количества жизнеспособных клеток бактерий до и после криоконсервации. При этом рост микробных клеток наблюдали в разведениях 10^9 и 10^{10} КОЭ/см^3.

Литература

1. Павлович С.А. Микробиология с микробиологическими исследованиями. Минск, 2009 г. - С. 258.
2. Скородумов Д.И., Субботин В.В., Сидоров М.А., Костенко Т.С. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных. - Москва, 2005 г. - С. 360-380.
3. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. - М.: Медицина,1973.
4. Cryogenic Preservation of Bacteria References /ATCC Connection. - 2006.- Vol. 26. - № 1.
5. Марценюк В.Ф. Жизнеспособность и биол. Свойства Escherichia coli, и после хранения в жидком азоте в течении трех лет / В.Ф. Марценюк, Н.Г. Кадникова //Материалы Междунар. конференции.- Санкт-Петербург, 2004. - том 46. - №9. С. 819-824.
6. Preservation of marine bacteria by drying / K.Yamasato et al. // Princip.et appl.lyophil. prod. biol. Tokio, 1985. - P. 235-240.

Түйін

Enterobacteriaceae тұқымдасына жататын микроорганизімдердің культураларын минус 80^0С ұзақ уақыт бойы сақтау режимдері анықталған. Бөлініп алынған микроорганизімдердің культуралары төменгі температурада жақсы сақталатындығы көрсетілген.

Summary

Abstract: Preservability of culture of enterobacteria family microorganisms under conditions of low temperature of minus 80 celcius degree was studied. The research that cultures possess nigh preservability during storage under conditions of low temperature.

УДК 619:616.76-022.6:615.371

Молдагулова Н.Б.[1], Кыдырбаев Ж.К.[2]

ОТРАБОТКА МНОЖЕСТВЕННОСТИ ИНФИЦИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ И СРОКА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО БУРСИТА КУР ИЗ ШТАММА «БГ» В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК КФ

[1]РГП Республиканская коллекция микроорагнизмов» КН МОН РК, г. Астана, Казахстан, e.mail M_nazira1967@mail/ru.

[2]РГП Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности КН МОН РК, п.г.т. Гвардейский, Казахстан

По литературным данным, вирус инфекционного бурсита кур успешно культивируется в первично-трипсинизированной культуре клеток КФ. Адаптированный культуральный вирус обладает высокой иммуногенностью, высокими титрами биологической активности, дает четко выраженное цитопатическое действие в виде округления и вокуолизацией клеток с последующим сползанием клеток от стенки стекла [1, 2, 3]. Вирус инфекционного бурсита кур способен реплицироваться и образовывать бляшки в монослойной культуре клеток фибробластов куриного эмбриона, при заражении фибробластов куриного эмбриона полевым штаммом Cu-1 образуются мелкие бляшки [4]. Некоторым исследователям [5] удалось адаптировать вирус ИБК в культуре клеток бурсы куриных эмбрионов и после 4-го пассажа вирус был размножен в культуре клеток куриных фибробластов и использован как аттенуированный живой вирус при производстве вакцин. Для аттенуации вируса используют эмбрионы кур и фибробласты куриных эмбрионов. Аттенуированный таким образом вирусы использованы для приготовления живой или инактивированной вакцины [1]. Таким путем был получен известный штамм «БГ» в России, полевой его предок выделен из фабрициевой сумки больных бройлеров птицефабрики «Уральская» Оренбургской области [6].

При отработке оптимальных параметров культивирования наиболее основным моментом технологии изготовления вакцинных препаратов является установление минимальной инфицирующей дозы вируса. Немаловажную роль при этом играет срок культивирования вируссодержащего материала.

Материалы и методы

Вирус. В опытах использовали вируссодержащий материал штамма «БГ» адаптированного к культурам клеток КФ с биологической активностью 7,08 lgЭИД$_{50}$/см^3.

Культура клеток. Первично-трипсинизированная культура клеток КФ 1 сут возраста 1 субгенерации.

Питательные среды. В качестве поддерживающей среды использовали питательную среду ПСП без содержания сыворотки крови К.Р.С.

Для определения множественности заражающей дозы вируса культуры клеток КФ инфицировали в дозе 1,0 ; 0,1; 0,01; 0,001 ТЦД$_{50}$/кл. С этой целью использовали культуры клеток КФ выращенной в 100-250 см^3 сплошным монослоем клеток, предварительно слив ростовую среду. Инфицировали клетки с разными дозами вируса и ставили на контакт при температуре 37,5$\pm$0,5^{0}С в течение 30-40 мин., после чего проводили долив питательной среды. Инкубировали культуру клеток до наступления 80-90% поражения монослоя клеток вирусом. Смену поддерживающей среды проводили каждые 2 суток. Микроскопию клеток проводили ежедневно.

Заражение культур клеток вирусом оценивали по проявлению цитопатического действия, которое выражалось: округлением и лизисом клеток от стенки сосуда.

Биологическую активность вируса определяли путем титрования в пробирочной культуре клеток КФ. Учет результатов проводили по наличию цитопатических изменении в пробирочной культуре клеток.

Результаты исследований

Установлена минимальная инфицирующая доза вируса на клетку. Результаты исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Накопление штамма «БГ» вируса инфекционного бурсита кур в зависимости от множественности инфицирующей дозы вируса

Доза вируса	Сроки культивирования Сут	Поражение клеточного монослоя (%)	Биологическая активность вируса lgТЦД $_{50}$/см^3
1,0 ТЦД $_{50}$/кл.	3-4	80-90	7,83
0,1 ТЦД $_{50}$/кл	3-4	80-90	7,91
0,01 ТЦД $_{50}$/кл	3-4	70-80	6,75
0,001ТЦД $_{50}$/кл	5-6	50-60	6,41

Данные таблицы свидетельствуют, что накопление вируса происходит при заражении культуры клеток КФ в дозе от 1,0-0,01 ТЦД $_{50}$/кл, инфицированные культуры клеток инкубировали в течение 3-4 суток до 70-90% поражение клеточного монослоя. При этом биологическая активность вируса составляет свыше 6,75 lg ТЦД $_{50}$/см^3.

При заражающей дозе 0,001 ТЦД $_{50}$/кл биологическая активность вируса составляет ниже 6,5 lgТЦД $_{50}$/см^3 и сроки культивирование вируса дольше на 1-2 сутки.

Для определения сроков культивирования инфицировали культуру клеток КФ в дозе 0,1 ТЦД$_{50}$/см^3 и инкубировали при температуре 37,5$\pm$0,5^{0}С, до 80-90%-го поражения клеточного монослоя. Результаты определения сроков культивирования представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Накопление штамма «БГ» вируса инфекционного бурсита кур в зависимости от сроков культивирования вируса

Наименование материала	Сроки культивирования, сут	Поражение клеточного монослоя, (%)	Биологическая активность вируса, lgТЦД $_{50}$/см^3
Штамм «БГ»	2	80-90	6,08
	3	80-90	7,91
	4	80-90	5,75

По данным таблицы 2, можно судить о том, что штамм «БГ» вируса инфекционного бурсита кур можно культивировать в течение 2-3 суток. При этом максимальное накопление вируса отмечается при инкубировании в течение 3 суток, биологическая активность вируса составляет 7,91 lgТЦД$_{50}$/см^3. При инкубировании в течение 4 суток биологическая активность получаемого вируссодержащего материала составляет несколько ниже (6,00 lgТЦД $_{50}$/см^3).

Выводы

При определении минимальной инфицирующей дозы вируса наиболее активные вируссодержащие материалы получены при заражении культуры клеток в дозе от 1,0 до 0,01 ТЦД $_{50}$/кл.

При этом необходимо инкубировать инфицированных клеток в течение 3 суток. При соблюдении указанных параметров культивирования биологическая активность вируса составляет свыше 6,5 lgТЦД $_{50}$/см^3.

Литература

1. Song K. Cloning and expression of the VP2 gene of an infectious bursal disease virus. Avian Dis. - 2000. - Vol.44.- №1. - p-170-178.
2. Алиев А.С. Способ профилактики болезни Гамборо. А.с.СССР №1824443, заявл. 19.03.91. С.12 №7/00, А61 К39/12.
3. Cursiefen D. et al. Loss of virulence in a small plague mutant of the intectious bursal disease virus. Arch. Virol.- 1979, 59, ½, p.39-46.
4. Salio K. et al. Isolation and characterization of attenuated plague variants of infectious bursal disease virus. Exp.Med.,1991, p.64.
5. Fred W. Attenuated infectious bursal disease virus strain and vaccine therefrom. Pat. 4824668. США .
6. Смоленский В.И. Эффективность вакцин против вирусных болезней птиц. Ветеринария.-2001.-№1.-С.23-28.

Түйін

КФ жасуша культураларында, минималды заралдау мөлшері мен вирусты өсіру уақыты келтірілген. КФ жасуша культураларында, минималды заралдау мөлшері 0,1-0,01ТЦД$_{50}$/см^3 және вирусты өсіру уақыты 2-3 күн екендігі анықталған.

Summary

Minimal infecting doze and period virus cultivation in vitro cell culture are denermineited. Minimal infecting doze is 0,1-0,01 TCD/ cm^3 at culture of virus in during 2-3 deys.

УДК. 581.163

Mukhambetzhanov S.K[1]., Rakhimbaev I.R[1]., Erezhepov A.E[2]., Boguspaev K.K[2].

THE PHENOMENON OF ANDROGENESIS AND GYNOGENESIS FOR HAPLOID PRODUCTION

[1] - Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, e-mail: serik_m@list.ru
[2] - al-Farabi Kazakh National University, Almaty

Haploid Production and Uses

Haploids are defined as saprophytes with gametophytic chromosome number and have been produced in a variety of plant species using a variety of methods. Although, the significance of haploids in genetics and plant breeding has been recognized for long time, with the advent of new biotechnology it has received renewed emphasis, so that the production of haploids has become an important component of biotechnology programs in different countries. A haploids could be produced following delayed pollination, irradiation of pollen, temperature shocks, colchicine treatment and distant hybridization, the most important methods currently being utilized under biotechnology programs include anther and pollen culture, ovary and ovule culture [1-3].

As a result of haploid induction followed by chromosome doubling, homozygosity can be achieved in the quickest possible way making genetic and breeding research much easier. The genetic segregation is simplified in homozygotes, recessive genes not being masked by dominant