряда аминокислот, такие виды, как Corynebacterium glutamicum, нашли широкое применение в ферментационной промышленности для массового производства глутаминовой кислоты и лизина.

Общие микробиологические характеристики

Коринебактерии являются частью семейства Corynebacteriaceae. Они характеризуются рядом уникальных микробиологических особенностей: имеют палочковидную или слегка искривлённую, V-образную, форму; толстую клеточную стенку; не образуют спор; являются аэробами и факультативными анаэробами, то есть способны жить как в присутствии кислорода, так и в его отсутствие, используя процессы ферментации; некоторые виды требуют специфических витаминов или аминокислот для роста.

Распространенность в природе

Коринебактерии имеют широкое распространение в природе: в почве и воде, где участвуют в разложении органического материала и круговороте питательных веществ, так через почвы может происходить взаимодействие с растениями; нередко эти бактерии обнаруживаются на поверхности кожи и в организмах животных, взаимодействуя с их микробиомом; кроме того некоторые виды являются частью нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек человека, например, Corynebacterium diphtheriae, которые могут стать патогенными в определенных условиях.

Генетические аспекты синтеза

Молекулярный синтез в коринебактериях осуществляется посредством сложных метаболических путей, которые могут быть оптимизированы с помощью генетической инженерии. Центральное значение в регулировании синтеза аминокислот играет генетический аппарат коринебактерий, включающий в себя уникальные транскрипционные механизмы и специфические ферменты. Для повышения эффективности синтеза глутаминовой кислоты и лизина современные исследования сосредотачиваются на модификации ключевых генов, контролирующих их биосинтетические пути. Например, путем отключения генных регуляторов, отрицательно влияющих на уровень продукции, или введения новых генов, способствующих повышению выхода целевых продуктов, удается значительно увеличить производительность штаммов.

Биохимические механизмы

Коринебактерии играют важную роль в разнообразных биогеохимических процессах, в том числе в азотном и углеродном циклах, благодаря своим ферментативным способностям. Их широкая распространенность и разнообразие позволяют успешно использовать их в различных областях промышленности. Отличительными чертами коринебактерий являются их метаболические пути, они могут использовать глюкозу через гликолиз и пентозофосфатный путь, при этом у них отсутствует классический путь Эмбдена-Мейергофа, и клеточная стенка, которая содержит уникальные липиды, включая коринемиколовую кислоту, именно она придаёт им определённую устойчивость к физическим и химическим воздействия, так коринебактерии проявляют естественную устойчивость к определённым антибиотикам. Многие виды коринебактерий, особенно Corynebacterium glutamicum, обладают способностью к синтезу аминокислот, таких как глутаминовая кислота и лизин, что делает их ценными в промышленном производстве аминокислот. Также коринебактерии синтезируют ферменты, такие как каталазу, обычно негативны на оксидазу, что позволяет им защититься от окислительного стрессового воздействия. Некоторые коринебактерии требуют специфических ростовых факторов, таких как витамины или минеральные соли, для оптимального размножения. Эти биохимические свойства играют ключевую роль в экологической адаптации коринебактерий и открывают новые возможности для их использования в биотехнологии и медицине. С точки зрения биохимии, коринебактерии обладают сложными ферментативными системами, которые обеспечивают эффективную конверсию субстратов в целевые аминокислоты. Так, ферментативные активности могут регулироваться уровнем доступных предшественников и энергетических ресурсов клетки, а также внешними факторами, такими как температура и pH среды. Коринебактерии способны выживать в условиях с низким значением pH, что позволяет им существовать в различных экологических нишах.

Коринебактерии и промышленность

На протяжении нескольких десятилетий коринебактерии остаются одними из основных микроорганизмов в биотехнологической промышленности. Они используются для производства пищевых добавок, кормовых компонентов и других продуктов, имеющих широкий спрос на мировом рынке. Высокий уровень их устойчивости и адаптивности позволяет эффективно применять их в различных условиях промышленного производства.

Потенциал дальнейших исследований

Несмотря на достигнутые успехи, исследование коринебактерий как организмов для синтеза различных соединений продолжается. Одной из главных задач остается расширение генетического инструментария для более точного и безопасного редактирования их геномов, а также работа над повышением устойчивости к неблагоприятным условиям среды.

Заключение

Роль коринебактерий в молекулярном синтезе невозможно переоценить. Их природная способность к биосинтезу ценных аминокислот и возможность генетической модификации делают эти микроорганизмы уникальным инструментом в арсенале современной биотехнологии. В совокупности с развитием новых методов генетического и биохимического анализа это создает широкие перспективы для будущих инноваций в этой области.

Список литературы:

1. Becker J., Rohles C.M., Wittmann C. Metabolically engineered Corynebacterium glutamicum for bio-based production of chemicals, fuels, materials, and healthcare products / J. Becker, C.M. Rohles, C. Wittmann // Metab Eng. – 2018. – Vol. 50. – P. 122–141
2. Burkovski A. Cell envelope of corynebacteria: structure and influence on pathogenicity / A. Burkovski // Journal. – 2013. – January 21
3. Corynebacterium [Электронный ресурс] // LPSN.dsmz.de. – Режим доступа: https://lpsn.dsmz.de/genus/corynebacterium
4. Fudou R., Jojima Y., Seto A., Yamada K., Hiraishi A., Yamanaka S. Corynebacterium efficiens sp. nov., a glutamic-acid-producing species from soil and vegetables / R. Fudou и др. // Journal. – 2002. – July
5. Jesus H.N.R. et al. Pan-genomic analysis of Corynebacterium amycolatum gives insights into molecular mechanisms underpinning the transition to a pathogenic phenotype / H.N.R. Jesus и др. // Front Microbiol. – 2022. – Vol. 13. doi: 10.3389/fmicb.2022.1011578

УДК 57.081

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В ПРОМЫШЛЕННОМ ПОЛУЧЕНИИ ПИЩЕВОГО БЕЛКА

Николаенко Артём Андреевич, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Arte.agct@gmail.com*

Логинова Марина Игоревна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, mi_loginova@mail.ru*

Яникеева Татьяна Сергеевна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева* tanya123yan@gmail.com

Суханова Ирина Максимовна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. lifebe82@mail.ru*

(Научный руководитель – Чередниченко Михаил Юрьевич, к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, cherednichenko@rgau-msha.ru)

Аннотация: *В статье приведены цели использования белка микроводорослей, рассматриваются методы осаждения и разрушения их клеточных стенок, современные способы отделения и концентрирования белка с учетом масштабирования процессов. Описаны преимущества и недостатки использования микроводорослей для получения белка.*

Ключевые слова: микроводоросли, белок, экстракция, очистка белка, белковый концентрат, аминокислоты.

Введение

По данным методических рекомендаций ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологий» физиологическая суточная потребность в белке для взрослого мужчины составляет от 75 до 114 грамм, для женщины от 60 до 90 грамм. В организме человека белок гидролизуется до аминокислот, а затем в результате процесса трансляции в клетках человека из аминокислот образуются новые белковые макромолекулы.

По прогнозам Всемирной организации здравоохранения, к 2050 году население Земли составит 9,5 млрд. человек. Закономерно увеличится и спрос на белок, что приведёт к увеличению объёмов производства и влияния сельского хозяйства на окружающую среду. В результате деятельности АПК в воздух попадает большое количество парниковых газов (только на долю животноводства приходится около 12 %). При чрезмерном использовании азотных удобрений происходит загрязнение грунтовых вод, использование пестицидов приводит к гибели различных организмов. При горении отходов животноводства образуются мелкозернистые частицы, что может сказаться на здоровье человека [1]. Также деятельность традиционной агроиндустрии требует колоссальных объёмов воды и территорий пахотных земель.

В связи с этим актуален поиск новых экологически чистых возможностей крупномасштабного производства белка.

Белок микроводорослей

Содержание белка у отдельных видов микроводорослей может достигать 71 % (*Arthrospira* sp. 46-71 %, *Synechococcus* sp. 63 %). Для сравнения, содержание белка в курином мясе варьирует от 17 до 24 %, в говядине – от 18 до 23 %, в молоке составляет 3 %, в куриных яйцах – около 13 % от сухой массы [4]. Белок микроводорослей содержит все незаменимые аминокислоты, однако в зависимости от вида содержание каждой из них может отличаться от эталонного значения как в большую, так и в меньшую сторону. По предложению ФАО/ВОЗ в качестве эталонного значения принимают белок куриного яйца. Например, *Arthrospira platensis* содержит валина больше, чем белок куриного яйца, но изолейцина там меньше. [4]

Методика получения белка микроводорослей

Осаждение микроводорослей. После достижения микроводорослями определённой концентрации их осаждают различными методами. Один из методов – флокуляция. Поверхность клеточной стенки микроводорослей водорослей имеет заряд, за счёт этого они отталкиваются друг от друга. При добавлении различных веществ (флокулянтов) таких как хитозан, происходит нейтрализация поверхностного заряда клеток и образование флоккул. В результате микроводоросли осаждаются из раствора в виде хлопьев. Также похожий эффект могут дать методы коагуляции, автофлокуляции, биофлокуляции и электрофлокуляции. Например, при добавлении в раствор микроорганизмов флокулянтов с полярными зарядами клеточной стенки можно получить осадок из смеси. Коагуляция может быть вызвана большим давлением газов, добавлением катионов металлов или сильным изменением pH раствора. Также используют методы флотации, центрифугирования и фильтрации.

Разрушение клеточных стенок. Среди методов разрушения клеточной стенки микроводорослей выделяют механические и немеханические методы. К механическим методам можно отнести использование гомогенизаторов низкого и высокого давления, бисерные мельницы, мельницы с вибрирующими сосудами. Механические методы могут сравнительно просто масштабироваться. Немеханические методы разрушения – ферментные, химические, использование ионных жидкостей, осмотического шока, ультразвука или микроволн. [2]

Отделение белка. После разрушения клеток нужно перевести белки в раствор, т.е. создать такие условия, чтобы белок перешёл из сцепленного состояния внутри клетки в состояние типа белок-вода. Для этого можно использовать, например, подсаливание. При добавлении небольших концентраций солей повышается растворимость и концентрация белка в растворе. Также для увеличения растворимости белков можно создать условия, при которых pH раствора будет сильно отличаться от изоэлектрических точек этих белков, в зависимости от вида микроводоросли будет наблюдаться определённый диапазон изоэлектрических точек, например, у *Haematococcus pluvialis* он составляет от 5 до7, а у *Chlorella vulgaris* от 4 до 5,5 (основная группа) и 6-8 (минорная группа). Этот метод легко масштабировать [2]. Высокой эффективностью и масштабируемостью обладает трёхфазный метод разделения.

Концентрирование белка микроводорослей. Для получения белковых концентратов или изолятов используют:

- осаждение белков трихлоруксусной кислотой или сульфатом аммония (использование этого метода в рамках получения белка для пищевых целей сопряжено с дополнительными этапами очистки),
- ультрафильтрацию через полупроницаемую мембрану (метод позволяет очистить белок от примесей без использования дополнительных химических веществ),
- сублимационную сушку путём удаления воды при низких температурах (это, с одной стороны, полезно, учитывая термочувствительность белков, но с другой – повышает концентрацию солей и может вызвать изменение pH и денатурацию белка),
- наиболее перспективную именно в контексте пищевого производства распылительную сушку (горячий воздух проходит через распылённый раствор с белком, в результате чего раствор высушивается; процесс происходит настолько быстро, что может использоваться для сушки термочувствительных веществ [2]).

Наличие в концентрате белков с молекулярной массой менее 50 кДа приводит к появлению неприятного вкуса и запаха, это нужно учитывать при производстве концентрата в пищевых целях [3].

Преимущества и недостатки использования микроводорослей для получения белка

Производство микроводорослей имеет ряд неоспоримых преимуществ:

- низкое потребление пресной воды (особый интерес представляют виды, обитающие в морях и океанах, культивирование которых возможно вообще без использования пресной воды, что открывает новые возможности для выращивания),
- повышенная эффективность фотосинтеза и фиксации CO_2 (до 10 %) (это способствует более быстрому накоплению биомассы по сравнению с другими высшими растениями,
- выращивание микроводорослей в фотобиореакторах закрытого типа позволяет получать концентрат растительного белка в условиях, непригодных для возделывания, с минимальным воздействием на окружающую среду).

Однако выращивание микроводорослей обходится дорого, требует высокотехнологичного оборудования и специально обученного персонала, а также затрат на электроэнергию.

Заключение

Микроводоросли обладают большим потенциалом в качестве производителей белка. Благодаря увеличению объёмов производства, созданию более эффективных штаммов, разработке эффективных и недорогих методов экстракции и концентрации белка можно добиться значительного удешевления белкового концентрата. Удешевление методов производства позволит увеличить спрос на белковый концентрат.

Список литературы:
1. Жусупова А.К., Хамзина С.Р. Влияние сельского хозяйства на окружающую среду // Наука и образование сегодня. 2021. №5 (64). С. 14-15.
2. Amorim M.L., Soares J., Reis Coimbra J.S. dos [et al.] Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020. Vol. 61(12). 28 p.
3. Andreeva A., Budenkova E., Babich O. [et al.] Production, Purification, and Study of the Amino Acid Composition of Microalgae Proteins // *Molecules*. 2021. Vol. *26*. *Art.* 2767. 15 p.
4. Williamson E. Et al. Microalgae: Potential novel protein for sustainable human nutrition // Trends in Plant Science. 2024. Vol. 29. №. 3. P. 370-382.

УДК 633.11(631.8)

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДОВ НА ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН ПШЕНИЦЫ

Сидяков Дмитрий Юрьевич*, студент 1 курса института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева, dim.sidyakov@gmail.com*
(Научный руководитель – Шитикова Александра Васильевна, д.с-х.н., профессор кафедры растениеводства и луговых экосистем ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, plant@rgau-msha.ru)

Аннотация: *Исследование проводилось в 2024 году в рамках лабораторного эксперимента в Российском государственном аграрном университете - Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева (Москва). Применение комплекса коротких пептидов позволило повлиять на интенсивность прорастания семян, оказав положительное влияние на морфометрические параметры проростков яровой пшеницы.*

Ключевые слова: пептиды, пшеница, энергия прорастания, всхожесть, посевные качества

Короткие пептиды содержат фундаментальную молекулярную информацию, за счет этого в настоящее время ученые всего мира используют их уникальные свойства в научных разработках, определяя им большие перспективы в инновационной промышленности. В последнее время короткие пептиды привлекают все большее внимание ученых в области биологии, химии и медицины благодаря своим свойствам. Их ценят как новые и эффективные терапевтические средства с уменьшенными побочными эффектами. Их структурное разнообразие в сочетании с гибкостью конформации используется для контроля взаимодействий с определенными участками молекул-мишеней. Пептиды проявляют высокую селективность благодаря специфичным взаимодействиям со своими мишенями. Более того, количество исследований по изучению действия коротких пептидов, участвующих в важных биологических процессах, неуклонно растет [1,2]. Растения сталкиваются с рядом серьезных абиотических стрессов, включая колебания температур, чрезмерное засоление, засуху, наводнения, присутствие токсичных тяжелых металлов в почве и дефицит важнейших питательных веществ, жизненно важных для поддержания жизни растений. Эти факторы могут оказывать неблагоприятное воздействие на физиологические функции растений, снижая способность растения вызывать иммунные реакции или реакции на стресс, тем самым приводя к существенному снижению как общей урожайности, так и качества растений [3]. Многочисленные небольшие пептиды были идентифицированы как регуляторы механизмов толерантности, помогающие растениям адаптироваться к разнообразным абиотическим стрессам [3,4]. Цель исследования: установить влияние коротких пептидов KE и AEDG на посевные качества семян и показатели роста на начальных этапах онтогенеза на зерновки пшеницы мягкой (Triticum aestivum L.), сорта Свеча.

Материалы и методы: Исследования по влиянию применения коротких пептидов на посевные качества семян пшеницы проводили в 2024 году, использовали растительный материал зерновок мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Свеча, сорт среднерослый, раннеспелый, натура зерна 770 г/л, стекловидность 55-57%, содержание сырой клейковины первой группы качества 30%, масса 1000 зерен 34,0 г.

Объекты исследования: Дипептид KE в концентрациях: 10^{-6}; 10^{-9}; 10^{-12};10^{-15} г/л. Тетрапептид AEDG в концентрациях: 10^{-6}; 10^{-9}; 10^{-12};10^{-15} г/л.

Форма пептидов – лиофилизат (порошок). Контроль –дистиллированная вода. Предпосевную обработку семян короткими пептидами осуществляли по технологии «протравливание с увлажнением» [5]. Испытания проводили на естественном инфекционном фоне. Для проведения испытаний использовали семена, доведенные до посевных кондиций. Кондиционными считают семена, по своим характеристикам отвечающие действующему на данный момент ГОСТу. Посевные качества семян определяли путем размещения 100 штук семян в четырех повторениях в чашках Петри с влажным фильтром. Исследуемые препараты применяли в концентрациях 10-6; 10-9; 10-12; 10-15 г/л, одновременно при закладке эксперимента. Посевные качества семян (энергию прорастания, всхожесть) определяли в соответствии с ГОСТ 12038-84. Энергию прорастания регистрировали у семян пшеницы на 3 сутки. Всхожесть регистрировали на 7 сутки. Определяли массу ростков и корней, высоту ростков, число и длину корней. Всхожесть и энергию прорастания семян вычисляли в процентах. За результат анализа принимали среднее арифметическое результатов определения всхожести всех проанализированных проб, с учетом отклонений в соответствии с ГОСТ используя ПО Straz.

Исследования по влиянию применения коротких пептидов на посевные качества семян пшеницы позволили установить следующую закономерность: применение комплекса коротких пептидов позволило повлиять на интенсивность прорастания семян, оказав положительное влияние на морфометрические показатели проростков (рисунок).

Рисунок - Влияние дипептида КЕ на энергию прорастания зерновок яровой мягкой пшеницы сорта Свеча, %
Примечание: данные на графиках представлены как среднее арифметическое значение и стандартное отклонение. * - $p < 0.05$ по сравнению с контролем.

Отмечено существенное повышение энергии прорастания семян яровой мягкой пшеницы на 12-40 % по сравнению с контрольным вариантом. Наиболее высокие значения по показателю энергии прорастания отмечены при применении КЕ в концентрациях $1*10^{-9}$ г/л, $1*10^{-12}$ г/л, показатели энергии прорастания в этом варианте составляли 87% и 83% соответственно. Таким образом, пептид КЕ в концентрациях 10^{-9}, 10^{-12}, 10^{-15} г/л стимулировал энергию прорастания пшеницы и не влиял на всхожесть, а в наиболее высокой концентрации (10^{-6} г/л) не влиял на энергию прорастания пшеницы и снижал ее всхожесть.

Пептид КЕ во всех исследуемых концентрациях, кроме 10-6 г/л, стимулировал энергию прорастания в среднем в 2 раза по сравнению с контролем. На всхожесть применение пептида КЕ не оказывало влияния, за исключением варианта с концентрацией 10-6 г/л, где всхожесть достоверно снижалась на 8,5% по сравнению с контролем.

При обработке тетрапептидом AEDG во всех исследуемых концентрациях наблюдалось увеличение энергии прорастания пшеницы в 2-2,3 раза по сравнению с контролем. На всхожесть пептид AEDG не оказывал значимого влияния.

Наиболее отзывчивыми на обработки пептидами являлись зерновки пшеницы в следующих вариантах: масса 100 штук корней увеличивалась при обработке дипептидом КЕ на 48…245% (на 1,7…4,9 г) по сравнению с контролем; при обработке тетрапептидом AEDG на 6…47% (на 3,6..7,3 г). Наиболее выраженным эффектом в отношении массы 100 корней пшеницы обладали концентрации КЕ 10^{-9}, 10^{-12}, 10^{-15} г/л. На длину корней пептид не оказывал значимого влияния за исключением варианта с добавлением пептида в концентрации 10^{-9} г/л (таблица).

Таблица

Влияние пептидов на посевные качества семян и показатели роста на начальных этапах онтогенеза пшеницы (среднее значение по повторностям)

вариант	энергия прорастания, %	всхожесть, %	масса 100 ростков, г	масса 100 корней, г	высота ростка, см	число развитых корней, шт	длина развитых корней, см
St пшеница	36	94	6,30	3,36	9,21	5,10	7,13
AEDG 10^{-6}	71	87	6,79	8,95	8,74	5,05	6,69
AEDG 10^{-9}	81	90	9,27	10,75	12,47	4,95	7,81
AEDG 10^{-12}	70	90	8,21	6,97	11,60	5,05	8,29
AEDG 10^{-15}	83	89	8,04	9,32	11,56	4,95	7,36
KE 10^{-6}	44	86	8,00	5,13	10,72	5,20	7,17
KE 10^{-9}	87	93	6,62	8,34	11,34	5,00	8,39
KE 10^{-12}	83	88	7,66	7,07	11,01	5,05	7,15
KE 10^{-15}	81	90	7,94	6,79	11,65	5,00	8,14

При этом отмечено существенное увеличение длины корней на 17% (на 1,3 см) при обработке дипептидом KE в концентрации $1*10^{-9}$ г/л; на 16% (на 1,2 см) при обработке тетрапептидом AEDG в концентрации $1*10^{-12}$г/л .

Высота ростка увеличивалась при снижении концентрации дипептида KE на 16..26% (на 1,5..2,4 см); при применении тетрапептида AEDG на 33…35% (на 3,3..2,4 см). Масса ростков (100 штук) зерновки увеличивалась по сравнению с контролем на 27% (на 1,4..1,6 г) (дипептид KE).

Заключение: Проведенные исследования показали, что применение комплекса коротких пептидов позволило повлиять на интенсивность прорастания семян, оказав положительное влияние на морфометрические показатели проростков яровой мягкой пшеницы. Дипептид KE во всех исследуемых концентрациях, кроме 10-6 г/л, значимо повышал энергию прорастания яровой мягкой пшеницы в среднем в 2 раза по сравнению с контролем, но не влиял на всхожесть пшеницы, за исключением варианта с концентрацией 10-6 г/л, где происходило снижение всхожести пшеницы на 8,5% по сравнению с контролем. Отмечена стимуляция прироста массы корней проростков – в 1,5-2,5 раз по сравнению с контролем. На длину корней пептид KE оказывал влияние только в концентрации 10-9 г/л, увеличивая этот показатель на 17% по сравнению с контролем. На число корней проростков, высоту и массу проростков дипептид KE не оказывал влияния. Наиболее отзывчивыми на обработки пептидами являлись зерновки пшеницы: масса 100 штук корней увеличивалась при обработке дипептидом KE на 48…245% (на 1,7…4,9 г) по сравнению с контролем; при обработке тетрапептидом AEDG на 6…47% (на 3,6..7,3 г). При этом отмечено существенное увеличение длины корней на 17% (на 1,3 см) при обработке дипептидом KE в концентрации $1*10^{-9}$ г/л; на 16% (на 1,2 см) при обработке тетрапептидом AEDG в концентрации $1*10^{-12}$ г/л. Высота ростка увеличивалась при снижении концентрации дипептида KE на 16..26% (на 1,5..2,4 см); при применении тетрапептида AEDG на 33…35% (на 3,3..2,4 см). Масса ростков (100 штук) зерновки увеличивалась по сравнению с контролем на 27% (на 1,4..1,6 г).

Список литературы:

1. Apostolopoulos V. et al. A global review on short peptides: frontiers and perspectives //Molecules. – 2021. – Т. 26. – №. 2. – С. 430
2. Kim, J.S., Jeon, B.W. & Kim, J. Signaling peptides regulating abiotic stress responses in plants. Frontiers in Plant Science, 2021,12, 704490
3. Casal, J.J. & Balasubramanian, S. Thermomorphogenesis. Annual Review of Plant Biology, 2019, 70, 321–346.
4. ГОСТ 12038–84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести: дата введения 1986–07–01. – М.: Стандартинформ, 2011. – 11 с
5. Руководство по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве: производственно-практ. издание. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2018. – 220 с

УДК 631.87:636.085

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Яникеева Татьяна Сергеевна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, tanya123yan@gmail.com.*
Суханова Ирина Максимовна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Lifebe82@mail.ru.*
Николаенко Артём Андреевич, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, arte.agct@gmail.com.*
Логинова Марина Игоревна, *студент 2 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, mi_loginova@mail.ru.*
(Научный руководитель – Чередниченко Михаил Юрьевич, к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, cherednichenko@rgau-msha.ru)

Аннотация. *В данной работе рассматриваются различные возможности применения микроводорослей и цианобактерий в сельском хозяйстве с использованием методов биотехнологии.*

Ключевые слова: микроводоросли, цианобактерии, сельское хозяйство, микробиология, биотехнология.

Применение микроводорослей и цианобактерий в сельском хозяйстве стало одним из важных трендов в последние годы. Сегодня эти микроорганизмы используются как добавки в пищу, корм для различных животных, сырье для производства биоудобрений и так далее. Они обладают рядом практических преимуществ по сравнению с другими источниками биотехнологического сырья: высокая скорость роста, необходимость в небольших посевных площадях, легкость культивирования – им нужно лишь свет, вода, углекислый газ и минеральные соли [2].

Основные этапы обработки биомассы микроводорослей включают в себя выращивание, сбор и добычу [5].

Микроводоросли и цианобактерии содержат незаменимые аминокислоты, углеводы, витамины, каротиноиды, фикобилипротеины, а также биотин. Кроме того, они содержат длинноцепочечные ненасыщенные жирные кислоты, включая омега-6 и омега-3 [2].

Жидкие культуры и порошки из микроводорослей применяются в пищевой индустрии. Их используют для обогащения различных продуктов (молочные, мясные, хлебобулочные) с целью увеличения содержания витаминов и придания желеобразных свойств конечному изделию. Микроводоросли применяются в качестве загустителей, стабилизаторов и красителей в пищевой промышленности [2].

Цианобактерии *Arthrospira platensis* имеют высокую пищевую ценность благодаря высокому содержанию белка, витаминов (включая B_{12}), ненасыщенных жирных кислот, пигментов, минеральных веществ и углеводов. Биомасса *Arthrospira platensis* может быть использована для получения экстракта С-фикоцианина, который можно использовать в качестве синего красителя в напитках и других продуктах вместо синтетических красителей. Кроме того, экстракт имеет флуоресцентные и антиоксидантные свойства. Кроме того, цианобактерии этого вида используют в лечебном питании, как БАДы, для кормления младенцев и как стимуляторы роста растений [2, 3].

Микроводоросли рода *Chlorella* также отличаются высоким содержанием белка, включающего все необходимые аминокислоты, в том числе незаменимые. Кроме того, хлорелла содержит значительное количество ионов K^+, Na^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}. Выращивание при низкой яркости света способствует накоплению в биомассе *Chlorella sp.* ценных ненасыщенных жирных кислот, включая α-линоленовую кислоту. В 1 г сухого вещества также присутствует 1000-1600 мкг каротина (провитамина А), 2-18 мкг витамина В1, 21-28 мкг витамина В2, 9 мкг витамина В6, 0,025-0,1 мкг витамина В12, 1300-1500 мкг витамина С, 1000 мкг провитамина D, 6 мкг витамина К, 110-180 мкг витамина РР, 10-350 мкг витамина Е, 12-17 мкг пантотеновой кислоты, 485 мкг фолиевой кислоты, 0,1 мкг биотина, 22 мкг лейковорина. Преимущество хлореллы заключается в возможности легкой регулировки содержания полезных веществ при изменении условий ее выращивания. Когда хлорелла вырастает на питательной среде, насыщенной азотом, она накапливает в основном белки; при недостатке белка – жиры и углеводы; а при добавлении ацетата и глюкозы к среде происходит увеличение содержания каротиноидов. Количество витаминов (как в клетках, так и в среде культивирования) варьирует в зависимости от условий выращивания и стадии развития хлореллы. По качеству производимых веществ (витаминов, белков) микроводоросли рода *Chlorella* превосходят все известные кормовые и пищевые продукты. Хлореллу применяют в производстве хлеба, мороженого, кондитерских изделий для обогащения пищевых продуктов полезными веществами. Добавление этих микроводорослей к муке в соотношении 1:10 позволяет получать продукты, содержащие от 22 до 29 г белка на каждые 100 г продукта. Введение микроводорослей *Chlorella* в рацион животных позволяет сократить смертность детенышей до минимума, предотвращает дефицит витаминов, у птиц помогает в быстром оперении, увеличении массы яиц и содержании каротина, что приводит к уменьшению смертности цыплят в 3-4 раза. При добавлении хлореллы в рацион крупного рогатого скота уровень насыщенных жирных кислот в молоке снижается, а уровень ненасыщенных повышается. Кроме того, хлорелла способствует активному росту сельскохозяйственных растений, увеличивает урожайность и повышает их устойчивость к стрессу. Введение микроводорослей в почву способствует увеличению содержания гуминовых кислот в ней [1-3].

Содержанием ценных веществ отличается и Dunaliella salina. Микроводоросль богата белком, а вырабатываемые ею полисахариды защищают томат от воздействия соли путем увеличения содержания антиоксидантных ферментов, стигмастерола, неофитадиена, токоферола, 2,4-дитретбутилфенола, которые являются составляющими защиты от окислительного воздействия на растение. *Dunaliella salina* содержит 12-14% бета-каротина (обладает антиоксидантными свойствами и является пищевым красителем) от сухого веса и до 50% глицерола (при высоких концентрациях соли в среде). Так как у водорослей рода *Dunaliella* отсутствует клеточная стенка и в ней содержится большое количество белка, они легко усваиваются, следствием чего является ее использование в выпечке, при производстве кормов для сельскохозяйственных животных [2, 3].

Из микроводорослей *Haematococcus pluvialis* выделяют антиоксидант астаксантин (пигмент красного цвета), который используется в пищевой промышленности для придания оттенка. Астаксантин, добываемый из микроводорослей, является наименее токсичным и обладает наиболее сильными антиоксидантными свойствами, чем синтезированный аналог [2, 3]. Добавление астаксантина в корм способствует повышению устойчивости рыб к инфекционным заболеваниям, увеличению скорости роста и выживаемости личинок в аквакультуре, улучшению репродуктивных показателей и качество яиц водных животных [4].

Значительная часть в использовании биомассы приходится на применение в качестве биодобавок для подкормки животных и биоудобрений растений. *Arthrospira* spp. применяют как добавку к корму коровам и лошадям, так как она снабжает их организм незаменимыми жирными кислотами. В птицеводстве используют *Crypthecodiniun cohnii* и *Schizotrichium* sp., которые способствуют обогащению яиц омега-3-ненасыщенными жирными кислотами. Микроводоросли являются одним из главных компонентов для питания рыб. Для обогащения биомассы зоопланктона докозагексаеновой и эйкозапентаеновой кислотой широко используются *Nannochloropsis* sp. и *Isochrysis galbana*. Биоудобрения, созданные на основе микроводорослей и цианобактерий, улучшают плодородие почв и усвоение растениями макро- и микроэлементов, что связано с их регуляторным действием – выработку гормонов (цитокинины, ауксины, цис-зеатин, гибберелины, этилен, брассиностероиды, бетаниол, абсцизовая и салициловая кислоты). Это проявляется в стимуляторном воздействии *Scenedesmus* spp. на развитие стеблей, листьев и цветков у петуньи, цианобактерии *Aulosira fertilissima* – на развитие проростков риса [2, 4].

Список литературы:

1. Мельников С., Мананкина Е. Использование хлореллы в кормлении сельско-хозяйственных животных // Наука и инновации. 2010. №8. УДК 636.086.783
2. Олескин А.В., Цао Боян. Микроводоросли как биотехнологические объекты // Вопросы современной альгологии. 2022. № 33. УДК 579.61+579.66+579.67+581.1
3. Balasubramaniam V., Gunasegavan R.D., Mustar S., Lee J.C., Mohd Noh M.F. Isolation of industrial important bioactive compounds from microalgae // Molecules. 2021. V.26. P. 943. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules2604094
4. Camacho F., Macedo A., Malcata F. Potential industrial applications and commercialization of microalgae in the functional food and feed industries: a short review // Mar. Drugs. 2019. V.17. P. 312–336. DOI: https://doi.org/10.3390/md17060312
5. Muhammad Rizwan, Ghulam Mujtaba, Sheraz Ahmed Memon, Kisay Lee, Naim Rashid. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review // renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 92, September 2018, Pages 394-404. https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034

Секция 6.
Актуальные вопросы ветеринарной микробиологии

УДК 631.4

ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВА МОЛОЗИВА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЗДОРОВЬЯ ТЕЛЕНКА

Арбатская Лолита Денисовна, *магистр 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Lolita.arbatskaya@mail.ru*
(Научный руководитель – Селицкая Ольга Валентиновна, к.б.н., доцент, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Oselitskaya@rgau-msha.ru)

Аннотация: *с помощью иммунных тел молозива организм новорожденного становится способным противостоять патогенам окружающей среды в первые часы жизни, и улучшить ее дальнейшее качество. В первые часы жизни молозиво является одним из решающих фактором дальнейшего здоровья теленка. Именно поэтому для сельского хозяйства очень важно предоставлять новорожденным телятам качественное молозиво.*

Ключевые слова: молозиво, скот, телята, коровы, сельское хозяйство, иммунные тела, иммуноглобулины, патогенны, пищеварение, иммунитет, антитела

Многие исследователи установили прямую зависимость концентрации иммунных тел (иммуноглобулинов) в крови телят со временем и качеством молозива, получаемого новорожденными [4].

В утробе, кровеносные системы плода и матери разделяет плацента, которая предотвращает перенос материнский иммуноглобулинов плоду, в результате чего теленок рождается с иммунодефицитом. К тому же, желудок телят многокамерный, и, в отличие от птиц и свиней, не все его отделы функционируют сразу при рождении – их развитие происходит в течение молочного периода [3]. Недостаток иммуноглобулинов восполняется практически полностью при помощи молозива. После рождения теленок попадает из стерильной внутренней среды матери в окружающий внешний мир с различной патогенной микрофлорой. Из-за иммунодефицита организм не способен полностью противостоять негативным факторам окружающей среды, к тому же он начинает устанавливать новые самостоятельные функции органов и систем, например: дыхание, питание, метаболизм, терморегуляция, кроветворение и т.д.

Наличие иммунных тел помогает организму справиться с самыми простыми и обыденными заболеваниями, пока собственная иммунная система телят не начинает адекватно функционировать. Около 75–80 % отхода и заболеваний телят наблюдаются именно в первый период послеутробного развития при несоответствии генетической потребности и фенотипических условий существования молодого организма. Поэтому первоосновой формирования жизнеспособных ремонтных телок после рождения считается молозивный и молочный период, когда формируется жизнестойкость всего организма и еще происходит интенсивное развитие отдельных органов (например, рубца) [2].

Несмотря на то, что молозиво является решающим фактором в формировании иммунитета у телят, большинство детенышей имеют проблемы с пассивной диффузией антител из молозива, что приводит к ранней смертности или дальнейшим проблемам со здоровьем.

Если в течение первых 24-48 часов телята получают сыворотку с содержанием иммуноглобулинов менее 10 мг/мл, то у них могут начаться проблемы с пассивной диффузией [5]. Основная причина этому – иммуноглобулины в их неизменном виде могут проникать сквозь клетки эмбрионального типа эпителия тонкого кишечника теленка только в течение этого времени. В дальнейшем эти клетки постепенно замещаются более зрелым кишечным эпителием, способным переваривать иммуноглобулины. Обычно такое происходит в течение первых суток жизни теленка: в первые 12 часов способность всасывать иммуноглобулины в их неизменном виде снижается примерно на половину, а к 36 часам полностью исчезает. [5]. Поэтому крайне важно, чтобы первая выпойка молозива состоялась не позднее первых пары часов после рождения, идеально – в течение 30-40 минут. Разные источники имеют свои представления о том, какой это должен быть промежуток: большинство считают, что час, некоторые четыре. Рекомендуется давать молозиво массой не менее 10% от веса теленка [2].

Молозиво считается высокого качества, когда содержание иммуноглобулин превышает 50 г/л. На качество молозиво влияет множество факторов: порода, продолжительность сухостойного периода (молозиво будет менее качественным, если сухостойный период продолжается менее 4-х недель), вакцинация, время года, возраст. Решающим же остается время после родов, когда молозиво было собрано – это один из немногих факторов, на который может повлиять фермер [4]. Качество молозива снижается на 3,7% каждый час после рождения, независимо от того, доили корову или нет. Также концентрация иммуноглобулинов в молозиве снижается с каждым приемом пищи. Из-за вышеперечисленных факторов, молозиво необходимо собрать в первые 1-2 часа, максимальное время не должно превышать 6 часов [1].

Настоятельно не рекомендуется смешивать молозиво разных коров, даже если у каждой оно высшего качества. Во-первых, концентрация иммунных тел станет ниже, во-вторых, повышается риск заражения большего количества телят, если в одном из молозиво есть инфекция. Нельзя использовать водянистое молозиво или молозиво с кровью, а также молозиво коров с маститом. У коров, сухостойный период которых насчитывает менее 45 дней, а также у коров, перенесших стресс и имеющих бедный рацион, качество молозива сравнительно ниже. Более старшие коровы имеют большее количество иммуноглобулинов в молозиве, поскольку они были подвержены большему количеству патогенов за свою жизнь.

В итоге, чтобы теленок получил наибольшее количество иммуноглобулинов, следует поить его молозивом в течение первого часа жизни, желательно от более взрослых коров, собранное в течение первых пары часов после родов, не рекомендуется разводить молозиво в воде или размешивать с молозивом разных коров.

Список литературы:

1. Комплексные решения для сельского хозяйства: сайт. Воронеж. URL: https://agrotrest.com/blog/poleznaya_informatsiya/molozivo_znachenie_khranenie_i_razmorozka/ (дата обращения 10.11.2024)

2. Афанасьева, А. И. Использование фитоадаптогенов из регионального сырья для повышения продуктивности и воспроизводительных качеств ремонтного молодняка: научно-практические рекомендации / А. И. Афанасьева, В. А. Сарычев. – Барнаул: РИО Алтайского ГАУ, 2022 – 65 с. – Текст: непосредственный.

3. ГАНУЩЕНКО, О. Молозивный период: ошибки недопустимы // О. ГАНУЩЕНКО // Животноводство России. - 2020. № 3. - https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42666192 (дата обращения: 10.11.2024). doi: 10.25701/ZZR.2019.66.27.019

Colostrum Management for Dairy Calves, Godden, Sandra M. et al. Veterinary

4. Clinics: Food Animal Practice, Volume 35, Issue 3, 535 – 556

Sandra M. Godden, Jason E. Lombard, Amelia R. Woolums, Colostrum Management for Dairy Calves, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Volume 35, Issue 3, 2019, 535-556.

УДК 631.363

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ

Виндер Аделина Дмитриевна, *студент 1 курса Института агробиотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Adelinavinnder@gmail.com. (Научный руководитель – Чередниченко Михаил Юрьевич, к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, cherednichenko@rgau-msha.ru)*

Аннотация: *В работе рассмотрено понятие и значение биохимических показателей, методы контроля биохимических показателей.*

Ключевые слова: специфическая активность, диагностика, спектрофотометрический метод, консерванты, белки, красители, антигены, антитела.

Введение

Биохимические показатели — это результаты исследования, в ходе которого изучается содержание белков, углеводов, жиров, ферментов, микроэлементов и продуктов распада различных веществ.

Актуальность темы, посвященной методам контроля биохимических показателей, обусловлена важностью и широким применением этих подходов в современных биологических и медицинских исследованиях.

Количественное определение белков, изучение взаимодействия антигенов и антител, а также обеспечение безопасности фармацевтических препаратов - все это критически важно для диагностики, разработки лекарств и клинической практики.

Метод Лоури

Метод основан на биуретовой реакции пептидных связей белков с солями меди в щелочном растворе (при этом ионы Cu^{2+}, образуя комплекс с пептидными связями, переходят в Cu^{+}) и восстановлении фосфорномолибденовольфрамового реактива (реактив Фолина) с образованием окрашенных продуктов, интенсивность окраски которых определяют по оптической плотности при длине волны 750 нм. Реактив Фолина взаимодействует с остатками ароматических аминокислот белка, главным образом тирозина, а также триптофана и фенилаланина и, в меньшей степени, цистеина. Развитие окраски достигает максимума через 20-30 минут при комнатной температуре, в дальнейшем идет уменьшение её интенсивности. Степень окрашивания зависит от природы белка. Поскольку различные виды белков могут давать цветные реакции различной интенсивности, испытуемый белок должен соответствовать стандартному образцу.

Построение калибровочного графика. Готовят в каждой пробирке по 1,0 мл. калибровочного раствора, добавляют по 5,0 мл реактива В (реактив В готовится из реактивов А и Б в соотношении 50:1 из расчета использования реактива в объеме 5 мл в каждую пробирку; реактив А состоит из 2,0 г натрия карбоната, растворенного в растворе натрия гидроксида; состав реактива Б 0,5 г меди сульфата, 1,0 г. калия-натрия тартрата, растворяют в воде очищенной). Содержимое пробирок тщательно перемешивают. Затем вносят по 0,5 мл. реактива Фолина, перемешивают и оставляют на 30 минут. По истечении времени измеряют оптическую плотность при длине волны 750 нм в стеклянных кюветах. Калибровочный строится программным обеспечением спектрофотометра.

Анализ испытуемого образца. В две пробирки вносят по 1,0 мл подготовленного испытуемого образца, за контрольный раствор берут соответствующий растворитель, которым был разведен образец. В каждую пробирку вводят по 5,0 мл реактива В, содержимое пробирок тщательно перемешивают и оставляют на 10 минут. Затем вносят по 0,5 мл реактива Фолина, перемешивают и оставляют на 30 минут. По истечении 30 минут измеряют оптическую плотность при длине волны 750 нм по сравнению с раствором сравнения, содержащим 1,0 мл растворителя и все вышеперечисленные реагенты. Результат выполнения процедуры представляют в протоколе контроля.

Метод одиночной радиальной иммунодиффузии (ОРИД)

В ОРИДах исследуется один штамм и нет консервантов. Проверяют подлинность антигена гемагглютинина. Метод определения основан на том, что гемагглютинин, диффундируя из лунок агарозного геля в радиальном направлении, реагирует со специфическими антителами сыворотки, находящимися в агарозе, и образует в геле зону преципитации. Размеры окружающей лунку зоны преципитации находятся в прямой зависимости от количества антигена, внесенного в лунку.

Специфическая активность – количественная характеристика испытуемого образца. Подлинность антигена гемагглютинина вируса гриппа (антигенная специфичность) – качественная характеристика испытуемого образца, которая подтверждается одновременно с определением специфической активности гемагглютинина вируса гриппа. Испытание по подтверждению подлинности гемагглютинина вируса гриппа считается завершенным при выполнении процедуры по определению специфической активности.

Порядок проведения контроля испытуемого образца. Определение специфической активности (содержания антигена гемагглютинина ГА) проводят на двух пластинах для каждого образца. На каждой пластине исследуют стандарт и два-три образца, отводя под каждый образец по два ряда лунок. На второй пластине проверяют те же образцы, но при необходимости расположение образцов и стандарта произвольно меняют. Делают серию разведений антигенов: неразведенный антиген, 1:0, 3:1, 1:1, 1:3. Для реакции важно, чтобы испытуемый объект и стандартный антиген содержали близкие количества ГА, так чтобы размеры зон преципитации были сопоставимы. Если объект, согласно паспортным данным, содержит меньше ГА, чем стандарт, необходимо провести предварительное разведение стандарта и, наоборот, если стандарт менее активен, чем объект, то разводится объект. В лунки вносят по 20 мкл каждого разведения, начиная с разведения 1:3 при переходе от одного разведения к другому. Далее пластины помещают во важную камеру при комнатной температуре для прохождения процесса иммунодифффузии (18-24 часа). По истечении этого времени для удаления из геля неспецифических белков пластины помещают в фосфатный буферный раствор при 2-4-кратной смене раствора. После этого слой геля покрывают плотной фильтровальной бумагой, смоченной в фосфатном буферном растворе, затем несколькими слоями фильтровальной бумаги и помещают под груз. Для высушивания пластин их помещают под вентилятор/фен. Сушат до полного высыхания агарозного слоя. Сухие платины заливают красителем и окрашивают не менее 30 мин. Затем пластины отмывают и сушат.

После высушивания цифровым штангенциркулем измеряют диаметры колец преципитации в двух перпендикулярных направлениях. Для измерения диаметров используют программно-аппаратный комплекс «Сканер для гелей Artix Scan F2 Microtex».

Метод Бредфорда

Метод Бредфорда основан на сдвиге спектра поглощения красителя Кумасси G-250, входящего в состав реактива Бредфорда, в сторону значений 595 нм прямо пропорционально концентрации содержащегося в растворе белка. Данный метод основан на смещении максимума поглощения оптической плотности красителя кислотного синего 90 (Кумасси бриллиантовый синий R-250) от 470 нм до 595 нм, наблюдаемой вследствие связывания белка с красителем, образования комплекса Кумасси с белком. Комплекс измеряют при длине волны 595 нм. Абсорбционная фотометрия комплекса Кумасси/белок имеет очень высокую чувствительность и эффективна даже в случае следовых концентраций белка. Краситель наиболее активно связывается с остатками аргинина и лизина белка.

Построение градуировочного графика. Для построения калибровочного графика готовят серию калибровочных растворов. К 0,100 мл каждого калибровочного раствора добавляют 5,0 мл реактива Бредфорда, перемешивают, избегая образования пены, и определяют оптическую плотность при длине волны 595 нм, относительно раствора сравнения, в качестве которого используют ФБР (фосфатно-буферный раствора) и все перечисленные реагенты. Обрабатывают полученные данные методом наименьших квадратов и строят график зависимости оптической плотности от концентрации белка. При наличии соответствующей программы построение графика входит в его функции. Калибровочный график строится каждый раз при проведении контроля испытуемого образца.

Порядок проведения испытания: В две пробирки к 0,100 мл испытуемого образца прибавляют 5,0 мл реактива Бредфорда, перемешивают и определяют оптическую плотность при длине волны 595 нм, относительно раствора сравнения, в качестве которого используется ФБР и все вышеперечисленные реагенты. Результаты заносят в протокол контроля.

Тиомерсал. Спектрофотометрический метод.

Определение проводят спектрофотометрическим методом в готовых препаратах и полуфабрикатах, в состав которых входит консервант. Метод основан на образовании окрашенного комплекса тиомерсала с дитизоном в кислой среде. Результат оценивается спектрофотометрическим методом при длине волны 482 нм.

Порядок проведения испытания: В две пробирки вносят по 0,36 мл стандартного раствора тиомерсала, добавляют 0,2 мл рабочего раствора дитизона с концентрацией 0,03 мг/мл. Полученный раствор тщательно перемешивают и выдерживают в течение 5 минут. Измеряют оптическую плотность стандартного раствора при длине волны 482 нм, используя контрольную пробу в качестве раствора сравнения, который готовят аналогично, используя 0,36 мл воды очищенной и все вышеперечисленные реагенты. Оптическую плотность стандартного раствора тиомерсала определяют при каждом анализе.

Анализ испытуемого образца: В две пробирки вносят по 0,36 мл испытуемого образца, добавляют 0,2 мл раствора серной кислоты, 3,44 мл водно-спиртовой смеси и 2,0 мл рабочего раствора дитизона. Полученный раствор перемешивают и выдерживают в течение 5 минут. Измеряют оптическую плотность каждого из испытуемых образцов. Результаты проведения процедуры представляют в протоколе контроля. Критерий приемлемости содержания тиомерсала в испытуемом образце – от 85 до 115 мкг/мл.

Заключение

Методы Брэдфорда и Лоури остаются ключевыми для количественного определения белков благодаря высокой точности и простоте применения. Тиомерсал продолжает играть важную роль в качестве консерванта в фармацевтических препаратах. Метод одиночной радиальной иммунодиффузии представляет собой важный инструмент для количественного анализа антигенов и антител в сыворотке, обеспечивая высокую точность и специфичность.

Комплексное рассмотрение этих методов позволяет оптимизировать выбор методик в зависимости от конкретных задач исследования. Это способствует повышению точности и достоверности получаемых результатов.

Список литературы:

1. Воронина М.С. [https://arriah.ru/upload/iblock/6d1/disertaciya_voronina.pdf] Получение антигенов *Avibacterium paragallinarum* для инактивированных вакцин / Автореф. дисс. канд. вет. наук: 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология. Владимир, 2021. 24 с.
2. Одарюк И.Д., Кравченко Е.М. [https://elibrary.ru/item.asp?id=46274416] / Сравнение методик определения белка в растительном сырье/ Вестник Донецкого национального университета. Серия А: Естественные науки. 2022. № 4. С. 39-46.
3. Попков Е.В., Ревин. В.В. [https://elibrary.ru/item.asp?id=46274416] /Срдержание общего белка и GAP-43 в нерве при повреждении/ Материалы научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов национального исследовательского мордовского государственного университета им. Н. П. Огарева. Саранск, 2023. С. 136-142.
4. Яцко В.А. [https://elibrary.ru/item.asp?id=20232668] /Метод зонального анализа данных / В мире научных открытий. 2013. С. 166-182.

УДК 547. 485- 661.341.

ПЛАСТИНЫ НЕОБРАБОТАННОГО ЯНТАРЯ - ЭФФЕКТИВНАЯ ЗАЩИТА ОТ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

Виноградова Дарья Андреевна*, студент 3 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Dariavinogradova2004@gmail.com*
Купянская Веста Вадимовна*, студент 3 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Kupyanskayavesta2306@gmail.com*
Скворцов Александр Борисович*, студент 3 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. platengelt@gmail.com*
(Научный руководитель – Маннапова Рамзия Тимергалеевна, д-р биол. наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», ram.mannapova55@mail.ru)

Аннотация. *Кроме эффективной защиты от излучений электрических приборов, пластины с природным янтарем, благодаря выделяемой янтарной кислоте и отрицательным ионам, обеспечивают высокую терапевтическую эффективность, способствуя выработке аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) - основного источника энергии в организме.*

Ключевые слова: пластины, природный янтарь, аэрозольный фон, легкие отрицательные и положительные ионы, электромагнитное излучение

Результаты исследований и их обсуждение. Одним из действенных способов улучшения и оздоровления воздушной среды и уменьшения потенциала статического электричества является обработка воздуха аэроионами, которые в определенных концентрациях благотворно влияют на организм человека. Отрицательная аэроионизация оказывает стимулирующее влияние на легочную вентиляцию, усиливает окислительно-восстановительные процессы в тканях, замедляет свертываемость крови, положительно изменяет функциональное состояние нервной системы, улучшает общее самочувствие, повышает умственную и физическую работоспособность. Известны способы и устройства аэроионизации воздуха заряженными отрицательными ионами (А.Л. Чижевский, 1958; патенты РФ № 2019207, А 61 N 1/44, 1994 г., № 2095097, А 61 N 1/44, 1998 г., №2103029, А 61 N 1/44, 1998 г., № 2126277, А 61 N 1/44, 1999 г.). Способы аэроионизации воздуха, отличаясь между собой конструктивно-аппаратной реализацией, осуществляются следующим образом: подключают излучатель аэроионов к источнику высокого напряжения; обеспечивают излучение аэроионов с помощью одного или нескольких излучателей; при необходимости подогревают воздух и обеспечивают с помощью вентилятора циркуляцию концентрированного потока аэроионов.

Способы и устройства аэроионизации воздуха в помещении имеют существенные конструктивные и эксплуатационные недостатки, которые ограничивают область их практического использования:

Известны также способы и устройства для защиты от излучения человека, использующего телевизоры, передатчики, компьютеры, СВЧ-печи и т.п. устройства (патенты РФ № 1718710, А 61 N 1/16, 1988 г.; № 2117497, А61 N 1/16, 1997 г., № 2143702, А 61 N1/16, 1999 г., № 2161514, А 61 N 1/16, 1999 г.) Механизм защиты человека от излучений и работа известных запатентованных решений основана на формировании защитного поля.

Так в патенте РФ № 1718710 защита от излучения осуществляется путем размещения вдоль поверхности источника излучения нескольких источников компенсирующего излучения, выполненных в виде закрытого корпуса из немагнитного материала, в котором смонтирован постоянный магнит и стержень из углерода.

В патенте РФ № 2117497 способ защиты осуществляется путем генерации защитного поля с использованием в качестве генератора защитного поля носимый человеком предмет, на который переносят ослабленную волновую характеристику излучателя.

В патенте РФ № 2143702 осуществляют формирование защитного поля локальной зоны с регулируемыми или подстраиваемыми характеристиками. Недостатком настоящего способа защиты человека и устройства для его реализации является высокая схемотехническая сложность и дорогостоимость устройства для его реализации, что исключает возможность его использования в широкой медицинской практике и в бытовых условиях.

Устройство для защиты человека от излучений электрических приборов, описанное в патенте РФ № 2161514, выполнено в виде носимого человеком предмета в виде пластины произвольной формы, одна из поверхностей которого покрыта черным материалом с отверстием для проводника. Недостатком известного устройства является ограниченная и мало протяженная область защитного поля, и соответственно низкая эффективность защиты.

Общим недостатком данных устройств и способов защиты от электромагнитных излучений является невозможность генерирования ими отрицательных аэроионов и формирования из них защитного экрана, расположенного в непосредственной близости от источника излучения.

Известно, что янтарь является активным поставщиком свободных электронов. В основе механизма лечебного воздействия янтаря лежит энергетическое воздействие его многочисленных свободных электронов на БАТ человека.

Важным моментом для понимания механизма лечебного действия янтаря является наличие в его пустотах свободной янтарной кислоты. При введении её в организм, она участвует в процессе клеточного дыхания и активирует его так же, как синтезированная внутри клеток. Ускоряя процессы дыхания в клетках, янтарная кислота снижает содержание в них невостребованного кислорода и, таким образом, уменьшает вероятность образования свободных радикалов. Помимо этого, янтарная кислота, ее соли, входящие в их состав микроэлементы, высвобождаясь из янтарного каркаса, могут всасываться через стенку кишечника при попадании кислоты внутрь организма, в кровеносное русло, оказывая соответствующий лечебный эффект.

Высокие целебные, защитные свойства природного янтаря и явились основой данных исследований. Для максимального использования отмеченных свойств янтаря авторами решена задача по оптимальному пространственному размещению излучателей аэроионов в виде пластин из природного янтаря относительно источника электрического излучения.

Как показывают проведенные исследования на расстоянии до 1,7 м перпендикулярно плоскости пластин, образуется зона наибольшей концентрации легких отрицательных ионов, которые генерируются слоем янтаря на пластинах излучателя.

Рапиев Р.А. с соавт. были проведены исследования аэрофона помещения с работающим компьютером до установки пластин с янтарем, и после размещения их в зоне работающего компьютера.

Авторами проведено аэрофона счетчиком аэроионов САИ ТГУ-70 ИТ 6914 Измерения проводились на расстоянии 1 м от компьютера Пентиум-3 с монитором Rolsen и на этом же расстоянии от двух рамок размером 22х15 см каждая с наклеенным янтарем. В начале измерений определялся естественный аэроионный фон до включения компьютера и в отсутствии пластин с янтарем. Затем определялся аэроинонный фон в помещении через час при работающем компьютере, и в заключении исследовался аэроионный фон при работающем компьютере и расположенных вблизи него 2-х рамок с природным янтарем.

В результате исследований авторы установили, что аэроионный фон в начале эксперимента соответствовал обычному фону по спектру аэроионов, который регистрируется в этом помещении. В 10 часов:

- количество легких отрицательных ионов - 120 ион/см^3/с;
- количество легких положительных ионов - 150 ион/см^3/с;
- количество тяжелых положительных ионов - 7300 ион /см^3 /с;
- количество тяжелых отрицательных ионов - 6200 ион /см^3/с;

Результаты исследования при работающем в течение 2 ч. компьютере в 12-00 ч.:

- количество легких отрицательных ионов - 70 ион/см^3/с;
- количество легких положительных ионов - 2000 ион/см^3/с;
- количество тяжелых положительных ионов - 45400 ион/см^3/с;.
- количество тяжелых отрицательных ионов - 12500 ион /см^3/с;

Результаты измерений при работающем компьютере и находящихся рядом с ним пластин с янтарем в 14-00 часов:

- количество легких отрицательных ионов - 500 ион/ см^3/ с;
- количество легких положительных ионов - 600 ион/см^3/с;
- количество тяжелых положительных ионов - 10200 ион/ см^3/с;
- количество тяжелых отрицательных ионов - 9500 ион /см^3/с.

Результаты измерений при таких же условиях в 15-00 часов:

- количество легких отрицательных ионов - 580 ион/см^3/с;
- количество легких положительных ионов - 620 ион/ см^3/с;
- количество тяжелых положительных ионов - 9800 ион/см^3/с.
- количество тяжелых отрицательных ионов - 8700 ион /см^3/с.

Измерения через час после выключения компьютера в присутствии пластин с янтарем в 16-00 часов:

- количество легких отрицательных ионов - 2 600 ион/см^3/с;
- количество легких положительных ионов- 260 ион / см ^{3}/с;
- количество тяжелых положительных ионов - 890 ион/см3/с;
- количество тяжелых отрицательных ионов - 1950 ион /см^3/с.

Обобщенные результаты проведенных измерений позволили авторам сделать следующие выводы. При работе компьютера формируется определенный спектр аэроионов, значительно отличающийся от первоначального аэроионного фона помещения, в основном по количеству положительных ионов.

Так, в зоне работающего компьютера количество легких положительных ионов возросло в 13 раз (150 против 2000), количество тяжелых положительных ионов возросло в 6 раз (7300 против 45400). Одновременно установлено снижение в 1,7 раза легких отрицательных ионов. При размещении вблизи с работающим компьютером пластин с природным янтарем спектр аэроионов в зоне работы компьютера четко меняется. Так количество легких отрицательных ионов возрастает в 8,2 раза (70 и 580), положительных в 4,6 раза по сравнению с указанными показателями спектра аэронов при работающем компьютере без расположения пластин с природным янтарем. При этом после выключения компьютера под влиянием пластин с природным янтарем создается аэроионный фон с преобладанием отрицательных ионов.

Исследования различных конструктивных реализаций излучателей и эффективности их применения, подтвердили перспективность дополнительного использования вентиляторов для обеспечения циркуляции воздуха в зоне расположения пластин с янтарем. Поток воздуха, создаваемый вентилятором, повышает концентрацию, исходящих от пластин излучателя отрицательных ионов.

При определенных размерах помещения, параметров источника электрического излучения (его мощности, площади и интенсивности излучений) для защиты человека рекомендовано использовать дополнительный излучатель аэроионов, который размещают аналогичным образом, что и основной излучатель - вертикально сбоку на уровне корпуса источника излучения перпендикулярно или под углом к плоскости его передней панели. Расстояние между основным и дополнительным излучателями аэроионов устанавливают от 150 см до 200-340 см.

Установлено, что для защиты человека от излучений электрических приборов, таких как СВЧ-печь, СВЧ-гриль и т.п. предпочтительней устанавливать излучатель аэроионов сверху над корпусом источника излучения на расстоянии от 20 см до 130- 170 см, при этом излучатель аэроионов, выполненный в виде части сферы, имеет повышенную эффективность использования. Для крепления излучателя в этом случае используют дополнительные крепежные элементы (петли, зажимы типа «карабин» и т.п.).

Авторы рекомендуют для повышения терапевтической эффективности воздействия настоящих излучателей аэроионов, снижения утомляемости, повышения функционального состояния человека, находящегося достаточно длительное время в зоне работающего источника электромагнитного излучения, перспективным является использование второго дополнительного излучателя 20, который размещают, как правило, вертикально или под наклоном на стене помещения на расстоянии 80-170 см от задней торцевой панели источника электрического излучения.

Полученные результаты практического применения излучателей аэроионов в виде пластин из природного янтаря позволяют констатировать, что помимо высокой эффективности защиты человека от излучений электрических приборов, пластины с природным янтарем, благодаря выделяемой янтарной кислоте и отрицательным ионам, обеспечивают одновременно высокую терапевтическую эффективность воздействия на работающего или отдыхающего человека, который находится рядом с работающим источником электромагнитных излучений. Отрицательные ионы и молекулы янтарной кислоты через легкие человека поступают в кровь и в клетки организма, которые активизируют процесс выработки аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ)- основного источника энергии в организме, позитивно изменяют функциональное состояние нервной системы, улучшают общее самочувствие, повышают умственную и физическую работоспособность человека.

Заключение. Испытанные пластины с природным янтарем и способ его применения, обеспечивают, как эффективную защиту от электрических излучений различных приборов и аппаратов, так и многофакторное оздоровляющее воздействие на человека.

Список литературы:

1. Гоникман Э.И. Одежда и камни, которые лечат. – М., 2000, 266 с.
2. Маннапова Р.Т. Иммунитет, микробиоценоз и биохимические реакции при воздействии на организм необработанного янтаря Р.Т. Маннапова, Р.А. Рапиев. - Монография. - Москва. - 2009. -188с.
3. Маннапова Р.Т. Коррекция биохимического статуса организма аэроионами янтаря / Р.Т. Маннапова, Р.А. Рапиев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. - Казань. - 2013. - Т. - 213. - С.135 - 139.4

УДК: 661.743 - 547.485- 341.

ПРИМЕНЕНИЕ ЯНТАРЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ДИСБАКТЕРИОЗОВ

Галкин Пётр Константинович*, студент 3 курса института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. ptr.galkin.04@mail.ru*

Соловьева Карина Анатольевна*, студент 3 курса института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Popic1@mail.ru*

Ковалев Михаил Дмитриевич, *студент 3 курса института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Misha.dk04@gmail.com*

(Научный руководитель – Свистунов Дмитрий Валерьевич, ассистент кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», dimitriisvist@mail.ru)

Аннотация: *Легкие отрицательных ионы, фитонциды, выделяемые через поры необработанного янтаря и аэрозоли янтарной кислоты, восстанавливают естественный микробиоценоз кишечника крыс, активизируя бактерии- пробионты (бифидобактерии и лактобациллы), затормаживая рост условно-патогенных микроорганизмов (клостридий, псевдомонов и стафилококков).*

Ключевые слова: необработанный янтарь, толстый кишечник, бифидобактерии, лактобациллы, клостридии, псевдомоны, стафилококки.

Введение. В последние годы все большую популярность приобретают нетрадиционные методы терапии. К ним относится и янтаротерапия. В работах многих исследователей описывается, что янтарь в виде янтарной кислоты, легких отрицательнх ионов, фитонцидов, выделяемых через поры необработанного природного янтаря повышает факторы неспецифической защиты организма, стимулирует иммунные реакции, оказывает положительное действие на умственную и физическую активность, восстанавливает силы организма после тяжелых заболеваний, снимает головные боли при нарушении мозгового кровообращения, является противоишемическим средством, на клеточном уровне и способствует замедлению старения организма. При комплексной терапии сахарного диабета янтарная кислота способствует снижению в крови уровня холестерина, кетоновых тел, жирных кислот, тем самым способствуя снижению потребности в инсулине и антидиабетических средствах. Кроме того, янтарная кислота стимулирует выработку собственного инсулина. Учитывая высокую биологическую активность необработанного янтаря целью настоящих исследований, явилось – изучить влияние необработанного янтаря на состояние микробиоценоза кишечника с учетом: динамики изменения содержания нормофлоры (бифидобактерий и лактобацилл) и динамики изменения уровня условно-патогенных микроорганизмов.

Материал и методы исследований. Опыты проводились на крысах, которые были разделены на 3 группы. Крысы 1-й группы были контрольные. Они находились в одинаковых условиях кормления и содержания с животными 2-й и 3-й групп. Крысы 2-й и 3-й групп – опытные. Животные 2 группы 2 часа в сутки в течение 10 дней содержались в фанерном ящике, выстланным янтарем, размером 60×60×60 см., т.е. находились под влиянием лёгких отрицательных ионов, фитонцидов необработанного янтаря и аэрозолей янтарной кислоты. Крысам 3 группы в рацион вносили янтарный порошок в дозе 0,5 г на голову, 1 раз в день. Взятие фекалий проводили до начала опытов, а затем через 3, 7, 15, 30 и 50 дней от начала опытов.

Для выделения анаэробных бифидобактерий в пробирки с 13-15 мл регенерированной в течение 45 минут среды Блаурокка засевали 1 мл фекалий в разведении до 10^{-9}. Посевы инкубировали при 37°С в течение 24 часов. Лактобактерии выращивали на среде МРС (Мозера-Рогоза-Шарпа). Кислотообразующую активность популяций лактобацилл определяли на стандартных пластиковых чашках Петри, глубинным посевом разведений на агар МРС, с 1% мела, после 16-часового культивирования при температуре 39°С, по зонам просветления агара. Клостридии культивировали на мясопептонном печеночном бульоне (МППБ) Китта-Тароцци, плотной среде Вильсона-Блера, глюкозо-кровяном агаре Цейслера. Для выделения стафилококков использовали элективные среды - солевой кровяной МПА (с 8-10% NaCl, 5% дефибринированной крови), кровяной МПА.

Результаты исследований. Результаты исследования динамики изменения содержания в кишечнике крыс бифидобактерий, под влиянием необработанного янтаря, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние янтаря на динамику изменения содержания бифидобактерий в кишечнике крыс (lg КОЕ/г)

Группы животных	Стат. показат.	Фон	Сроки исследования в днях от начала опытов			
			7	**15**	**30**	**50**
1. Контроль	M	8,96	9,86	9,47	9,12	8,74
	±m	0,28	0,60	0,22	0,27	0,37
	Cv, %	7,00	13,69	5,14	6,55	9,50

Продолжение таблицы 1

2. Легкие отрицательные ионы янтаря	M	9,40	12,30	16,20	18,60	18,40
	±m	0,24	0,44	0,58	0,68	0,81
	Cv, %	5,827	7,924	8,048	8,154	9,873
	P		**	***	***	***
3. Янтарный порошок с кормом	M	8,76	14,70	19,90	21,60	20,30
	±m	0,37	0,70	0,75	0,81	0,70
	Cv, %	9,47	10,65	8,41	8,41	7,71
	P		**	***	***	***

Примечание: * - P□0,95; ** - P□0,99; *** - P□0,999 по сравнению с контролем.

Содержание лактобацилл в кишечнике животных 1 контрольной группы, за период опытов, колебалось на уровне от 6,69 до 7,84 lg КОЕ/г. Данный показатель также имел тенденцию к выраженному повышению в кишечнике животных 2 группы к 7 дню опыта в 1,53 раза (на 3,73 lg КОЕ/г), к 15 дню в 1,7 раза (на 5,56 lg КОЕ/г), к 30 дню в 2,52 раза (на 10,2 lg КОЕ/г), к 50 дню в 2,07 раза (на 7,77 lg КОЕ/г).

Более высокое повышение уровня лактобацилл регистрировалось в кишечнике животных 3 группы. Здесь описываемый показатель превысил контрольный уровень и значения их у животных 2 группы на 7 день опыта в 1,83 и 1,19 раза (на 5,83 и 2,1 lg КОЕ/г), на 15 день в 2,15 и 1,26 раза (на 9,06 и 3,5 lg КОЕ/г), на 30 день в 2,73 и 1,08 раза (на 11,6 и 1,4 lg КОЕ/г), на 50 день в 2,6 и 1,25 раза (на 7,77 и 3,8 lg КОЕ/г).

Клостридии в кишечнике крыс 1 контрольной группы, за период опытов (рис. 1), колебались на уровне от 5,82 до 6,26 lg КОЕ/г, что было несколько выше физиологических значений. В кишечнике крыс 2 и 3 опытных групп уровень клостридий имел тенденцию к значительному понижению в сторону физиологических норм (рис. 1 А). Содержание клостридий в кишечнике животных 2 группы понизилось, по сравнению с контрольными значениями его у животных 1 группы, к 7 дню в исследований в 1,17 раза (на 0,87 lg КОЕ/г), к 15 дню в 1,27 раза (на 1,34 lg КОЕ/г), к 30 дню в 1,39 раза (на 1,66 lg КОЕ/г), к 50 дню в 1,47 раза (на 1,95 lg КОЕ/г).

Данные по изучению динамики изменения содержания в кишечнике стафилококков и псевдомонов под влиянием разных форм необработанного янтаря представлены на рисунке 1 Б, В.

Более интенсивный процесс понижения числа клостридий регистрировался в кишечнике животных 3 группы. Здесь уровень клостридий уступал его значению в кишечнике крыс 1 и 2 групп на 7 день опыта в 1,25 и 1,07 раза (на 1,21 и 0,34 lg КОЕ/г), на 15 день в 1,38 и 1,08 раза (на 1,73 и 0,39 lg КОЕ/г), на 30 день в 1,73 и 1,23 раза (на 2,46 и 0,8 lg КОЕ/г), на 50 день в 1,47 и 1,17 раза (на 2,55 и 0,6 lg КОЕ/г).

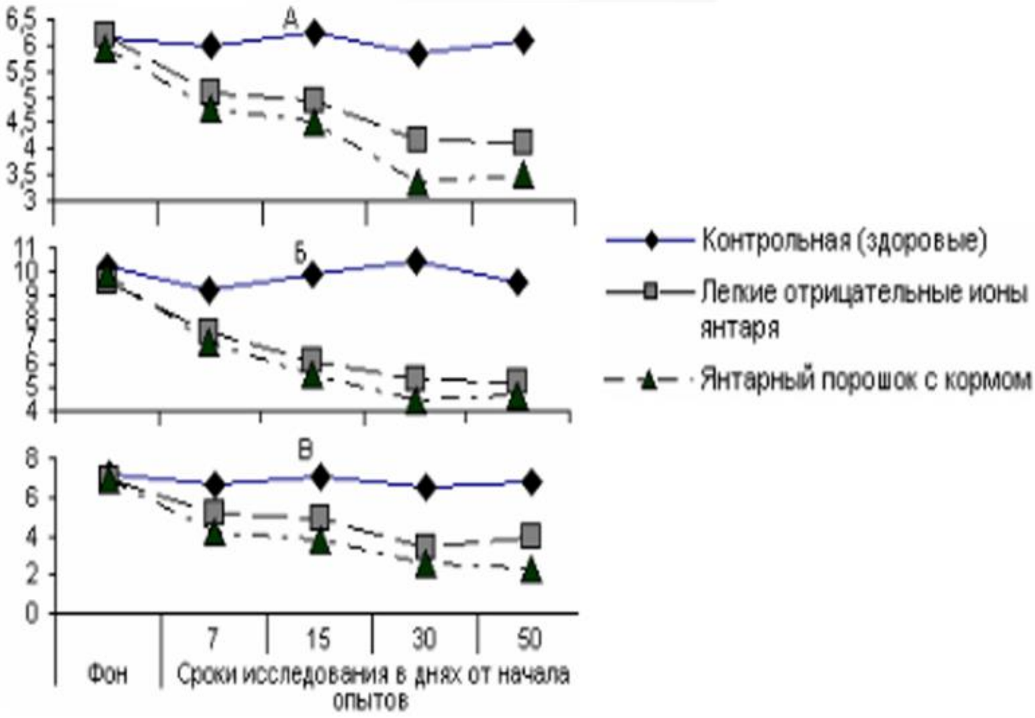


Рисунок 1 – Влияние необработанного янтаря на динамику изменения содержания клостридий (А), стафилококков (Б) и псевдомонов (В) в кишечнике крыс (lg КОЕ/г)

Заключение. Необработанный янтарь восстанавливает естественный микробиоценоз кишечника крыс, активизируя бактерии-пробионты (бифидобактерии – в 2,03 и 2,36 раза (на 9,48 и 12,48 lg КОЕ/г), лактобациллы – в 2,52 и 2,73 раза (на 10,2 и 11,6 lg КОЕ/г), затормаживая рост условно-патогенных микроорганизмов (клостридий – в 1,47 и 1,72 раза (на 1,95 и 2,55 lg КОЕ/г), псевдомонов – в 1,71 и 2,98 раза (на 2,81 и 4,49 lg КОЕ/г), стафилококков в 1,81 и 2,05 раза (на 4,27 и 4,88 lg КОЕ/г).

Список литературы:

1. Фракей Э. Янтарь: Перевод с английского. - М. -1990. - 198с.
2. Семенова А.Н. Тайные силы маятника / А.Н. Семенова, О.П. Шувалова. - СПб. - «Невский проспект». - 2001. - 187 с.
3. Новоселова Г.М. Камни: мистика и реальность. - СПб. - 1997. - 212 с.
4. Свистунов, Д. В. Биологически активные продукты пчел для активизации процессов кроветворения у здоровых и больных кандидамикозами перепелов / Д. В. Свистунов // Известия Дагестанского ГАУ. – 2024. – № 1(21). – С. 165 - 170.
5. Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве: Сборник научных статей (Под редакцией М.Н. Кондрашовой). - Пущино: Институт теоретической и экспериментальной биофизики. - 1997. - 299с.

УДК: 683.121-341.735

ФАГОЦИТОЗ ПЧЁЛ ПРИ ВАРРОАТОЗАНОЙ ИНВАЗИИ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ АКАРИЦИДНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ С АДАПТОГЕНОМ

Гудкова Александра Романовна*, студент ДК-203, технологический колледж, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Lexa270704@yandex.ru*
Кильдеев Даниэль Русланович*, студент 3 курса, направление подготовки 36.03.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. kildden@yandex.ru*
Мацакян Галина Гамлетовна*, студент 3 курса, направление подготовки 36.03.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. msizukag@gmail.com*
(Научный руководитель – Смирнова Евгения Борисовна аспирант кафедр микробиологии и иммунологии и аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», jene-ufa@yandex.ru)

Аннотация: *Эффективным способом, способствующим снижению заклещеванности пчёл клещем Varroa jacobsoni и повышению фагоцитарной активности гемоцитов является аэрозольный препарат Апизол в комплексе с адаптогеном «Нэнни 2 с пребиотиком».*

Ключевые слова: пчёлы, заклещеванность, фагоцитарная активность, гемоциты, адаптоген, апизол, битин, муравьинка, байварол.

Введение

Варроатоз (варрооз) характеризуется массовой гибелью личинок, куколок и взрослых пчел. Его редко удается обнаружить на начальной стадии. Весной и осенью клещ поражает пчелиный приплод, а летом - трутневый. живет на трупах пчел, трутней, куколок 11 дней, на открытом расплоде 15 и на запечатанном - 32 дня. Методы лечения не обеспечивают полного избавления от варроатоза на пасеке, но позволяют сократить уровень заклещеванности определенных семей. В этой связи сегодня большое количество работ посвящены поиску эффективных методов борьбы с варроатозом пчел. Однако варроатоз по настоящее время остается огромной проблемой в пчеловодстве. [1, 2, 3, 4, 5]. В этой связи **целью** настоящего исследования является – оптимизация механизмов восстановления клеточного звена иммунной защиты гемолимфы пчел разными акарицидными препаратами с адаптогеном.

Материал и методы исследований

Объектом исследования были пчелы среднерусской и карпатской породы, весенней генерации, которые содержались в ульях Дадана-Блатта, в условиях пчеловодческих хозяйств Бирского района республики Башкортостан и на учебно-опытной пасеке РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Лабораторные исследования проводились в условиях лабораторий кафедры аквакультуры и пчеловодства, кафедры микробиологии и иммунологии. Были сформированы 6 групп пчел среднерусской и карпатской породы. Пчелы 1 группы были контрольные – здоровые, 2- 6 групп, пораженные варроатозной инвазией средней степени заклещеванности. С пчелами 1 и 2 групп никакие дополнительные манипуляции не проводились. Они находились в одинаковых условиях с опытными. В качестве адаптогена в 3-6 опытных группах использовали детское питание «Нэнни 2 с пребиотиком». В 3 группе применяли препарат апизол (экстракт эфирных масел) в виде аэрозоли. Его устанавливали в лоток, нажимали 1 раз и выдерживали 1-2 сек. Курс повторяли 4-5 раз с интервалом в 3-4 дня. В 4 группе применяли препарат Бипин-Т, (акарицидный-амитраз) с тимолом. Он содержится в ампуле 0,5мл -10 доз. 1 мл бипина растворяли в 40 мл воды (эмульсия). Распыляли с помощью дымовой пушки через лоток. 2- кратно с интервалом в 2 недели. Препарат безвреден для пчел, но вреден для человека, поэтому работали в маске. В 5 группе применяли препарат Байварол (акарицидный флеметрин). Это полимерные полоски. Их помещали в улей на 25 сут. при наличии расплода и на 2 – 3 суток – при его отсутствии. В 6 группе использовали препарат «Муравьинка» (в пакетиках с 30 г муравьиной кислоты). 1 пакет использовали на 1 хорошую пчелосемью (5-10 улочек). Пакеты раскладывали сверху рамки. Содержимое испаряется в течении 5 дней. Потом удаляли. Обрабатывали в хорошую погоду (в плохую пчелы «включают» вентиляцию в улье. Работали в респираторе и перчатках.

Для определения фагоцитарной активности гемоцитов гемолимфы пчел: в пробирку, содержащую суточную культуру *Staphylococcus aureus* в объеме 1 мкл, добавляли 1мкл гемолимфы, перемешивали и инкубировали в термостате при t 37°С в течение 30 мин. Фагоцитарный индекс (число гемоцитов, участвующих в фагоцитозе) и фагоцитарное число (среднее число объектов, поглощенных одним гемоцитом) определяли по поглотительной активности в реакциях фагоцитоза [2, 5].

Результаты исследований и их обсуждение

Фагоцитарная активность (ФА) гемоцитов гемолимфы пчел среднерусской породы 1 контрольной группы в 10 сут. возрасте пчел составила 43,4%. Она увеличивалась в возрастном аспекте, превысив данные предыдущего срока исследования в 16, 20 и 30 сут. возрасте в 1,15; 1,26 и 1,32 раза. ФА гемоцитов гемолимфы пчел контрольной группы карпатской породы, во все сроки исследований, была ниже, по сравнению с их активностью у пчел среднерусской породы: в 10, 16, 20 и 30 сут. возрасте: в 1,16; 1,17; 1,13 и 1,07 раза (на 6,2; 7,3; 6,5 и 3,8 %) и она также, как и у среднерусских, увеличивалась в возрастном аспекте. В 10 сут. возрасте она составила 37,2%, а в 16, 20 и 30 сут. возрасте превысила этот показатель 1,14; 1,29 и 1,44 раза.

ФА гемоцитов пчел 2 группы, больных варроатозной инвазией, была значительно ниже, по сравнению с данными пчел контрольной группы. Это было характерно и в группах среднерусских и в группах карпатских пчел. ФА пчел среднерусской породы 10, 16, 20 и 30 сут. возраста исследований уступала данным здоровых пчел 1 контрольной группы в 1,38; 1,89; 2,98 и 3,82 раза. По карпатской породе эта разница с контролем составила соответственно в 1,34; 2,1; 3,0 и 4,28 раза. В возрастном аспекте внутри пород регистрировалось выраженное снижение ФА гемоцитов пчел, подвергнутых варроатозной инвазии. Показатель ФА пчел среднерусской породы к 10 сут. возрасту составил 31,3%. А данные пчел 16, 20 и 30 сут. возраста были ниже в 1,19; 1,7 и 2,08 раза. По карпатской породе ФА пчел 2 группы, 10 сут. возраста, составила 27,7%, что было ниже, по сравнению с показателем среднерусских пчел в 1,13 раза. В последующие возрастные периоды (16, 20 и 30 сут.) они уступали первоначальному показателю в 1,37; 1,73 и 2,21 раза. Следовательно, варроатозная инвазия значительно подавляет в организме пчел защитные механизмы клеточной защиты. Учитывая значительное снижение механизмов клеточной защиты гемоцитов гемолимфы пчел на фоне варроатозной инвазии были проведены исследования ряда акарицидных препаратов.

Более высокое акарицидное действие на организм пчел, способствующее восстановлению ФА гемоцитов гемолимфы оказало применение препарата Апизол в комплексе с адаптогеном «Нэнни 2 с пребиотиком» (3 группа). У пчел среднерусской породы 10 сут. возраста ФА гемоцитов была ниже показателя пчел 1 контрольной группы в 1,13 раза (на 5,2%), но уже превышала данные больных пчел 2 группы в 1,22 раза (на 6,9%). В последующие возрастные периоды пчел среднерусской породы 3 группы эта тенденция активно нарастала. У пчел 16, 20 и 30 сут. возраста показатель ФА гемоцитов уступал данным контроля в 1,13; 1,1 и 1,09 раза, но был выше их значений у пчел 2 группы в 1,67; 2,69 и 3,48 раза (на 17,7; 31,2 и 37,2%). При этом ФА гемоцитов гемолимфы среднерусских пчел 2 группы в 16, 20 и 30 сут. возрасте была выше, по сравнению с первоначальным уровнем 10 сут. пчел, соответственно, в 1,15; 1,29 и 1,36 раза. Также самые лучшие результаты повышения ФА гемоцитов гемолимфы отмечались под влиянием препарата Апизол с адаптогеном у пчел карпатской породы. Но при этом данные по карпатской породе были ниже, по сравнению с результатами, полученными по среднерусской породе пчел. На эти сроки исследований по карпатской породе ФА гемоцитов гемолимфы была ниже их значения у здоровых пчел 1 группы в 1,15; 1,18; 1,11 и 1,11 раза (на 4,9; 6,7; 8,9 и 9,9%), но превысила данные больных пчел 2 группы в 1,16; 1,77; 2,7 и 3,84 раза.

Хорошие результаты по активизации ФА гемоцитов показал препарат Битин в комплексе с адаптогеном «Нэнни 2 с пребиотиком» (4 группа). Однако данные ФА гемоцитов пчел 4 группы, во все сроки исследований, были ниже, по сравнению с их значениями у пчел 3 группы. У пчел 10, 16, 20 и 30 сут. возраста ФА гемоцитов по 4 группе была ниже, по сравнению с их уровнем по 3 группе: по среднерусской породе пчел в 1,07; 1,09; 1,07 и 1,06 раза (на 2,54; 3,6; 3,6 и 3,3%), по карпатской породе в 1,09; 1,12; 1,09 и 1,1 раза (на 2,9; 3,9; 3,8 и 4,4%). При этом данные по карпатской породе пчел 4 группы были выше, по сравнению с данными больных пчел 2 группы, на эти же возрастные периоды, в 1,06; 1,58; 2,46 и 3,49 раза (на 1,7; 11,8; 23,4 и 31,1%). Также хорошие показатели по активизации ФА гемоцитов гемолимфы регистрировались в 6 группе. Показатели пчел этой группы были очень близкими с данными пчел 4 группы. То есть активность действия препаратов Битин и Муравьинка (также с адаптогеном) была примерно одинаковой. Следовательно, препараты Битин и Муравьинка могут мыть вполне взаимозаменяемыми.

Более низкие показатели ФА гемоцитов гемолимфы наблюдались по 5 группе, в которой применяли в качестве акарицидного препарата Байварол С с адаптогеном. Здесь ФА гемоцитов пчел 10, 16, 20 и 30 сут. возраста по среднерусской породе была ниже, по сравнению с показателями пчел 1 контрольной группы, в 1,29; 1,32; 1,33 и 1,28 раза, по карпатской породе пчел – в 1,42; 1,49; 1,33 и 1,4 раза. Однако препарат Байварол в комплексе с адаптогенами обладал определенной акарицидной активностью и способствовал повышению активности фагоцитов, хотя показатели были ниже, по сравнению с другими, исследованными препаратами.

Заключение

Наиболее эффективным препаратом из изученных, обладающий хорошим акарицидным действием в отношении Varroa jacobsoni, активизирующим клеточное звено иммунных механизмов гемолимфы пчел, является препарат Апизол в комплексе с адаптогеном «Нэнни 2 с пребиотиком».

Список литературы:

1. Гайфуллина, Л.Р. Иммуностимулирующее действие спорообразующего препарата ветеспорина на медоносную пчелу / Л.Р. Гайфуллина, Е.С. Салтыкова, Р.Т. Матниязов, А.Г. Николенко / Сборник научных трудов РГАУ-МСХА им. Тимирязева, Москва, 2016. - 33 с.
2. Маннапов А.Г. Влияние препарата апиник на биологические показатели, микробиоценоз и зимовку пчел / А.Г. Маннапов, О.С. Ларионова / Пчеловодство. – 2011. – № 8. – С. 22-24.
3. Морева, Л.Я. Влияние стимулирующих подкормок и ветеринарных обработок на рост и развитие медоносных пчёл на юге России / Л.Я. Морева, Р.К. Мегес / Сборник научных трудов РГАУ-МСХА им. Тимирязева. - Москва, 2016. - 271 с.
4. Московская, Н.Д. Иммунно-физиологические показатели пчелиных особей / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Сборник статей по материалам XXXIV международной научно-практической конференции. – Москва. – 2018. – С. 29-33
5. Маннапова Р.Т. Восстановление функционально детерминированных изменений нормофлоры и фагоцитоза при варроатозной инвазии пчел / Р.Т. Маннапова, Е.Б. Смирнова, Ю.Н. Кутлин // Известия Дагестанского ГАУ. - № 1(17). - 2023. - С 119-123

УДК: 547- 661.742.2

БИОФИЗИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕОБРАБОТАННОГО ПРИРОДНОГО ЯНТАРЯ

Калюжная Елизавета Павловна*, студент ДК- 203, технологический колледж, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева.* kaluznaaelizaveta@mail.ru

Маркина Александра Максимовна*, студент 3 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Sashamarkina.04@mail.ru*
Хомашко Полина Алексеевна, *студент 3 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. polina.khomashko05@mail.ru*
(*Научный руководитель – Смирнова Евгения Борисовна аспирант кафедры микробиологии и иммунологии и аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, jene-ufa@yandex.ru)*

Аннотация: *В состав янтаря входит более 40 соединений: янтарная кислота и примесь солей (преимущественно янтарнокислых), которые представлены соединениями: летучих терпенов и сесквитерпенов, растворимых органических кислот, нерастворимых полиэфиров этих кислот со спиртами, определяющих комплекс соединений и биологические свойства янтаря.*

Ключевые слова: янтарная кислота, отрицательные заряды, подвижные протоны, парамагнитные центры, свободные электроны.

Анализ биофизических и биологических свойств янтаря. На рубеже третьего тысячелетия отмечается значительное ускорение процесса интеграции между традиционной восточной и западной медициной. Тенденция к сближению восточной и западной школ в народной медицине дает великолепные результаты в лечении больных. Традиционно западные народные методы, такие, как лечение пиявками (герудотерапия), медом, пчелиным ядом, глиной, драгоценными камнями, янтарем и др., применяемые по методикам восточной медицины, воздействуя на точки акупунктуры, или иначе биологически активные зоны (БАЗ), открывают новую страницу народного целительства и практического здравоохранения.

Настоящая работа посвящена одному из самых широко применяемых и эффективных на протяжении тысячелетий лекарственному препарату, исторически незаслуженно забытому и вновь возрождающемуся в последние годы - природному целителю янтарю. Простота и доступность, мягкость и высокая эффективность действия и, главное, отсутствие побочных эффектов и аллергических реакций сделало лечение янтарем панацеей от всех болезней. Мы укажем на происхождение и энергетические аспекты янтарной терапии, познакомим Вас с химической структурой и механизмом его действия.

У янтаря более 30 названий. Каждое из них отражает какое-либо из его свойств. Древние греки именовали янтарь электроном, от звезды Электра в созвездии Тельца и способности притягивать к себе небольшие кусочки папируса. Их потомки ныне вложили другой смысл в название камня и нарекли его "вероника", то есть носитель победы. Римляне называли его "сукцинум" (от латинского слова "Зиссиз" - сок), так как справедливо полагали, что янтарь представляет собой окаменевший сок деревьев. Долгое время ученые спорили о том, что такое янтарь. Но убедительнее всех рассказал о своем происхождении сам янтарь и заключенные в нем остатки животного и растительного мира, существовавшие на Земле 40-50 миллионов лет назад. Исследования ученых X1X-XX веков показали, что янтарь образуется при специфической фоссилизации (окаменении) смолы в результате поликонденсации смоляных кислот и терпенов. Главные условия фоссилизации - продолжительное окисление в почве "Янтарного леса", среди которого сосны составляли около 70%, и последующее переотложение с захоронением в прибрежно-морских лагунах и дельтовых осадках со слабо окислительной щелочной средой (БСЭ, 1978; С.С. Савкевич, 1970; 1976).

Следовательно, янтарь — это конечный продукт растительного происхождения, а лечение янтарем, в известной степени можно отнести к фитотерапии. Янтарь - высокомолекулярное соединение органических кислот, содержащее в среднем 79 % углерода; 10,5% водорода; 10,5% кислорода. В янтарях в виде примесей (от следов до 3%) обнаружено 24 химических элемента.

Весьма важным моментом для понимания одного из механизмов лечебного действия янтаря является установление К. Плонайтом наличия свободной янтарной кислоты в пустотах костяного (непрозрачного) янтаря.

Другим важным моментом для понимания механизмов лечебного действия янтаря является обнаружение при помощи электронного парамагнитного резонанса в темно-коричневых янтарях парамагнитных центров, число которых в 100 раз больше, чем в светлых. В выветренной корке по сравнению с неизмененным янтарем (в одном куске) парамагнитных центров меньше.

Как показали масс-спектрометрические исследования, в состав янтаря входит более 40 соединений. Многие из них еще неизвестны. Как показал Й.Ф. Йоон (1816) в янтаре постоянно содержится янтарная кислота (около 4 %) и примесь солей (преимущественно янтарнокислых) калия, кальция, натрия, железа (до 1 %). Янтарь состоит из трех групп соединений:

1. Летучих терпенов и сесквитерпенов,
2. Растворимых органических кислот;
3. Нерастворимых полиэфиров этих кислот со спиртами, образовавшимися из этих же кислот. Давным- давно человек заметил, что во многих образцах янтаря находятся различные включения (животные, растительные, минеральные, газовые).

Еще в VII-VI в.в. до н.э. Фалесу Милетскому была известна способность янтаря электризоваться при трении и притягивать разные мелкие и легкие предметы (С.С. Савкевич, 1970). Причем, чем сильнее разогревается при трении янтарь, тем большей силой он обладает, притягивая не только древесные стружки, но также железные, серебряные и золотые опилки.

Янтарь плохо проводит электрический ток, однако при трении о шерстяную ткань он, электризуется и продолжительное время сохраняет отрицательные заряды. От янтаря пошло представление об электричестве. К числу наиболее характерных химических особенностей янтаря относится наличие в продуктах его сухой перегонки янтарной кислоты. Янтарь не растворяется в воде. Частично растворяется в некоторых органических соединениях - спирте (20-25%), эфире (18-23%), хлороформе (до 20%), льняном масле.

Важным является способность янтаря разбухать в воде. За достаточно короткий срок объем измельченного янтаря увеличивается на 8%. Доказана проницаемость янтаря для жидких и газообразных агентов. Чрезвычайно важным является способность янтаря к набуханию в различных веществах при комнатной температуре, т.е. фактически сорбировать различные органические и неорганические соединения.

Исследования физических свойств янтаря с помощью ядерного магнитного резонанса показало, что в янтаре при комнатной температуре имеются подвижные протоны. При нагревании янтаря от 60 до 120° С, содержание подвижных протонов резко возрастет.

Было выяснено, что янтарь представляет собой каркасный полимер с редкой сшивкой, содержит в себе молекулы или сегменты макромолекул, слабо связанных с окружением. Поэтому они легко мигрируют как при нагревании, так и при воздействии растворителей. При сгорании янтарь выделяет пары с ароматным запахом. В связи с этим в средние века его употребляли для благовонных курений в храмах и церквах. В древней Руси янтарь поэтому называли "Морским ладаном".

Для определения наличия в молекулах янтаря неспаренных электронов исследования производили с помощью электронного парамагнитного резонанса.

Было выявлено не только наличие парамагнитных центров и свободных электронов в янтаре, находящихся на грани чувствительности прибора при комнатной температуре, но и значительное увеличение количества неспаренных электронов при нагревании и механическом воздействии вследствие разрыва химических связей и нарушения молекулярных структур (Т.К. Серганова, С.Р. Рафиков, 1965; Lagercrantz, Yland, 1962).

Список литературы:

1. Фракей Э. Янтарь: Перевод с английского. - М.-1990.- 198 с.
2. Семенова А.Н. Тайные силы маятника / А.Н. Семенова, О.П. Шувалова. - СПб. - «Невский проспект». - 2001. -187 с.
3. Новоселова Г.М. Камни: мистика и реальность. - СПб. - 1997. -212 с.
4. Хазанов В.А. Тайны янтаря / В.А. Хазанов, Е.Б. Иванцова. -Томск. - 2002.-32с
5. Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве: Сборник научных статей (Под редакцией М.Н. Кондрашовой). - Пущино: Институт теоретической и экспериментальной биофизики. -1997. - 299с.

УДК 631.4

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КЕФИРНОГО ГРИБА

***Козлов Андрей Владимирович**, д.б.н., доцент, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.kozlov@rgau-msha.ru.*

***Жукова Екатерина Викторовна**, к.с.-х.н., доцент кафедры молочного и мясного скотоводства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, e.zhukova@rgau-msha.ru.*

***Ильина Каролина Олеговна**, студент 3 курса Института зоотехнии и биологии, кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ilina.karkarch@gmail.com.*

***Мазная Валентина Валерьевна**, студент 3 курса Института зоотехнии и биологии, кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, newq24042017@gmail.com.*

***Славнов Илья Витальевич**, студент 3 курса Института зоотехнии и биологии, кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ilya.slavnov@bk.ru.*

***Аннотация:** Кефирный гриб представляет собой естественно сформировавшийся симбиотический консорциум микроорганизмов. В его состав входят несколько представителей родов бактерий, а также дрожжи. В данной работе были выделены некоторые представители, входящие в состав кефирного гриба. На основе полученных образцов, были проведены морфологические и биохимические тесты с целью идентификации рода и вида полученных микроорганизмов.*

***Ключевые слова:** кефирный гриб, молочнокислые бактерии, уксусноклые бактерии, дрожжи, Lactobacillus, Lactococcus.

Введение

Кефирные грибки (в англоязычной литературе – *kefir grains*)— скопления микроорганизмов, удерживаемых вместе полисахаридной матрицей под названием кефиран. Зерна представляют собой мягкую желеобразную массу белого, слегка желтоватого цвета, состоящую из белка, липидов и полисахарида, кефирного комплекса, который окружает дрожжи и бактерии в зернах кефира.

Еще Луи Пастером было отмечено положительное влияние кисломолочных продуктов на организм человеках. В трудах И.И. Мечникова, связанных с изучением долголетия человека, было отмечено, что содержащиеся в кисломолочных продуктах бактерии могут подавлять рост патогенной микрофлоры в кишечнике человека.

В сравнении с другими кисломолочными продуктами, кефир отличается тем, что в нем идет сразу несколько процессов брожения: молочнокислое, спиртовое и уксуснокислое. В связи с этим, в конечном продукте возрастает количество основных витаминов, что в свою очередь благоприятно сказывается на функциях нервной системы [2]. Регулярное потребление кефира нормализует пищеварение, оказывает антибактериальный, гипохолестеринемический, антигипертензивный, противовоспалительный эффекты на организм, а также способствует снижению глюкозы в плазме крови [1].

Чаще всего в кефирных грибках встречаются бактерии рода *Lactobacillus*, составляющие около 80% от общего числа микроорганизмов. В ряде исследований были выделены такие виды как: *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus viridescens, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus casei, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus kefiranofaciens, Lactobacillus kefir, Lactobacillus parakefir* [1]. В частности, *Lactobacillus kefiranofaciens* является продуцентом внеклеточного полисахарида кефирана, способствующего в создании полисахаридной оболочки кефирных зерен [4]. От 5 до 8% от общего числа микроорганизмов приходится на представителей рода *Lactococcus*. Дрожжи составляют 1,75%. По данным [5] в кефирном грибе встречаются предстоятели рода *Saccharamyces* (*S. delbrueckii, S. cerevisiae, S. unisporus*), *Candida* (*C. ker, C. holmii, C. friedrichii, C. humilis*), *Kluyveromyces* (*K. lactis, K. marxianus*), а также *Torulaspora delbrueckii, Dekkera bruxellensis* и *Pichia fermentans*. 0,05% приходится на уксусноскислые бактерии. В процессе метаболизма дрожжей образуется этиловый спирт, который служит субстратом для этого рода бактерий. Вместе с *Lactobacillus kefiranofaciens* уксуснокислые бактерии продуцируют полисахариды, которые позволяют поддерживать структуру кефирного гриба.

Некоторые источники упоминают присутствие представителей рода *Leuconostoc*.

Цель работы

Выделение микроорганизмов, входящих в состав кефирного гриба, и их идентификация.

Материалы и методы

В лаборатории полученные образцы кефирных грибов поддерживали в стерильном молоке 1,5% жирности при комнатной температуре. В процессе работы старались выдерживать соотношение массы грибка и среды в предках 1:40-1:50 по массе. В процессе выращивания кефирного гриба при данных условиях скорость образования сгустка составляла около суток. Не допускалось образование сыворотки и выпадения хлопьев казеина. По мере роста биомассы, стараясь сохранить первоначальное соотношение гриб/среда, меняли объем используемого молока.

Питательные среды. Для выделения молочнокислых бактерий пользовались следующими средами: MRS, универсальная среда для культивирования молочнокислых бактерий. Агар Ли предназначается для дифференцирования *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus bulgaricus*, поскольку последний не сбраживает сахарозу, но также на этой среде хорошо растут представители рода *Lactococcus*. Среда Богданова используется для интенсивного роста ароматообразующих стрептококков.

Для выделения уксуснокислый бактерий использовалась как жидкая, так и плотная среда на основе среды Хестрина-Шрама (HS). Для накопления уксуснокислых бактерий была использована жидкая среда с добавлением 1% этилового спирта (HSE). Этиловый спирт добавлялся асептически перед посевом микроорганизмов. Для культивирования на плотной среде к основной среде HS добавляли карбонат кальция, для нейтрализации образующийся уксусной кислоты, а также для первичной идентификации колоний уксуснокислых бактерий по образующимся прозрачным зонам растворения мела ($HS+CaCO_3$).

Для выделения дрожжей пользовались средой Сабуро с хлорамфиниколом.

Выделение бактерий и дрожжей. В ступку помещалась навеска кефирного гриба массой 1 грамм. Затем к образцу добавлялось 9 мл физиологического раствора и тщательно растирали при помощи пестика. Из полученной суспензии приготавливали последовательные разведения. В нашем случае мы пользовались IV разведением. Для посева из последней пробирки отбиралось 250 микролитров и помешали в чашки Петри с застывшим агаром. Суспензию распределяли по среде, пользуясь шпателем Дригальсткого. Посевы с молочнокислыми бактериями ставили в термостат при температуре в 37℃. Дрожжи выдерживали при 30℃.

Для накопления уксуснокислых бактерий в колбы на 250 мл помещали 100 мл жидкой среды HSE помещали 250 микролитров из пробирки с IV разведением и термостатировали сутки при температуре 30℃. После при помощи бактериологической петли переносили посевы на плотную среду $HS+CaCO_3$ и помещали в термостат.

Результаты и обсуждение

Спустя 24 часа после термостаирования на всех чашках было заметно развитие колоний дрожжей. При их микроскопии, в частности со сред предназначенных для культивирования молочнокислых бактерий, чистых культур не было обнаружено. Вокруг дрожжевых клеток и на протяжении псевдомицелия были заметны, в одних случаях— короткие цепочки стрептококков, в других— короткие палочки, закругленные с обоих концов.

Помимо дрожжей на средах MRS, Богданова и агаре Ли были обнаружен мелкие, около 1-2 мм в диаметре, отдельно лежащие колонии. Выросшие колонии были пересеяны на пробирки, содержащие стерильное молоко.

После термостатирования среды $HS+CaCO_3$, были обнаружены зоны расторжения мела, свидетельствующие о росте уксуснокислых бактерий.

При микроскопии отельных колоний дрожжей, выросших на среде Сабуро, не было обнаружено бактериальных клеток, что свидетельствовало о наличии чистых культур.

Идентификация микроорганизмов

Молочнокислые бактерии. После того, как в пробирках образовался сгусток, были приготовлены микропрепараты и, в результате последующей микроскопии, образцы были разделены на две группы: в первую были отнесены те, на которых были обнаружены лактобациллы — *Lactobacillus* (Lb), во вторую те, где обнаруживались стрептококки—*Lactococcus* (Lc).

Lactobacillus. Всего было собрано 11 изолятов лактобацилл. Морфологически, по характерным признакам, можно было различить представителей вида *Lactobacillus helveticus*, образующие прямые, слегка изогнутые на одном конце палочки с закругленными концами, растущие в виде характерных цепочек. Данные представители были обнаружены под номерами Lb-2 и Lb-8. Также можно было распознать представителей болгарской палочки (*Lactobacillus bulgaricus*), крупные бактерии с закругленными концами, одиночные и зернистые (образец Lb- 6). Различимы были и представители вида *Lactobacillus acidophilus* (ацидофильная палочка), растущие в виде крупных прямых палочек. Данные бактерии были обнаружены в образце Lb-3.

Другие образцы при помощи микроскопии различить не удалось. В образцах Lb-1— Lb-4, Lb-6, Lb-8, Lb-9 наблюдалось гомоферментативное молочнокислое брожение. Не было замечено следов образования газа. Сгусток был однородный. Рост бактериальных клеток частично наблюдался при температуре 20℃, но большинство бактерий росло при температуре в 45℃. Образцы Lb-5, Lb-7, Lb-10 и Lb-11 вызывали гетероферментативное молочнокислое брожение. Сгусток расслаивался на сыворотку и отдельные хлопья казеина. Наблюдалось образование газа. У образцов Lb-5, Lb-7, Lb-10 прослеживался рост при температуре 15℃. При повышбении температуры до 45℃, рост прекращался. У Lb-11 образование сгустка происходило при 45℃, но при 15℃ никаких изменений не наблюдалось.

Для определения видовой принадлежности были поставлены реакции на сбраживание углеводов. Этим реакциям были подвергнуты и те образцы, чей вид был определен на основе морфологии (Lb-2, Lb-3, Lb-6, Lb-8). Результаты были отображены в таблице.

Таблица 1

Биохимические свойства образцов *Lactobacillus (Lb)*

	Lb-1	Lb-2	Lb-3	Lb-4	Lb-5	Lb-6	Lb-7	Lb-8	Lb-9	Lb-10	Lb-11
арабиноза	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ксилоза	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
лактоза	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
мальтоза	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
маннит	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
мелецитоза	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
мелибиоза	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+
рамноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
раффиноза	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
рибоза	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
салицин	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
сахароза	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
сорбит	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
трегалоза	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
фруктоза	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
целлобиоза	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
эскулин	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-

В результате сбраживания углеводов, было подтверждено, что образцы Lb-2 и Lb-8 относятся к представителям вида *Lactobacillus helveticus,* Lb- 6– к виду *Lactobacillus bulgaricus*, а Lb-3 к *Lactobacillus acidophilus.*

Согласно определителю бактерий Берджи [2], исследуемые нами образцы были отнесены к следующим видам бактерий. Lb-1 и Lb-4 к виду *Lactobacillus plantarum*; Lb-5 — *Lactobacillus brevis,* Lb-7 — *Lactobacillus kefir,* Lb-9 — *Lactobacillus casei,* Lb-10 — *Lactobacillus viridescens,* Lb-11— *Lactobacillus fermentum.*

Lactococcus. Другие собранные образцы, отнесенные нами к представляем рода *Lactococcus*, были также пронумерованы. Всего нами было отобрано 6 проб. Полученные микроорганизмы культивировали на стерильном молоке. После изготовления микропрепаратов нами были замечены представители вида *Lactococcus lactis*, растущее в виде диплококов, правильной кокковой формы, образующих цепочки от 3 до 6 клеток. Образцы, обозначенные нами номерами Lc-4 и Lc-5, представляли собой кокки сферической формы, образовывавшие длинные цепочки. Данные образцы можно было отнести, как и к представителям термофильного стрептококка (*Streptococcus thermophilus*), так и к виду *Lactococcus cremoris,* также образующему длинные цепочки. Для точного установления вида бактерий были проведены качественные реакции, представленные в таблице.

Таблица 2

Биохимические свойства образцов *Lactococcus (Lc)*

	Lc-1	Lc-2	Lc-3	Lc-4	Lc-5	Lc-6
рост при 10 ℃	+	+	+	-	-	+
рост при 45 ℃	-	-	-	+	+	-
рост в молоке с метиленовой синью	+	+	-	-	-	-
аммиак из аргинина	+	+	-	-	-	-
NaCl 6,5%	-	-	-	-	-	-

По данным определителя бактерий Берджи [2] было установлено, что образцы Lc-1, Lc-2 и Lc-3 относятся к виду *Lactococcus lactis.* Lc-4 и Lc-5 были определены нами как *Streptococcus thermophilus.* Lc-6 был отнесены нами к виду *Lactococcus cremoris.*

Дрожжи. Из отдельно лежащих колоний, выросших на среде Сабуро с хлорамфиниколом, были отобраны не содержащие бактерии дрожжевые клетки. Они были перенесены на пробирочные косяки с аналогичной средой без антибиотика. Всего было отобрано 7 образцов.

Таблица 3

Биохимические и морфологические особенности образцов дрожжей (Y)

Морфологические особенности полученных образцов дрожжей							
	Y-1	Y-2	Y-3	Y-4	Y-5	Y-6	Y-7
цвет колоний	белый	белый	кремовый	белые	кремовые	желтовато-белые	кремовый
внешний вид колонии	гладкие	гладкие	гладкий	гладкие	гладкие	гладкие	гладкие
морфология клеток	круглые	круглые	овальные	овальные	овальные	овальные	овальные
образования псевдо-мицелия	-	-	-	+	+	+	-
Биохимичесике свойства полученных образцов дрожжей							
глюкоза	+	+	+	+	+	+	+
сахароза	+	+	+	-	+	+	-
лактоза	-	-	-	+	+	+	+
мальтоза	+	+	-	-	-	-	-
ксилоза	-	-	-	-	-	-	-
галактоза	-	+	+	-	+	+	+
рамоноза	-	-	-	-	-	-	-

На основе полученных культур, мы попытались определить родовую принадлежность дрожжей. В таблицу были занесены вид и форма колоний, а также морфологические особенности дрожжевых клеток. На основе статьи [4] были поставлены тесты на сбраживание углеводов. В пробирки с средой Сабу-ро и исследуемым углеводом были помешены пробирки Уленгута, что помогало отслеживать процесс брожение.

Y-1и Y-2 были отнесены нами к роду *Saccharomyces*. Большинство выделенных нами образцов, с Y-3 по Y-7, были отнесены к роду *Kluyveromyces*.

Уксуснокислые бактерии. Со среды HS+$CaCO_3$ были отобраны несколько образцов. При росте не плотной среде они образовали зоны расторжения карбоната кальция. Все они при микроскопии имели схожую морфологию: слега вытянуты палочки, зачастую растущее в виде цепочек. Основным продуктом метаболизма этих бактерий являлась уксусная кислота. При наличии в среде только этилового спирта рост бактерий не наблюдался. Но в присутствие меньшего, по сравнению с исходным, количества глюкозы и добавлении к нему этилового спирта— рост бактериальных клеток увеличивался. У бактерий присутствовала каталазная активность. По полученным нами данным, мы определили вид бактерий как *Acetobacter aceti*.

Заключение

На основе полученных данных мы можем судить о разнообразии микрофлоры кефирного гриба. Можно сделать предположение насколько многообразны биохимические взаимоотношения представителей разных родов бактерий, а также взаимодействия, складывающийся между бактериями и дрожжами.

В нашем исследовании не были найдены все описываемые в литературе представители бактерий и дрожжей. Это говорит об уникальности каждого получаемого образца кефирного гриба, а также о необходимости иных подходов к выделению и изучению микроорганизмов.

Изучение микрофлоры кефирных грибов может помочь нам в нахождении новых штаммов бактерий, которые могут использоваться не только в молочной промышленности для получения новых видов заквасок, но и для поиска новых, возможно более эффективных, пробиотиков.

Список литературы:

1. А. В. Бегунова, О. С. Савинова, К. В. Моисеенко [и др.] / Характеристика и функциональные свойства лактобацилл, выделенных из кефирных грибков // Прикладная биохимия и микробиология. – 2021. – Т. 57, № 4. – С. 362-373. – DOI 10.31857/S0555109921040036. – EDN CNPPRF.
2. Определитель бактерий Берджи [Текст]: в 2-х томах / [Р. Беркли и др.]; под ред. Дж. Хоулта [и др.] ; пер. с англ. под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина. - 9-е изд. - Москва: Мир, 1997. Т. 1. - 1997. - 429, [1] с. : ил.; ISBN 5-03-003111-1.
3. Шевченко В.В. Малютенкова С.М., Вытовтов А.А. и др. Товароведение и экспертиза потребительских товаров. - М.: Инфра-М, 2009.
4. Gao, Jie & Gu, Fengying & Abdella, Nesredin & Ruan, Hui & He, Guoqing. (2012). Investigation on Culturable Microflora in Tibetan Kefir Grains from Different Areas of China. Journal of food science. 77. M425-33. 10.1111/j.1750-3841.2012.02805.x.
5. Garrote, Graciela & Abraham, Analía & De Antoni, Graciela. (2001). Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. The Journal of dairy research. 68. 639-52. 10.1017/S0022029901005210.

УДК 631.4

ОСОБЕННОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ ДРОЖЖЕЙ И МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КЕФИРНОГО ГРИБА

Козлов Андрей Владимирович*, д.б.н., доцент, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.kozlov@rgau-msha.ru.*

Славнов Илья Витальевич*, студент 3 курса Института зоотехнии и биологии, кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ilya.slavnov@bk.ru.*

Новикова Ксения Игоревна, *студентка 3 курса Института зоотехнии и биологии, кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, nokia_nik@bk.ru*

Кутайцев Георгий Валерьевич, *студент 3 курса Института зоотехнии и биологии, кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, gohakutaicev@gmail.com.*

Аннотация: *Кефирный гриб представляет собой естественно сформировавшийся симбиотический консорциум микроорганизмов. В его состав входят несколько представителей родов бактерий, а также дрожжи. Тесные взаимоотношения, сформировавшиеся между микроорганизмами, зачастую препятствуют их выделению в чистые культуры. В данной работе рассматриваются методы получения и идентификации чистых культур бактерий и дрожжей, встречающихся в кефирном грибе.*

Ключевые слова: кефирный гриб, симбиоз, молочнокислые бактерии, дрожжи.

Введение

Одной из наиболее важных экологических функций межвидового обмена метаболитами является взаимное обогащение питательными веществами. Трофические взаимодействия позволяют многочисленным группам организмов выживать в условиях ограниченных ресурсов, увеличивают разнообразие сообществ и, в глобальном масштабе, стимулируют круговорот элементов [4].

Одним из примеров симбиотического взаимоотношения микроорганизмов является кефирный грибки. Кефирные грибки (в англоязычной литературе – *kefir grains*) — скопления микроорганизмов, удерживаемых вместе полисахаридной матрицей под названием кефиран. Зерна представляют собой мягкую желеобразную массу белого, слегка желтоватого цвета, состоящую из белка, липидов и полисахарида— кефирного комплекса, который окружает дрожжи и бактерии в кефирных зернах. В кефирных грибках наиболее часто встречаются представители молочнокислых бактерий и дрожжи. Реже в них обнаруживаются уксуснокислые бактерии, иногда представители рода *Leuconostoc*.

Цель работы

Изучение и описания особенностей выделения молочнокислых бактерий и дрожжей, получаемых из кефирного гриба.

Материалы и методы

В лаборатории образцы кефирного гриба поддерживали в стерильном молоке 1,5% жирности при комнатной температуре, в соотношении 1:40-1:50 по массе. После образования сгустка, полученный кисломолочный продукт процеживали сквозь стерильное металлическое ситечко, аккуратно стряхивая оставшийся на грибке сгусток. Затем промывали биомассу стерильным физиологическим растром и помешали в новую порцию среды.

Выделение бактерий и дрожжей осуществилось следующим образом. В ступку помещалась навеска кефирного гриба массой 1 грамм. Затем к образцу добавлялось 9 мл физиологического раствора и тщательно растиралось при помощи пестика. Из полученной суспензии приготавливали последовательные разведения. В нашем случае мы пользовались IV [2]. Для посева из последней пробирки отбиралось 250 микролитров и помешалось в чашки Петри с застывшим агаром. Посев производили поверхностно. Суспензию распределяли по среде, пользуясь шпателем Дригальсткого.

Питательные среды. Для выделения молочнокислых бактерий пользовались следующими средами: MRS, универсальная среда для культивирования молочнокислых бактерий, и Агаром Ли, предназначенным для дифференцирования *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus bulgaricus*, поскольку последний не сбраживает сахарозу, но также на нем хорошо растут представители рода *Lactococcus*. Для выделения дрожжей пользовались средой Сабуро. В последующем к ней добавляли 0,05 г/л хлорамфиникола.

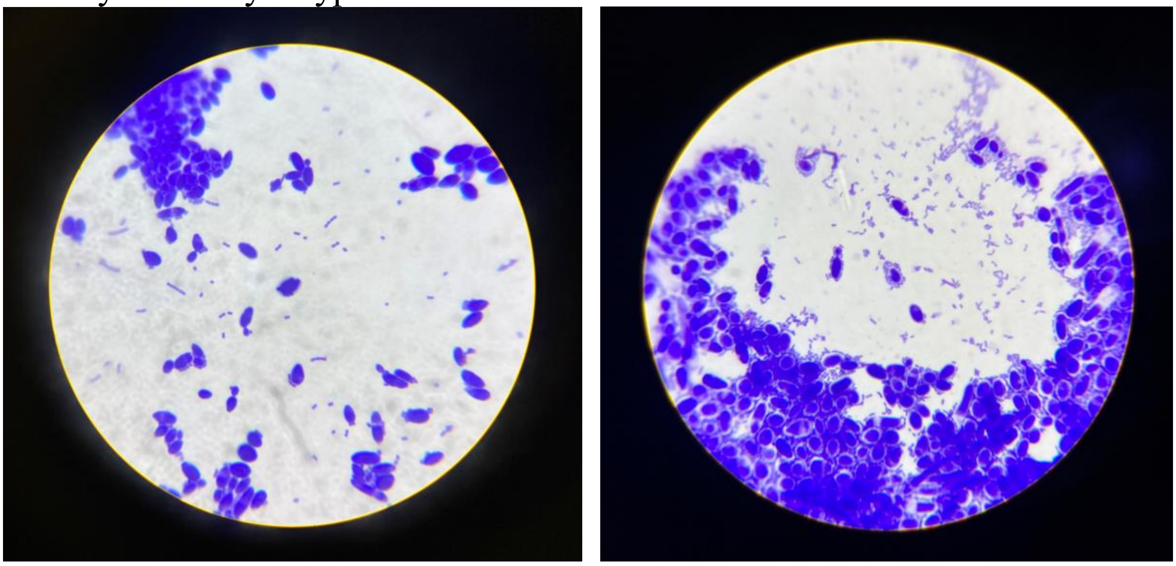
Посевы, направленные на выделение дрожжей термостатировали 24 часа при 30. Среды с молочнокислыми бактериями выдерживали при 37℃ в течение 24-48 часов.

Результаты и обсуждение

Оценка выросших колоний проводилась спустя сутки. На средах MRS и Ли были замеченные мелкие, характерные для представителей молочнокислых бактерий колонии. Помимо них присутствовали более крупные, гладкие колонии, характерные для дрожжей. На среде Сабуро различали круглые гладкие белые колонии представителей дрожжевых грибов. Из всех дрожжевых колоний были приготовлены микропрепараты. При микроскопии были выявлены как «чистые», содержащие исключительно дрожжевые клетки, так и «загрязненные» колонии, где помимо дрожжей наблюдалось присутствие бактерий. Внешне контаминированные колонии никак не отличались от тех, где не встречались бактериальные клетки.

Данная картина наблюдалась довольно часто. В большинстве встретившихся «загрязненных» образцов дрожжевую клетку окружали короткие, закругленные с обоих концов палочки. Бактерии примыкали непосредственно к клеточной стенке. На образующемся псевдомицелии можно было отчетливо увидеть присутствие бактерий. В некоторых случаях мы обнаруживали и короткие цепочки кокков. Они были достаточно немногочисленны, но при этом также плотно прилегали к дрожжевым клеткам.

Рисунок 1. Культура



После микроскопии все исследуемые колонии были пересеяны с целью получения чистых культур. Для выделения дрожжей в среду Сабуро добавляли хлорамфиникол. Для получения бактерий— методом истощающего посева образцы пересевали на новые среды MRS и Ли.

Спустя сутки на среде Сабуро с хлорамфиниколом можно было найти чистые колонии дрожжей, не содержащие бактериальных клеток. На средах для молочнокислых бактерий образовались мелкие, молочного цвета колони, морфологически характерные для рода *Lactobacillus*. Но при микроскопии были найдены дрожжи, окруженные короткими палочками. Спустя еще двое суток, мелкие колонии разрастались и визуально становились похожи на дрожжевые. На третьи сутки термостатирования возле крупных колоний начали образовываться более мелкие.

Рисунок 2. Чашки Петри

На среде Ли они окрашивались в тёмно-синий цвет. После просмотра фиксированного препарата были обнаружены короткие палочки без присутствия дрожжей.

Идентификация дрожжей и бактерий. Выделенные в чистую культуру бактерии на плотной среде MRS образуют мелкие колонии диаметром около 1 миллиметра: поверхностные - круглые, беловатые; глубинные - лодочкообразные. При микроскопии и окраске метиленовой синью видны правильные палочки с закругленными концами. При окраске по Грамму палочки были грамположительны.

Основным продуктом метаболизма в процессе жизнедеятельности данных бактерий является молочная кислота. При росте на молоке образуют плотный сгусток без следов газообразования. Рост бактерий прослеживался как при 15℃, так и при 45℃.

Для определения видовой принадлежности полученного изолята были поставлены реакции на установление сахаролитических свойств данных представителей бактерий. Была установлена способность полученных образцов сбраживать глюкозу, галактозу, лактозу, мальтозу, маннит, рибозу, рафинозу, сахарозу, сорбит, фруктозу и целлобиозу. При сбраживании глюконата образуется газ. Арабиноза, рамноза и ксилоза не сбраживаются.

На основании полученных данных и определителя бактерий Берджи [1] полученный изолят был отнесен к виду *Lactobacillus plantarum.*

При установлении родовой принадлежности полученных изолятов чистой культуры дрожжей пользовались морфологическими и биохимичеими особенностями данных образцов. Полученные результаты были занесены в таблицу.

Основываясь на данные статьи [3] полученные изоляты дрожжей были отнесены к роду *Kluyveromyces.*

Таблица 1

Биохимические и морфологические особенности образцов дрожжей

Морфологические особенности полученных изолятов дрожжей					
	Y-1	Y-2	Y-3	Y-4	Y-5
цвет колоний	белые	белые	желтовато-белые	желтовато-белые	белые
внешний вид колонии	гладкий	гладкие	гладкие	гладкие	гладкие
внещний вид клеток	овальные	овальные	овальные	овальные	овальные
образования псевдомицелия	-	+	+	+	-
Биохимичесике свойства полученных изолятов дрожжей					
галактоза	+	-	+	+	+
глюкоза	+	+	+	+	+
ксилоза	-	-	-	-	-
лактоза	-	+	-	+	+
мальтоза	-	-	-	-	-
раминоза	-	-	-	-	-
сахароза	+	-	-	+	-

Заключение

Полученные данные позволяют нам судить о том, насколько тесны взаимоотношения, сложившиеся между бактериями и дрожжами в кефирном грибе. На этапе получения чистых культур микроорганизмов возникло не мало трудностей, поскольку даже при высевании на среду Сабуро (не содержащую в себе антибиотик), дрожжи содержали в отдельно лежащих колониях следы бактерий. Представителей рода *Lactococcus*, найденных нами в некоторых образцах, так и не удалось выделить. При высеве на среды MRS и Ли «загрзненных» дрожжевых колоний, содержащих в себе лактококки, по истечение пяти суток, на питательной среде не было замечено роста молочнокислых бактерий.

Все это свидетельствует о тесных трофических взаимоотношениях, складывающихся между микроорганизмами. Выделение чистых культур бактерий и дрожжей требует в таких случаях иного подхода, поскольку при использовании классических методов, зачастую, не позволяет добиться желаемого результата.

Список литературы:
1. Определитель бактерий Берджи [Текст]: в 2-х томах / [Р. Беркли и др.]; под ред. Дж. Хоулта [и др.]; пер. с англ. под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина. – 9 -е изд. - Москва: Мир, 1997. Т. 1. - 1997. - 429, [1] с.: ил.; ISBN 5-03-003111-1
2. Скородумова, А. М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов [Текст] / А. М. Скородумова. - 2-е изд., испр. и доп. - Москва; Ленинград: Сельхозгиз, 1949 (Л.: тип. "Печат. двор"). - 292 с.: ил.; 20 см.
3. Gao, Jie & Gu, Fengying & Abdella, Nesredin & Ruan, Hui & He, Guoqing. (2012). Investigation on Culturable Microflora in Tibetan Kefir Grains from Different Areas of China. Journal of food science. 77. M425-33. 10.1111/j.1750-3841.2012.02805.x.
4. Ponomarova, Olga & Gabrielli, Natalia & Sévin, Daniel & Mülleder, Michael & Zirngibl, Katharina & Bulyha, Katsiaryna & Andrejev, Sergej & Kafkia, Eleni & Typas, Athanasios & Sauer, Uwe & Ralser, Markus & Patil, Kiran. (2017). Yeast Creates a Niche for Symbiotic Lactic Acid Bacteria through Nitrogen Overflow. Cell Systems. 5. 10.1016/j.cels.2017.09.002.

УДК 619. 579.62

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ЦИСТИТЕ У КОШЕК, К РАЗЛИЧНЫМ ВИДАМ АНТИБИОТИКОВ

Кузин Юрий Андреевич*, студент 4 курса института Зоотехнии и Биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. yura.kuzin1990@gmail.com*
Галкина Эвелина Алексеевна *студент 4 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева.*
(Научный руководитель – Свистунов Дмитрий Валерьевич, ассистент кафедры ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. svist@rgau-msha.ru)

Аннотация*: в данной работе исследуется эффективность применения различных антибиотиков и химиопрепаратов для потенциального лечения бактериального цистита у кошек и котов различных возрастов. Определение антибиотикорезистентности штаммов бактерий играет ключевую роль при лечении бактериальных инфекций. Результаты данного исследования могут быть использованы при разработке стратегии лечения кошек с бактериальным циститом.*

Ключевые слова*:* антибиотики, антибиотикорезистентность, бактериальный цистит, антибиотикотерапия, микрофлора.

Материал и методы исследований.

Исследование проводилось на базе анализов, собранных в ветеринарной клинике в 2019-2024 гг. Для анализа были отобраны 385 пациентов с клиническими случаями дизурии, за исключением пациентов, подвергавшихся терапии или марсупиализации уретры ранее, а также имеющих заболевания почек, диабет, гипертиреоидизм. В данном случае была проведена оценка пациентов, имеющих нарушения в мочевыделительном тракте.

Anamnesis vitae и anamnesis morbi пациентов были изучены для определения следующих данных: пол, возраст, масса, особенности кормления и поения, особенности симптомов. У отобранных кошек провели анализ осадка мочи, для выявления случаев бактериального цистита. Образцы, в которых была обнаружена патогенная микрофлора, были подвергнуты бактериологическому исследованию, в ходе которого были выявлены следующие виды бактерий: Escherichia coli, Staphylococcus spp., Streptococcus spp., Enterococcus spp., Citrobacter spp.

Далее было проведено определение чувствительности микробов к антибиотикам методом диффузии в агар. На поверхность данного агара с испытуемыми микроорганизмами помещали диски, пропитанные следующими антибиотиками: амоксициллин, доксициклин, неомицин, нистатин, цефиксим, цефтриаксон; диаметром по 6 мм, на расстоянии 2,5 см друг от центра чашки и друг от друга, после чего их помещали в термостат при температуре 37 С в течение 18 часов. Для учёта результатов измеряли зоны задержки роста микробов вокруг дисков, помещённых в чашку.

Результаты исследований

По величине образованных зон задержки роста бактерий были сделаны выводы о степени чувствительности исследуемых бактерий к различным группам антибиотиков. Данные приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Чувствительность микрофлоры, выделенной из мочи кошек, больных циститом, к антибиотикам

Антибиотики	Чувствительность культур к антибиотикам (з.з.р., мм)				
	Escherichia coli	*Staphylococcus spp.*	*Streptococcus spp.*	*Enterococcus spp.*	*Citrobacter spp.*
Амоксициллин	16,56±0,48	16,97±0,37	8,35±0,25	0	14,8±0,13
Доксициклин	23,38±0,27	27,82±0,27	3,45±0,15	0	9,37±0,11
Неомицин	28,55±0,14	27,35±0,17	3,55±0,15	0	24,3±0,2
Нистатин	0	0	0	0	0
Цефиксим	17,06±0,13	17,44±0,28	16,9±0,1	0	17,6±0,13
Цефтриаксон	23,83±0,2	20,52±0,24	11,45±0,25	0	19,17±0,16

В рамках проведённого исследования было установлено, что наиболее эффективны препараты с Доксициклином, неомицином, цефтриаксоном, в меньшей степени – амоксициллин, цефексим, наименее эффективен нистатин. Таким образом, микрофлора, выведенная из мочи кошек больных бактериальным циститом, представленная в большей степени кишечной палочкой и грамположительными кокками, наиболее уязвима перед следующими антибиотиками: доксициклин, неомицин, цефтриаксон.

Заключение

Наиболее эффективными антибиотиками для лечения бактериального цистита у кошек, в моче которых обнаружены такие бактерии как кишечная палочки и грамположительные кокки будут являться цефтриаксон, неомицин, доксициклин, зона задержки роста которых равна соответственно 28,30±0,20, 23,55±0,14, 23,38±0,27 мм. Эти данные позволят оптимально проводить антибиотикотерапию, направленную на лечение бактериального цистита.

Список литературы:

1. Гиниятова, Д. А. Диагностика и лечение бактериального цистита кошек / Д. А. Гиниятова, М. А. Казанина // Современные проблемы патологии животных, морфологии, физиологии, фармакологии и токсикологии, Уфа, 2022 – С. 69-71.
2. Николаева, О. Н. Эффективность лечения бактериального цистита кошек / О. Н. Николаева, И. Р. Муллаярова, Е. Т. Муратова // Сборник научных трудов двенадцатой международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии, Москва, 2022 – С. 493-498.
3. Оразгелдиев, Б.Т. Этиология при цистите котов / Б. Т. Оразгелдиев, А. З. Мухитов // Проблемы методологии и опыт практического применения синергетического подхода в научных исследованиях, Часть 1, Стерлитамак, 2022 – С. 22-26.
4. Современное состояние и перспективы развития животноводства России и стран СНГ / В. И. Трухачев, Ю. А. Юлдашбаев, И. Ю. Свинарев [и др.]. – Москва: ООО «Мегаполис», 2022. – 337 с.

УДК 57.088

НОВЫЕ МЕТОДЫ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВИРУСА ЯЩУРА

***Лукоянова Дарья Александровна**, студентка 3 курса, педиатрического факультета, ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, lukoyanovadariya@yandex.ru*

(Научный руководитель – Зверев Владимир Владимирович, к.б.н., доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, arceo@yandex.ru)

***Аннотация:** В статье анализируются методы секвенирования нового поколения (NGS) и третьего поколения (Oxford Nanopore) для исследования вируса ящура. Рассматриваются преимущества и недостатки применения методов в диагностике и анализе генетической вариабельности вируса. Показана значимость новых методов секвенирования для ветеринарного надзора.*

Ключевые слова: вирус ящура (FMDV), секвенирование нового поколения (NGS), нанопоровое секвенирование (третье поколение), секвенирование Illumina, генетическая вариабельность, эпизоотологический мониторинг.

Вирус ящура (FMDV) (сем. *Picornaviridae*, род *Aphthovirus*) — один из наиболее опасных вирусных патогенов, способных вызывать масштабные эпизоотии среди сельскохозяйственных животных, что приводит к значительным экономическим потерям. Вирус высококонтагиозен и поражает парнокопытных животных различными путями. Как и другие РНК-содержащие вирусы, вирус ящура имеет высокую скорость мутации и демонстрирует большое генетическое разнообразие. В настоящее время существует семь признанных серотипов вируса ящура (т. е. O, A, C, Asia-1, южноафриканские территории 1–3), каждый из которых содержит отдельные генетические линии. Методы секвенирования нового поколения (NGS) стали важным инструментом изучения генетической изменчивости и эволюции FMDV, мониторинга распространения его штаммов в различных географических регионах и возникновения новых вариантов вируса. Эти методы позволяют получать высококачественные геномные данные, что способствует лучшему пониманию молекулярных механизмов вирусной вирулентности, патогенеза и персистенции. Кроме того, применение новых методов секвенирования в ветеринарном надзоре открывает новые горизонты для разработки эффективных стратегий вакцинации и контроля вспышек ящура; возможность анализа взаимодействия вируса с хозяином помогает в разработке новых терапевтических подходов и препаратов. Успешное применение секвенирования Illumina для анализа генома FMDV среди различных популяций и видов животных подтверждает актуальность применения NGS в сельском хозяйстве [1]. В условиях глобализации и изменения климата, использование современных технологий секвенирования становится критически важным для обеспечения продовольственной безопасности, поэтому методы NGS представляют собой мощный инструмент для борьбы с вирусом ящура и повышения устойчивости сельского хозяйства к инфекционным заболеваниям в целом. В данной статье мы рассмотрим основные новые методы секвенирования, их применение и значимость в исследовании вируса ящура в контексте сельского хозяйства.

Нанопоровое секвенирование (Oxford Nanopore) — это технология, которая находит все более широкое применение в сельском хозяйстве, особенно в мониторинге вируса ящура. Метод основан на считывании нуклеотидных последовательностей, когда молекулы ДНК или РНК проходят через нанопоры, что вызывает изменения в электрическом токе, регистрируемые в реальном времени. Благодаря своей способности генерировать длинные прочтения, нанопоровое секвенирование позволяет более точно выявлять мутации и структурные вариации в геноме, что критически важно для разработки эффективных стратегий контроля циркуляции вируса и вакцинации. В 2014 году компания Oxford Nanopore Technologies (ONT) выпустила MinION — небольшое портативное устройство для секвенирования, которое использует метод одномолекулярного секвенирования для получения длинных последовательностей из исходной нуклеиновой кислоты. Устройство питается от USB-порта компьютера и не требует подключения к интернету. В исследовании 2021 года в Великобритании проведено секвенирование штаммов FMDV, собранных в разные годы. В результате секвенирования продуктов ПЦР, амплифицированных из супернатантов клеточных культур, с помощью нанопорового секвенирования было получено в общей сложности $2{,}16 \times 10^6$ прочтений с 1227 активных пор для секвенирования. Из этих прочтений $2{,}01 \times 10^6$ (94%) прошли фильтр контроля качества. Сопоставление прочтений с соответствующими эталонными последовательностями показало, что $5{,}22 \times 10^5$ (26%) прочтений были идентифицированы как принадлежащие FMDV O/UKG, $4{,}19 \times 10^5$ (21%) — A/TAI и $4{,}31 \times 10^5$ (21%) — ASIA1/IRN. При этом $6{,}42 \times 10^5$ (32%) прочтений не совпали ни с одним из эталонных геномов FMDV. В ходе эксперимента с использованием продуктов ПЦР, полученных из клинического материала, было получено больше данных ($3{,}55 \times 10^6$ считываний с 564 активных пор) и более высокий процент (99%) считываний, прошедших проверку качества ($3{,}51 \times 10^6$). Однако «клинические» последовательности показали более низкую частоту сопоставления с соответствующими эталонными последовательностями: $2{,}73 \times 10^5$ (8%) последовательностей были идентифицированы как происходящие из O/UKG, $4{,}50 \times 10^5$ (13%) — из A/TAI и $8{,}64 \times 10^5$ (25%) — из ASIA1/IRN. Аналогичным образом, более высокая доля последовательностей (55%), полученных из клинических образцов, не совпала с эталонными геномами вируса ящура. Авторы приходят к выводу, что MinION может быть использован для точной и быстрой характеристики серотипов A, O и Asia 1 FMDV. Современные исследования показывают, что применение этой технологии в ветеринарии может значительно повысить скорость и точность диагностики вирусных инфекций у животных, что в свою очередь способствует улучшению здоровья скота и повышению продуктивности сельского хозяйства [2]. Мобильные устройства Oxford Nanopore расширяют возможности для быстрого реагирования на эпизоотологические угрозы, позволяя проводить секвенирование в удаленных сельскохозяйственных регионах. Несмотря на эти преимущества, технология имеет и свои недостатки, включая более низкую точность по сравнению с методами Illumina, что может привести к ошибкам в интерпретации данных. Высокая стоимость оборудования и расходных материалов также ограничивает её применение в рутинной практике ветеринарии [3]. Таким образом, несмотря на существующие ограничения, нанопоровое секвенирование представляет собой многообещающую технологию для применения в области ветеринарной вирусологии.

Секвенирование нового поколения - Illumina представляет собой один из наиболее эффективных методов для анализа генома вируса ящура в сельском хозяйстве. Процесс начинается с фрагментации геномной ДНК, после чего к фрагментам присоединяются специфические адаптеры, что позволяет проводить амплификацию и последующее секвенирование. Технология Illumina использует циклы синтетического секвенирования, где каждый цикл включает добавление нуклеотидов и считывание флуоресцентных сигналов, что обеспечивает высокую точность и производительность. Так, при исследовании эпизоотии ящура 2001 года в Великобритании, метод секвенирования Illumina позволил получить большое количество коротких последовательностей, которые были собраны и выровнены для определения консенсусной последовательности. Анализ был проведён для всех образцов FMDV типа O с достаточным количеством прочтений. На основе этого было рассчитано среднее значение, показывающее, что для получения точной консенсусной последовательности в данном случае требуется минимальное количество прочтений — 22. Последовательность консенсуса, полученная при различных уровнях покрытия, была проверена на точность. Были проанализированы изоляты O/UKG/1450/2001, O/UKG/1558/2001, O/UKG/1734/2001, O/UKG/4998/2001и O/UKG/14597/2001, а также образец типа O из панели серотипов. Оказалось, что в среднем идентичность сохранялась на уровне 1 вплоть до (и включая) ограничения в 22 прочтения. При меньшем количестве прочтений точность идентичности сравниваемых консенсусных последовательностей снижалась, то есть консенсусные последовательности, полученные с помощью 22-кратного набора прочтений, были идентичны консенсусу. Стоит отметить, что данный метод позволяет не только получать полные геномные последовательности, но и выявлять мутации, которые могут быть связаны с изменениями в вирулентности вируса [4]. Однако у этого метода есть и недостатки, включая необходимость в сложной подготовке образцов и высокие затраты на оборудование и расходные материалы. Также, в отличие от нанопорового секвенирования, Illumina не позволяет проводить анализ в реальном времени, что может быть критично для диагностики в условиях вспышек заболевания [5]. Несмотря на эти ограничения, секвенирование Illumina остается золотым стандартом в области генетики благодаря своей надежности и точности. Секвенирование Illumina представляет собой эффективный метод исследования для мониторинга и контроля таких заболеваний как ящур.

Применение методов новых методов секвенирования для исследования вируса ящура значительно расширяет наши возможности по изучению его генетической структуры и молекулярной эволюции. Сравнительный анализ нанопорового секвенирования (Oxford Nanopore) и секвенирования Illumina демонстрирует уникальные преимущества каждого из этих подходов. Нанопоровое секвенирование обеспечивает возможность получения длинных прочтений, что позволяет более точно определять структурные вариации и геномные перестройки вируса. В то же время, секвенирование Illumina предлагает высокую точность и большую глубину покрытия, что делает его идеальным методом для детального анализа генетической вариабельности и мониторинга циркулирующих штаммов. Совместное использование этих технологий может существенно повысить эффективность диагностики и мониторинга FMDV. Данные, полученные с помощью NGS, не только способствуют более быстрому реагированию на вспышки заболевания, но и помогают в разработке целевых вакцин и лекарственных препаратов. Однако для успешной интеграции этих методов в практику ветеринарии необходимо обеспечить сотрудничество между исследователями, ветеринарами и государственными органами. Будущее исследований вируса ящура будет зависеть, в том числе, от дальнейших усилий по оптимизации технологий секвенирования и их адаптации к реальным условиям.

Список литературы:
1. Zhang H., et al. Next-generation sequencing for the genomic analysis of foot-and-mouth disease virus: Advances and applications // Viruses. – 2022 – Vol.14 – P.789-798
2. Emma B., et al. Characterising foot-and-mouth disease virus in clinical samples using nanopore sequencing // Frontiers in Veterinary Science. – 2021 – Vol.8 – P.1-4
3. Schmidt H. A., et al. Advancements in nanopore sequencing technology // Nature Reviews Genetics. – 2021 – Vol.22(12) – P.789-802
4. Liu Y., et al. Application of Illumina sequencing for the genomic analysis of foot-and-mouth disease virus // Viruses. – 2023 – Vol.15 – P.456-467
5. De Vries R. P., et al. Next-generation sequencing for the characterization of viral pathogens // Frontiers in Microbiology. – 2021 – Vol.12 – P.1234-1245

УДК: 619:612- 017

КОРРЕКЦИЯ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПТИЦ ПРОПОЛИСОМ, ПРОБИОТИКОМ И ИХ КОМПОЗИЦИОННЫМИ ФОРМАМИ

Рябова Ирина Павловна*, студент 5 курса, института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Smailik1.stydio@gmail.com*
Пурахина Мария Валерьевна*, студент 3 курса направление подготовки 36.03.01 «Ветеринаринарно- санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. tasha.purakhina@mail.ru*
Галкин Петр Константинович*, студент 3 курса института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. ptr.galkin.04@mail.ru*
(Научный руководитель – Маннапова Рамзия Тимергалеевна, д-р биол. наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», ram.mannapova55@mail.ru)

Аннотация: *Благоприятное влияние на повышение бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови оказывает комплексное применение препаратов: прополис + пробиотик Иммунобак, прополис + отруби и прополис + цеолиты.*

Ключевые слова: прополис, пробиотик, отруби, цеолиты, цыплята, лизоцимная и бактерицидная активность.

Введение.

В современных условиях интенсивного развития промышленного птицеводства ведущая роль в получении высококачественной продукции принадлежит кормлению. Особое значение корма имеют в птицеводческих хозяйствах бройлерного направления. Они направлены на интенсивный рост и развитие цыплят и оказывают предельную нагрузку на все системы растущего организма, в том числе и иммунную. С другой стороны, до 20-дневного возраста цыплята-бройлеры подвергаются вакцинациям против ИБК (инфекционный бронхит кур), болезни Ньюкасла и ИББ (инфекционная бурсальская болезнь), что также мобилизирует иммунные реакции организма. Несмотря на получение хороших привесов живой массы не все откормочные возможности птиц-бройлеров, на этом фоне, могут быть достигнуты.

В этой связи целью наших исследований явилось – изучить возможность коррекции естественной резистентности птиц прополисом, пробиотиком «Иммунобак», цеолитами, отрубями и их композиционными формами.

Материал и методы исследований. В опытах цыплятах птиц, по принципу аналогов, разделили на 8 групп: 1 группа – контрольные; в рацион 2 группы вносили цеолиты, 3 группы – прополис, 4 группы пробиотик «Иммунобак», 5 группы – отруби пшеничные, 6 группы – цеолиты в комплексе с прополисом, 7 группы – пробиотик «Иммунобак» в комплексе с прополисом, 8 группы – отруби с прополисом.

10 % -ый спиртовый экстракт прополиса получали настаиванием в 96° этиловом спирте. Прополисное молочко готовили из расчета: 5 мл 10 % спиртового экстракта прополиса на 1000 мл кипяченной и охлажденной воды. Доза составила 0,5 мл на голову. Цеолиты применяли из расчета 2-3 г на голову. «Иммунобак» задавали внутрь с водой по 1 дозе. Пшеничные отруби использовали в дозе 5-10 г на голову. Дачу препаратов начинали с 6 дневного возраста. Курс составил 10 дней, 1 раз в сутки.

Бактерицидную активность гранулоцитов проводили по методике ВНИВИП (Р.Н. Коровин, 1995), основанной на выделении лизосомально-катионных белков. Лизоцимную активность определяли фотоэлектроколориметрическим методом.

Результаты исследований. Фоновый уровень бактерицидной активности сыворотки крови птиц 1-8 групп был значительно понижен и находился в диапазоне от 19,4 до 20,8%. В 1 контрольной группе данный показатель имел тенденцию к дальнейшему понижению до 16,0-16,5%. В сыворотке крови птиц всех опытных групп регистрировалось повышение бактерицидной активности сыворотки крови. Выраженность этого процесса была в разных группах не однотипной. Менее выраженным данный процесс был у птиц 2 группы. Здесь уровень бактерицидной активности сыворотки крови превысил показатели птиц 1 группы на 5,14,21,28 и 35 дни: в 1,06 раза (на 0,7%), в 1,13 раза (на 2,7%), в 1,8 раза (на 12,9%), в 1,74 раза (на 13,0%), в 1,81 раза (на 13,5%). Несколько выше были данные птиц 4 и 5 групп (пробиотик и отруби). Значительное повышение бактерицидной активности сыворотки крови регистрировалось в сыворотке крови птиц 3 группы. Здесь описываемый показатель значительно превысил данные птиц 1,2 групп: на 5 день опыта в 1,3 и 1,22 раза (на 5,8 и 4,5%), на 14 день – в 1,5 и 1,32 раза (на 9,9 и 7,2%), на 21 день – в 2,45 и 1,35 раза (на 23,3 и 10,4%), на 28 день – в 2,68 и 1,53 раза (на 29,3 и 16,3%), на 35 день – в в2,68 и 1,47 раза (на 27,8 и 14,3%). Более выраженная активизация бактерицидной активности сыворотки крови отмечалась при комплексном применении препаратов. Так, данный показатель в сыворотке крови птиц 6 группы с 21 дня опыта был выше контрольной цифры птиц 1 группы: на 5 день – в 1,48 раза (на 9,3 %), на 14 день – в 1,75 раза (на 14,9%), на 21 день – в 2,82 раза (на 29,2%), на 28 день – в 2,83 раза (на 32,0%), на 35 день – в 2,86 раза (на 30,7%).

Максимального уровня бактерицидная активность сыворотки крови достигла у птиц 7 группы. Здесь она к 5 дню была выше значения её у птиц 1 группы в 1,93 раза (на 17,7%), а в последующие сроки эксперимента превышала показатели птиц 1 контрольной и 2,3,4,5,6 опытных групп: на 14 день – в 2,5, в 2,2, в 1,66, в 1,87, в 1,98 и 1,42 раза (на 29,7, на 27,0, на 19,8, на 23,0, на 14,8%), на 21 день – в 3,76, в 2,08, в 1,53, в 1,67, в 1,96 и в 1,33 раза (на 44,2, на 31,3, на 20,9, на 24,3, на 29,6 и 15,0%). Самый высокий уровень бактерицидной активности сыворотки крови птиц 7 группы отмечался к 28 дню опыта. К этому периоду исследований она превысила контрольный уровень птиц 1 группы – в 3,7 раза (на 47,0%), 2 группы – в 2,11 раза (на 34,0%), 3 группы – в 1,37 раза (на 17,7%), 4 группы – в 1,47 раза (на 20,8%), 5 группы – в 1,59 раза (на 24,0%), 6 группы – в 1,3 раза (на 15,0%).

К концу опыта (35 дней) регистрировалось некоторое понижение бактерицидной активности сыворотки крови птиц 7 группы, по сравнению с предыдущим сроком опыта, в 1,04 раза (на 2,8%), но он оставался на самом высоком уровне и превышал данные птиц 1 группы. Показатели бактерицидной активности сыворотки крови птиц 8 группы были выше параметров 1, 2, 3, 4, 5, 6 групп и уступали лишь данным птиц 7 группы.

Заключение. Внесение в рацион птиц композиционных форм прополис + Иммунобак, прополис + отруби и прополис + цеолиты значительно активизирует показатели естественной резистентности (бактерицидной активности максимально в 3,7, в 3,27 и 2,83; лизоцимной – в 1,94, в 1,78 и 1,73 раза).

Список литературы:

1. Свистунов, Д. В. Биологически активные продукты пчел для активизации процессов кроветворения у здоровых и больных кандидамикозами перепелов / Д. В. Свистунов // Известия Дагестанского ГАУ. – 2024. – № 1(21). – С. 165-170.

2. Свистунов, Д. В. Естественные механизмы иммунной защиты перепелов под влиянием продуктов пчеловодства / Д. В. Свистунов, Р. Т. Маннапова // Международная научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 180-летию со дня рождения К.А. Тимирязева: Сборник статей, Москва, 05–07 июня 2023 года. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2023. – С. 97-103.

3. Маннапова, Р. Т. Степень иммуноморфологической активности селезенки перепелов под влиянием продуктов пчеловодства / Р. Т. Маннапова, Д. В. Свистунов // Известия Дагестанского ГАУ. – 2023. – № 2(18). – С. 96-101.

4. Современное состояние и перспективы развития животноводства России и стран СНГ / В. И. Трухачев, Ю. А. Юлдашбаев, И. Ю. Свинарев [и др.]. – Москва: ООО «Мегаполис», 2022. – 337 с.

5. Маннапова, Р. Р. Активизация биологически активными продуктами пчеловодства в организме перепелов процессов гемопоэза / Р. Р. Маннапова, Д. В. Свистунов // Естественные и технические науки. – 2022. – № 5(168). – С. 77-80.

УДК (619:612:598.017):547

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПЧЕЛИНОГО ПОДМОРА

Соловьева Карина Анатольевна*, студент 3 курса, направление подготовки 36.03.01 «Ветеринаринарно- санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Popic1@mail.ru*

Часова Виктория Алексеевна*, студент 3 курса, направление подготовки 36.03.01 «Ветеринаринарно- санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. glems-sssssssss@gmail.com*

Герасимова Ольга Алексеевна*, студент 3 курса, направление подготовки 36.03.01 «Ветеринаринарно- санитарная экспертиза», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. Bird-nbush1407@gmail.com*

(Научный руководитель – Маннапова Рамзия Тимергалеевна, д-р биол. наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», ram.mannapova55@mail.ru)

Аннотация: *Средние дозы экстракта пчелиного подмора вызывают выраженную активизацию и повышение в крови перепелов, показателей эритропоэза, увеличение гематокрита, содержания в крови тромбоцитов, лимфоцитов, моноцитов, базофилов, эозинофилов и псевдоэозинофилов. Высокие дозы ЭПП оказывают на организм перепелов супрессивное действие.*

Ключевые слова: перепела, эритропоэз, низкие, средние, высокие дозы, экстракт, пчелиный подмор.

Введение. В пчелином подморе содержатся компонентоы мёда, маточного молочка, пыльцы, яда, прополиса, воска, которые определяют его высокую биологическую активность. Хитозановый комплекс хитинового покрова пчел содержит уксусную кислоту, меланин, гепарин, глюкозамины, пчелиный яд. Меланин является антиоксидантом, фотопротектором и антимутагеном. В пчелином подморе обнаружены 27 жизненнонеобходимых микроэлементов и витаминов (Е, К, D, Р, С), белки, аминокислоты, пищевые волокна, жир [1 ,2, 3, 4, 5].

Материал и методы. Опыты проведены в условиях птичника кафедры птицеводства и в лабораториях кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева на перепелах мясной французской породы. Птиц разделили на 4 группы. 1 группа – контрольная, 2, 3, 4 – опытные, которым с 30 сут. выпаивали низкие, средние и высокие дозы экстракта пчелиного подмора с питьевой водой 0,1 мл экстракта пчелиного подмора (ЭПП) на 100 грамм массы птиц). Дозы составили во 2 группе – 0 ,05 мл/гол.; в 3 группе – 0,1 мл/гол; в 4 группе - 0,3 мл/гол. Выпаивание раствора проводили из пипеток, а в последующие сроки – групповым методом из поилок. Перерасчет доз ЭПП с учетом увеличения массы птиц проводили на 14 сут. опыта (29 суточные перепела). Взятие материала для исследования показателей эритропоэза перепелов проводили на 7, 14, 30, 45, 60, 90 и 210 сут. опыта. Фиксацию мазков крови проводили в 96° этиловом спирте по Яхонтовой, предварительно обработав их цитратом и оксалатом натрия. Мазки крови окрашивали Азур П – эозином и по Романовскому – Гимза.

Результаты исследований. Содержание эритроцитов в крови перепелов 2 группы, на фоне внесения в рацион с питьевой водой низкой дозы ЭПП, на 7 сут. от начала опыта, не отличалось от его уровня в крови птиц 1 группы. Средняя доза (3 группа) способствовала умеренному повышению уровня эритроцитов, по сравнению с контрольным уровнем – в 1,07 раза (на $0,2 \cdot 10^{12}$/л). Уровень эритроцитов в крови птиц 4 группы (высокая доза), напротив, в 1,08 раза был ниже, чем в контроле.

На 14 сут. эксперимента от начала опытов максимальное содержание эритроцитов регистрировалось в крови перепелов 3 группы, которое превысило данные по 1, 2 и 4 группам, соответственно, в 1,23; 1,07 и 1,61 раза (на 0,8; 0,3 и $1,6 \cdot 10^{12}$/л).

Процесс повышения выработки эритроцитов в крови птиц всех групп прогрессировал по срокам опыта, но при этом данные по 2 и 3 группам, во все сроки исследований, были выше, чем в контроле, а данные птиц 4 группы, напротив, имели тенденцию к снижению. К 30 сут. исследований показатели птиц 2 и 3 групп были выше контрольной цифры в 1,08 и 1,19 раза (0,3 и $0,7 \cdot 10^{12}$/л), тогда как уровень эритроцитов в крови птиц 4 группы уступал их значениям в крови перепелов 1, 2 и 3 групп – в 1,19; 1,29 и 1,42 раза (на 0,6; 0,9 и $1,3 \cdot 10^{12}$/л).

Значительное повышение уровня эритроцитов отмечалось на 45 сут. опыта. На этот срок исследований уровень эритроцитов в крови перепелов 2 и 3 групп был выше, чем у птиц 1 группы, в 1,1 и 1,17 раза (на 0,4 и $0,7 \cdot 10^{12}$/л), тогда как уровень эритроцитов в крови перепелов 4 группы уступал контрольной цифре в 1,38 раза (на $1,1 \cdot 10^{12}$/л).

Максимальная продукция красным костным мозгом птиц эритроцитов регистрировалась на 60 сут. опыта. К этому периоду показатели содержания эритроцитов в крови перепелов 2 и 3 групп были выше, чем в контроле, в 1,12 и 1,7 раза (на 0,5 и $0,8 \cdot 10^{12}$/л), а уровень эритроцитов в крови перепелов 4 группы в 1,28 раза (на $0,9 \cdot 10^{12}$/л) был ниже контрольного значения.

В последующие сроки исследований особых колебаний в содержании эритроцитов в крови перепелов контрольной и опытных групп не регистрировалось, по сравнению с предыдущим сроком опыта, и к 210 сут. опыта уровень эритроцитов в крови перепелов 2 и 3 групп продолжал превышать показатель контрольных птиц 1 группы в 1,15 и 1,22 раза (на 0,6 и $0,9 \cdot 10^{12}$/л), а данные по перепелам 4 группы - уступали контролю в 1,33 раза (на $1,0 \cdot 10^{12}$/л). ($P \geq 0,95$).

Уровень гемоглобина на 7 сут. от начала дачи с питьевой водой птицам ЭПП имел заметные колебания по группам, в сравнении с показателями птиц контрольной группы. Его содержание колебалось по группам в пределах от 115,6 до 136,4 г/л. У перепелов 2 и 3 групп он превысил контрольный уровень в 1,04 и 1,13 раза (на 5,0 и 16,4 г/л), а по 4 группе – был ниже его в 1,04 раза (на 4,4 г/л). ($P \geq 0,95$).

Эта тенденция продолжалась до конца опытов. К 14, 30, 45, 60 и 210 сут. исследований уровень гемоглобина в крови птиц 2 и 3 опытных групп был выше, чем в контрольной группе, в 1,06 и 1,14 раза (на 8,4 и 17,9 г/л); в 1,09 и 1,14 раза (на 13,1 и 19,7 г/л); в 1,07 и 1,12 раза (на 10,1 и 16,6 г/л); в 1,07 и 1,12 раза (на 9,8 и 16,7 г/л); в 1,1 и 1,13 раза (на 13,6 и 17,8 г/л). ($P \geq 0,95$). Показатели содержания гемоглобина в крови перепелов 4 группы, во все сроки эксперимента, были ниже их значения у птиц контрольной группы, соответственно в 1,15; 1,12; 1,08; 1,11 и 1,08 раза (на 17,4; 15,6; 11,6; 14,1 и 11,4 г/л).

Колебания в содержании эритроцитов и гемоглобина отражались и на показателе гематокрита в крови перепелов. Его значение к 7 дню опыта, по 1- 4 группам, колебалось на уровне от 34,2 до 42,6%. При этом значение гематокрита у птиц 2 и 3 групп был выше контрольного показателя перепелов 1 группы в 1,04 и 1,1 раза (на 1,6 и 4,2%), а данные гематокрита по 4 группе были ниже, чем в контроле, в 1,12 раза (на 4,2%), ($P \geq 0,95$).

Значение показателя гематокрита в крови перепелов 2 и 3 групп в последующие сроки опыта (14, 30, 45, 60, 210 сут.) были выше, чем в контроле, в 1,05 и 1,09 раза (на 2,0 и 3,8%); в 1,05 и 1,09 раза (на 2,2 и 4,3%); 1,03 и 1,07 раза (на 1,5 и 3,2%); в 1,09 и 1,17 раза (на 4,1 и 7,9%); в 1,07 и 1,15 раза (на 3,4 и 7,0%), ($P \geq 0,95$) Значение гематокрита у перепелов 4 группы, на эти сроки исследований, было ниже контрольного показателя: в 1,31 раза (на 10,1%); в 1,51 раза (на 15,3%); в 1,41 раза (на 13,7%); в 1,33 раза (на 11,7%); в 1,23 раза (на 8,7%), ($P \geq 0,95$).

Содержание лейкоцитов в крови перепелов опытных групп с 7 сут. эксперимента имело отличия, по сравнению с данными 1 контрольной группы. Уровень лейкоцитов в крови перепелов контрольной и опытных групп, в последующие сроки опытов, повышался в возрастном аспекте. Но, данные птиц 2 и 3 опытных групп были достоверно выше ($P \geq 0,95$) его значения у птиц 1 контрольной группы: на 14 сут. в 1,07 и 1,14 раза (на 2,4 и $4,6 \cdot 10^9$/л), на 30 сут. – в 1,04 и 1,09 раза (на 1,4 и $3,4 \cdot 10^9$/л), на 45 сут. – в 1,06 и 1,16 раза (на 2,2 и $6,2 \cdot 10^9$/л), на 60 сут. – в 1,07 и 1,2 раза (на 2,8 и $8,0 \cdot 10^9$/л), на 210 сут. – в 1,05 и 1,18 раза (на 2,0 и $6,9 \cdot 10^9$/л).

Выпаивание с водой перепелам высоких доз ЭПП (4 группа) способствовало снижению уровня лейкоцитов в крови. Этот процесс выраженно проявлялся с первых сроков опыта и к 7, 14, 30, 45, 60 и 210 сут. исследований содержание лейкоцитов в крови птиц 4 группы было ниже, чем в контроле, в 1,32 раза (на $6,5 \cdot 10^9$/л), в 1,39 раза (на $9,1 \cdot 10^9$/л), в 1,57 раза (на $13,0 \cdot 10^9$/л), в 1,54 раза (на $13,2 \cdot 10^9$/л), в 1,44 раза (на $11,9 \cdot 10^9$/л),в 1,46 раза (на $12,0 \cdot 10^9$/л), ($P \geq 0,95$).

Содержание тромбоцитов в крови перепелов через 7 сут. от начала выпаивания ЭПП имело заметные колебания: от 95,2 до $115,7 \cdot 10^9$/л. Максимальный уровень тромбоцитов, во все сроки опытов, отмечался в крови перепелов 3 группы. К 7 сут. эксперимента уровень тромбоцитов в крови перепелов 3 группы был выше его значения у птиц 1, 2 и 4 групп, соответственно в 1,06; 1,02 и 1,21 раза (на 6,4; 1,9 и $20,5 \cdot 10^9$/л); к 14 сут. – в 1,05; 1,02 и 1,17 раза (на 6,1; 2,2 и $18,1 \cdot 10^9$/л), к 30 сут. – в 1,12; 1,01 и 1,19 раза (на 13,9; 1,7 и $21,1 \cdot 10^9$/л), к 45 сут. – в 1,1; 1,01 и 1,14 раза (на 13,2; 1,7 и $16,4 \cdot 10^9$/л), к 60 сут. – в 1,1; 1,01 и

1,16 раза (на 11,8; 1,3 и 18,9·10^9/л), к 210 сут. – в 1,06; 1,01 и 1,17 раза (на 8,0; 1,6 и 19,0·10^9/л), (Р≥0,95).

Разные дозы ЭПП оказывали разное влияние на показатели лейкограммы в крови перепелов. Низкие дозы способствовали умеренной активизации клеток, участвующих в иммунных реакциях, средние дозы значительно активизировали их, а высокие дозы, напротив, способствовали затормаживанию активности пролиферации иммунокомпетентных клеток.

Содержание базофилов в крови перепелов контрольной группы во все сроки опытов не превышало уровня от 0,1 до 1,5%. К 7 сут. эксперимента уровень базофилов в крови перепелов 1 и 2 групп не изменялся, в крови птиц 4 группы – они не выявлялись. В крови перепелов 3 группы содержание базофилов составило 0,2%. В последующие сроки опыты содержание базофилов в крови перепелов 1 и 4 групп было на одинаковом уровне- 0,1- 0,15%. Уровень базофилов в крови перепелов 2 и, особенно, 3 группы был выше этих значений в 3 – 4 раза (0,3-4%).

Уровень содержания эозинофилов в крови перепелов под влиянием разных доз ЭПП также изменялся в зависимости от дозы препарата. Самое высокое содержание эозинофилов регистрировалось в крови птиц 3 группы. Через 7 сут. от начала выпаивания ЭПП эозинофилы в крови птиц 3 группы превысили показатели перепелов по 1, 2 и 4 группам в 1,3; 1,17 и 1,54 раза (на 0,8; 0,5 и 1,2%), через 14 сут. – в 1,33; 1,02 и 1,66 раза (на 1,0; 0,1 и 1,6%), через 30 сут. – в 1,58; 1,19; 1,81 раза (на 1,8; 0,8; 2,2%), через 45 сут. – в 1,47; 1,04 и 1,61 раза (на 1,6; 0,2 и 1,9%), через 60 сут. – в 1,41; 1,04 и 1,59 раза (на 1,5; 0,2 и 1,9%), (Р≥0,95).

Средние дозы ЭПП способствовали значительной активизации в организме перепелов псевдоэозинофилов. На 7 сут. опыта содержание псевдоэозинофилов в крови птиц 3 группы было выше, по сравнению с данными их в крови перепелов 1, 2 и 4 групп (при Р≥0,95) в 1,08; 1,03 и 1,16 раза (на 2,4; 0,9 и 4,4%), на 14 сут. – в 1,12; 1,06 и 1,66 раза (на 3,8; 2,2 и 13,7%), на 30 сут. – в 1,1; 1,05 и 1,31 раза (на 3,5; 1,8 и 8,6%), на 45 сут. – в 1,39; 1,04 и 1,48 раза (на 1,8; 1,8 и 15,5%), на 60 сут. – в 1,42; 1,42 и 1,37 раза (на 14,7; 2,6 и 13,3%), на 210 сут. – в 1,44; 1,02 и 1,53 раза (на 14,6; 1,1 и 16,6%).

Особо заметные реакции под влиянием разных доз ЭПП отмечались со стороны лимфоцитов. Значительная активизации лимфоцитарных клеток регистрировалась под влиянием средних доз ЭПП. К 7 сут. от начала выпаивания перепелам ЭПП содержание лимфоцитов в крови перепелов 3 группы превысило показатели птиц 1, 2 и 4 групп в 1,15; 1,09 и 1,28 раза (на 7,1; 4,3 и 12,0%). В последующие сроки опыта отмечалось повышение уровня лимфоцитов в крови перепелов, как в возрастном аспекте, так и от действия ЭПП. Самые выраженные реакции отмечались вод влиянием средних доз ЭПП. На 14 сут. опыта содержание лимфоцитов в крови перепелов 3 группы было выше его уровня в крови птиц 1,2 и 4 групп в 1,28; 1,14 и 1,34 раза (на 14,3; 8,1и 16,6%), на 30 сут. – в 1,32; 1,08 и 1,66 раза (на 17,7; 5,3 и 28,7%), на 45 сут. – в 1,28; 1,03 и 1,64 раза (на 16,5; 1,9 и 29,2%), на 60 сут. – в 1,28; 1,04 и 1,34 раза (на 17,3; 3,0 и 20,0%). До конца опытов (210 сут.) содержание лимфоцитов в крови птиц 3 группы было выше их значения в крови перепелов 1, 2 и 4 групп: в 1,26; 1,05 и 1,35 раза (на 16,6; 3,8 и 20,3%), (Р≥0,95).

Подобно динамике лимфоцитов изменялась в крови перепелов контрольной и опытных групп динамика моноцитов. К 7 сут. от начала опытов содержание моноцитов в крови перепелов 3 группы было выше их уровня в крови птиц 1,2 и 4 групп в 1,12; 1,05 и 1,18 раза (на 0,2; 0,1 и 0,3%), к 14 сут. – в 1,16; 1,04 и 1,29 раза (на 0,3; 0,1 и 0,5%), к 30 сут. – в 1,19; 1,08 и 1,39 раза (на 0,4; 0,2 и 0,7%), к 45 сут. – в 1,12; 1,08 и 1,35 раза (на 0,3; 0,2 и 0,7%), к 60 сут. – в 1,2; 1,11 и 1,45 раза (на 0,5; 0,3 и 0,9%),(Р≥0,95). К концу опыта уровень моноцитов в крови перепелов 2 и 3 групп был на одинаковом уровне, превысив контрольную цифру лишь в 1,04 раза, а содержание моноцитов в крови птиц 4 группы, к этому сроку исследования, было 1,26 раза ниже, по сравнению с данными по 2 и 3 группам.

Заключение. Разные дозы ЭПП оказывают не одинаковое влияние на показатели эритропоэза, гемопоэза, лейкопоэза и миелограммы перепелов. Низкие дозы оказывают на организм перепелов умеренное стимулирующее действие. Средние дозы вызывают выраженную активизацию и повышение в крови перепелов, до высшей границы физиологических норм, эритроцитов, гемоглобина и увеличение показателя гематокрита; способствуют увеличению содержания в крови, в пределах физиологических значений, лейкоцитов, тромбоцитов, лимфоцитов, моноцитов, а также базофилов, эозинофилов и псевдоэозинофилов. Применение высоких доз ЭПП оказывают на организм перепелов некоторое супрессивное влияние

Список лтературы:

2. Кашина Г.В. Биологически активные вещества из подмора пчел [Текст] / Г.В. Кашина, В.Г. Шепелев, И.А. Фефелова [Текст] // Пчеловодство. – 2014. – № 8. – С. 58–59.
3. Маннапова Р.Т. Восстановление кроветворения необработанным янтарем на фоне гипотериоза [Текст] / Р.Т. Маннапова, Р.А. Рапиев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2013. Т. 213. С. 129-134.
4. Маннапова Р.Т. Биологически активные продукты пчеловодства и иммунитет [Текст] / Р.Т. Маннапова, А.Н. Панин // В сборнике: Методы повышения продуктивных и защитных функций организма животных в Республике Башкортостан.- Башкирский государственный аграрный университет. 2000. С. 178-182.
5. Селионова М. И. Использование хитозан- меланинового комплекса и препарата на его основе при выращивании козлят [Текст] / М.И. Селионова, Н.В. Погарская // Сборник научных трудов ГНУ СНИИЖК. - 2010. №1. С.62-65.
6. Шрамм Н. И. Разработка и исследование спиртовых извлечений из пчелиного подмора и личинок восковой моли [Текст] /Н.И. Шрамм, Л.К. Бабиян, В.И. Трухина, В.Д. Белоногова, А.А. Гилева // Фундаментальные исследования. 2014. № 6-5. С.956-958.

УДК: 637.12.047

ДИНАМИКА СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ КОРОВ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ ТЕРАПИИ СКРЫТЫХ МАСТИТОВ

Строчков Павел Иванович*, студент 4 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева. pavel9444@gmail.com*

Галкина Эвелина Алексеевна *студент 4 курса, направление подготовки 36.05.01 «Ветеринария», института зоотехнии и биологии, ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева.*

(Научный руководитель – Маннапова Рамзия Тимергалеевна, д-р биол. наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», ram.mannapova55@mail.ru)

Аннотация*: в данной работе исследуется динамика содержания соматических клеток в молоке коров на фоне применения различных методов терапии при скрытых маститов. Соматические клетки, представляющие собой комбинацию клеток эпителиальной ткани, лейкоцитов и других компонентов, являются индикатором состояния здоровья молочной железы и качества молока. Результаты данного исследования могут быть использованы для разработки более эффективных стратегий управления здоровьем коров с целью улучшения качества молока и минимизации экономических потерь в молочном производстве.*

Ключевые слова: *соматические клетки, молоко коров, скрытые маститы, терапия, динамика, лейкоциты, заболеваемость, иммунный ответ.*

Материал и методы исследований

Работа выполнялась в лабораториях кафедры микробиологии и иммунологии, ветеринарной медицины ФГБОУ РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева, на молоке полученном от 18 животных, больных субклинической формой мастита.

Коров разделили на 6 групп. Первая группа была контрольной - здоровые, остальные (2-6) — опытные животные, со скрытым маститом. Коров 2 группы лечению не подвергали. В 3 группе для лечения применяли препарат Мастивин, в 4 группе - Пропомаст». Животных 5 группы лечили препаратом Мастивин на фоне лазеротерапии, 6 группы — препаратом Пропомаст на фоне лазеротерапии. Мастивин вводили внутрицистернально по 8 г., один раз в сутки, в течение 5 дней. Пропомаст применяли по 10 мл, 1 раз в день после дойки, на протяжении 3 дней. Лазеротерапия пораженной области проводилась в течение 5 дней, по 3-5 минут. Исследования проводились в течение 30 дней, с периодическим взятием проб молока для иммунологических и бактериальных анализов.

Определение соматических клеток в молоке определяли на анализаторе соматических клеток DCC компании De Laval. Он удовлетворяет всем требованиям с точки зрения технического совершенства, простоты и экономической эффективности. Принцип действия анализатора основан на автоматическом подсчете помеченных флуоресцентным красителем соматических клеток, находящихся в анализируемой пробе молока, которые флюоресцируют при их облучении ультрафиолетовым (УФ) излучением.

Результаты исследований

Данные по определению в процессе опытов в молоке коров динамики изменения содержания соматических клеток представлены в таблице 1.

В рамках проведенного исследования было установлено, что начальный уровень соматических клеток в молоке коров контрольной группы составил 386,0 тыс./мл. Соматические клетки представляют собой клетки молочных проходов и альвеол, а также эпителиальные клетки, которые обладают способностью к регулярному обновлению. Кроме того, в этот показатель входят лейкоциты и другие элементы иммунной системы, что является важным индикатором здоровья молочной железы.

Несмотря на то, что контрольная группа не подвергалась терапевтическим вмешательствам, в процессе эксперимента было зарегистрировано увеличение количества соматических клеток. На протяжении всего периода наблюдения количество соматических клеток повышалось и к концу эксперимента превысило исходное значение в 2,03 раза.

Фоновое содержание соматических клеток в молоке больных скрытым маститом коров 2 – 6 групп было выше, чем у коров 1 контрольной группы – в 1,92 – 2,05 раза.

В молоке, полученном от больных коров 2 группы, процессе эксперимента регистрировалось дальнейшее повышение количества соматических клеток, которые превысили фоновый показатель на 5, 10, 20 и 30 сут., от начала опытов, в 1,16; 1,33; 2,76 и 4,03 раза.

Примененные методы терапии оказывали существенное влияние на снижение в молоке коров, больных скрытым маститом, содержания соматических клеток. Показатель уровня соматических клеток в молоке от коров 3 группы на 5, 10, 20 и 30 сут. от начала опытов снизилось, по сравнению с его фоновым уровнем в 1,09; 1,28; 1,43 и 1,66 раза, по сравнению с данными в молоке коров 2 группы – в 1,22; 1,63; 3,79 и 6,43 раза.

Подобным образом, но более активное снижение количества соматических клеток, регистрировалось в молоке животных 4 группы. Здесь их уровень был ниже, по сравнению с первоначальным фоновым показателем, в 1,17; 1,48; 1,97 и 2,2 раза, по сравнению с показателями в молоке коров 2 группы – в 1,28; 1,84; 2,63 и 8,36 раза.

Комплексная терапия препаратом Мастивин и лазером (5 группа) и особенно комплексная терапия препаратом Пропомаст на фоне лазеротерапии (6 группа) способствовали полному восстановлению функциональной активности вымени коров этих групп, о чем свидетельствует снижение содержания соматических клеток в молоке животных этих групп до их физиологических значений. По 5 и 6 группам уровень соматических клеток снизился на 5, 10, 20 и 30 сут. опыта, по сравнению с их фоновыми значениями, в 1,19 и 1,41раза, в 1,39 и 1,56 раза, в 2,49 и 2,51 раза, в 2,44 и 3,2 раза, по сравнению с данными животных 2 группы – в 1,34 и 1,64 раза, в 1,79 и 2,06 раза, в 6,68 и 6,94 раза, в 9,4 и 12,95 раза.

Таблица 1 – Динамика в молоке коров соматических клеток (тыс/мл)

Группы	**Препараты**	**Стат. по-казат.**	**Сроки исследования в сутках**				
			Фон	**От начала опытов**			
				5	**10**	**20**	**30**
1	**Контроль здоровые**	М	386,9	467,3	580,5	609,4	687,0
		±m	184,1	89,7	72,2	179,6	123,4
		Cv, %	14,5	12,8	8,3	8,4	10,5
2	**Больные, не леченные**	М	745,7	867,2	989,6	2060,5	3010,8
		±m	193,1	174	162,1	148	139,6
		Р	**	*	**	**	**
		Cv, %	17,3	13,4	10,9	4,8	3,1
3	**Мастивин**	М	780,0	710,7	606,9	545,8	481,0
		±m	285,6	242	199,5	164,1	190,5
		Р	**	*	*	*	*
		Cv, %	24,4	22,7	21,9	20,0	22,5
4	**Пропомаст**	М	794,3	676,8	536,7	402,9	360,5
		±m	330,0	211,0	198,6	111	109,8
		Р	*	*	*	**	**
		Cv, %	25,3	20,9	24,7	18,4	20,3
5	**Мастивин + лазер**	М	768,4	646,7	507,2	308,9	320,6
		±m	321,9	315	198	180,3	197,9
		Р	**	**	**	*	*
		Cv, %	27,9	32,5	36,1	38,9	34,9
6	**Пропомаст + лазер**	М	746,6	527,4	478,8	296,8	272,4
		±m	240,1	110,0	186,7	141,0	141,1
		Р	*	*	*	**	**
		Cv, %	17,9	25,0	26,0	31,7	36,2

Примечание: р<0,05*, р≥0,05**

Заключение. Наиболее эффективным и экономически целесообразным методом лечения животных от скрытых маститов, который способствует восстановлению уровня соматических клеток в молоке коров, является интрацистернальная инъекция препарата Пропомаст, проводимая в сочетании с лазеротерапией. Этот подход позволяет не только уменьшить количество соматических клеток, но и ускорить процесс выздоровления коров, минимизируя риск рецидивов заболевания. Лазеротерапия, применяемая в дополнение к инъекциям, способствует улучшению кровообращения и метаболических процессов в тканях, что в свою очередь усиливает действие препарата. Таким образом, такой комбинированный метод терапии представляет собой оптимальное решение для эффективного лечения скрытых маститов и восстановления здоровья молочных животных.

Список литературы:

1. Айтышев, С. А. Диагностика скрытых маститов у коров / С. А. Айтышев, М. С. Айтжанов // Развитие научной, творческой и инновационной деятельности молодежи: Сборник статей по материалам XV Всероссийской (национальной) научно-практической конференции молодых учёных, Курган, 14 декабря 2023 года. – Курган: Курганский государственный университет, 2023.
2. Акбаев, Р. М. Скрытый (субклинический) мастит у крупного и мелкого рогатого скота при содержании в условиях частных подворий / Р. М. Акбаев, А. А. Золотухина, С. М. Розинский // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2024. – № 2(106). – С. 207-211.
3. Кошелева, Д. Д. Скрытый мастит у коров: современные методы лечения в АО "Щелкунское" в 2021 г / Д. Д. Кошелева // Молодежь и наука. – 2022. – №2.
4. Современное состояние и перспективы развития животноводства России и стран СНГ / В. И. Трухачев, Ю. А. Юлдашбаев, И. Ю. Свинарев [и др.]. – Москва: ООО «Мегаполис», 2022. – 337 с.

Научное издание

Сборник трудов, приуроченных к Всероссийской студенческой научно-практической конференции «Актуальные вопросы сельскохозяйственной микробиологии», посвященной 100-летию со дня рождения В.Т. Емцева

Материалы издаются в авторской редакции

Подписано в печать 04.12.2024 г. Формат 60×90/16.
Усл. печ. Л. 18.25 Тираж 100 экз.

ООО «Мегаполис»
Тел. +7 (499) 391-34-54; www.megapolis.ru
E-mail: zakaz@m-megapolis.ru
127550, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 23А

Отпечатано в ПАО «Т8 Издательские технологии»
Тел.: +7 (499) 322-38-31
109316, г. Москва, Волгоградский проспект, д. 4