

Заклучение

В результате проведенных исследований на основе прямого варианта ИФА с помощью полученных иммуноглобулинов и коммерческих конъюгатов сконструирована комплексная диагностическая тест-система, способная улавливать большинство изучаемых вирусов картофеля.

Подобраны оптимальные параметры постановки ИФА. Оптимизировано разведение антигенов вирусов картофеля М, S, Y в пробно-конъюгатном буфере в соотношении 1:40, повышающее чувствительность ИФА. При тестировании образцов картофеля на отдельные вирусы: PVX, PVY, PVS, PVM, PLRV, PVA, а также на их комплекс оптимальными условиями являются: инкубация вирусных антигенов при температуре +37⁰С в течение 2-х часов в «сэндвич» варианте ИФА.

Настоящая публикация выполнена в рамках подпроекта, финансируемого в рамках СКГ, поддерживаемого Всемирным Банком и Правительством Республики Казахстан, а также в рамках проекта Общественного Фонда «Фонд Первого Президента Республики Казахстан».

Литература

- 1 Сельское, лесное и рыбное хозяйство Казахстана // статистический сборник под ред. А. Смаилова - Алматы, 2001. - С. 32-34.
- 2 Швидченко В.К., Созинова Л.Ф. Оздоровление, размножение и диагностика в картофелеводстве. - Астана, 2000. - 163 с.
- 3 Куликова В.И. и др. Диагностика вирусных и бактериальных болезней картофеля в оригинальном семеноводстве: Методические рекомендации / Сиб. отделение РАСХН, ГНУ «Кемеровский НИИСХ», Кемерово: «Кузбассвузиздат», 2004. - 24 с.
- 4 Бобкова А.Ф., Чирков С.Н. Применение иммуноферментного анализа для диагностики вирусных заболеваний растений (обзор) // Сельскохозяйственная биология. - М.: Колос, 1983. - №5. - С. 32-35.
- 5 Инструкция по применению иммуноферментного диагностического набора для определения вирусов картофеля. - Коренево, 2010 - 8 с.
- 6 Манадилова А.М., Садвокасова Г.Г., Бекельман Е., Лобенштейн Г. Диагностика Y-вируса картофеля методом иммуноферментного анализа // Биотехнология. Теория и практика, 1998, №3 (7), С. 50-54.
- 7 Созинова Л.Ф., Манадилова А.М. Вирусная инфекция картофеля и методы диагностики вирусных заболеваний. Обзорная информация. Акмолинский ЦНТИ, Астана, 2003, 37 с.

Түйін

Дайындалған иммуноглобулиндер мен конъюгаттардың негізінде картоптың PVX, PVY, PVS, PVM, PLRV, PVA вирустарын бір мезетте жинақтауға қабілетті диагностикалық тест-жүйесі құрылды. ИФТ-ды қоюдың оңтайлы параметрлері жасалды. 1:40 қатысуда сынақ-конъюгаттарының ерітіндісінде картоптың PVM, PVS, PVY вирус антигендердің көбейту оңтайлы параметрлері жасалды. Зерттеулерде вирусты антигендердің оңтайлы инкубациясы ИФТ «сэндвич» нұсқасында +37⁰С температурада 2 сағат жүргізілді.

Summary

On the basis of the received immune globulin and conjugations an integrated diagnostic test-system was created which is able to detect PVX, PVY, PVS, PVM, PLRV, PVA viruses of potato at the same time. Optimal characteristics of IFA arrangement were developed and chosen. Optimal characteristics of antigens potato viruses PVM, PVS, PVY dissolving in sampling conjugation buffer in correlation 1:40 were established. Optimal incubation of virus antigens during the experiment was at the temperature +37⁰С for 2 hours in “sandwich” IFA version.

УДК 635.21:632.3

Шемшура О.Н., Бекмаханова Н.Е., Мазунина М.Н.
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ ДЛЯ БОРЬБЫ С
ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКИМИ НЕМАТОДАМИ

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан
e-mail: olgashemshura@mail.ru

Сельскохозяйственное производство является основным способом решения производственных проблем во всех странах мира. Важнейшим элементом производства сельскохозяйственной продукции является защита растений от болезней и вредителей, т.к. она позволяет не только увеличить объем урожая, но и улучшить его качество, обычно

теряемое у больных растений. Всемирные организации, ответственные за защиту здоровья человека озабочены тем, что сохранить урожай, или предотвратить его потери от все возрастающего количества заболеваний растений, становится труднее, вследствие приспособления многих патогенов и вредителей к уже известным химическим и биологическим препаратам, используемым в практике сельского хозяйства [1-3]. Поэтому поиск новых штаммов микроорганизмов и изучение продуктов их жизнедеятельности, действующих не только на инфекционное начало, но и способствующих продуктивности растений, а также подбор условий для усиления синтеза биологически активных веществ, остаются всегда актуальными и востребованными.

Паразитические нематоды сельскохозяйственных культур представляют собой группу почвенных патогенов, вредоносность которых проявляется сильнее всего в условиях интенсивного земледелия, особенно при специализации его. В настоящее время на основе многих микроорганизмов для биологического регулирования паразитических нематод производят десятки препаратов. Однако возможности микромира в этом отношении далеко не исчерпаны, и как показывают последние исследования, проблему борьбы с любым видом вредного организма можно решить микробиологическим путем [4-5].

Материалы и методы

В работе использовали 26 штаммов, относящихся к родам *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Beauveria*. В качестве тест-объектов были взяты свободно живущие нематоды *Panagrellus redivivus* и фитопаразитические нематоды *Ditylenchus dipsaci*, *D.destructor*, *Meloidogyne incognita*, которые были выделены из ризосферной почвы картофеля, огурцов, клубники, томатов, а также из пораженных фитопаразитическими нематодами растений. Также нематоцидные свойства грибов исследовались на яйцах галловых нематод.

Нематоцидные свойства микроскопических грибов выявляли на твердых питательных средах сусло и Чапека-7. Для этого в чашки Петри производили засев грибов и одновременно вносили нематоды, по 100 особей на одну чашку. В контрольных вариантах нематоды вносились на питательные среды без гриба. О нематоцидной активности грибов судили по их взаимоотношениям с нематодами, которые наблюдали с помощью бинокуляра в течение 5 суток. Анализ экстрактов микромицетов проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках силуфола (ЧССР) с использованием различных подвижных фаз [6-9]. Метаболиты обнаруживали по поглощению или флюоресценции в УФ-свете и окрашивании после опрыскивания реактивом Ван-Урка.

Результаты и их обсуждение

В целях поиска новых микробиологических средств защиты растений от нематод, произведен отбор микроскопических грибов, обладающих нематоцидными свойствами.

Микроскопические наблюдения показали, что первые признаки угнетающего влияния грибов на нематоды проявляются на 1-2 сутки после их инокуляции. Нематоды, обладающие вполне достаточной подвижностью на агаровом субстрате, как правило, запутываются в быстрорастущих и многочисленных гифах гриба, утрачивают подвижность и на 3-5 сутки погибают в результате нематоцидного действия продуктов метаболизма грибов и заглотивших грибных спор и гифов. В теле погибшей нематоды, споры быстро набухают и образуют многочисленные гифы, выходящие наружу из тела нематоды.

Результаты исследований показали: из 26 штаммов микроскопических грибов, наибольшей нематоцидной активностью обладало 4 штамма грибов: *Aspergillus sp.* 140; *Aspergillus sp.* 127, *Penicillium sp.* 7Н и *Trichoderma sp.* 10 (смертность нематод составила 57%, 78%, 65% и 70% соответственно). Остальные штаммы грибов оказались малоактивными (процент гибели нематод через 5 суток опыта не более 30%).



Рисунок 1 Нематицидное действие культуральной жидкости гриба *Aspergillus sp.* 127 на личинку нематоды *Ditylenchus destructor*

В дальнейшем нематоцидная активность отобранных штаммов оценивалась в зависимости от условий их культивирования. Нематоды помещались по 20-30 особей в часовые стекла с культуральной жидкостью исследуемых грибов. Было отмечено, что при глубинном культивировании на соевой среде происходит увеличение нематоцидной активности у всех штаммов. Так, под действием культуральной жидкости штамма 127 наблюдалась 100% гибель нематод в течение суток. Проведено микроскопическое исследование погибших нематод. В большинстве образцов отмечены поражения внутренних органов нематод. Так, на рисунке 1 хорошо видно токсическое действие культуральной жидкости гриба *Aspergillus sp.* 127 на все внутренние органы нематоды.

При культивировании грибов на среде 52-6, увеличение нематоцидной активности не наблюдалось, в некоторых случаях происходило ее снижение на 1-2%. Во всех случаях контролем служили жидкие среды без гриба.

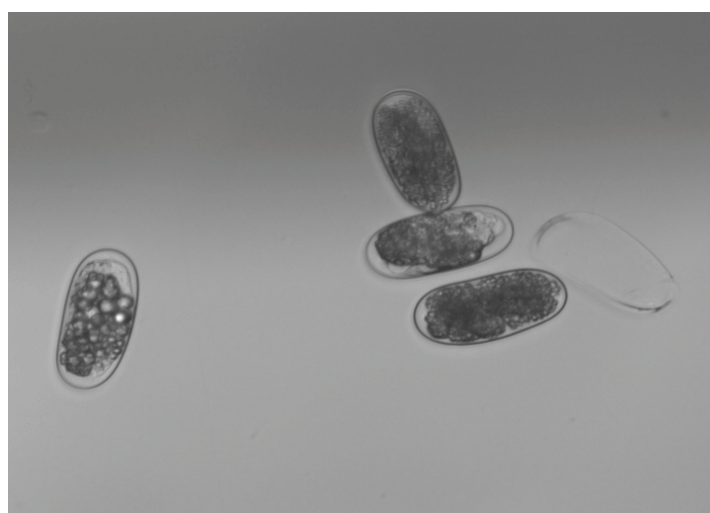


Рисунок 2 Нематицидное действие экстракта мицелия штамма *Aspergillus sp.* 127 на яйца *Meloidogyne incognita*

Таблица - 1 Хроматографическая характеристика фракций микроскопических грибов и стандартных соединений эргоалкалоидов

Образец	Гриб-продуцент	Система растворителей	Проявл. реактив	Rf	Окраска с проявляющим реактивом	Окраска после нагревания
1S-4	<i>Trichoderma sp.</i> 10	Хлороформ /метанол/ аммиак= 90:10:1	Ван-Урка	0,65	желтый	фиолетов.
1B-4	<i>Aspergillus sp.</i> 127	-“-	-“-	0,7	желтый	фиолетов.
1R-3	<i>Penicillium sp.</i> 114	-“-	-“-	0,68	желтый	фиолетов.
Элимо-клавин	Стандарт	-“-	-“-	0,7	темно-желтый	фиолетов.
1R-2	<i>Penicillium sp.</i> 114	-“-	-“-	0,25	желтый	фиолетов.
1P-5	<i>Penicillium sp.</i> 7H	-“-	-“-	0,27	желтый	фиолетов.
Рокефо-ртин	Стандарт	-“-	-“-	0,25	желтый	фиолетов.
1P-3	<i>Penicillium sp.</i> 147	-“-	-“-	0,27	голубой	фиолетов.
Агроклавин	Стандарт	-“-	-“-	0,29	голубой	фиолетов.
1B-5	<i>Aspergillus sp.</i> 140	-“-	-“-	0,48	фиолетов.	фиолетов.
Оксалин	Стандарт	-“-	-“-	0,5	фиолетов	фиолетов.
1S-1	<i>Trichoderma sp.</i> 75	-“-	-“-	0,14	фиолетов.	фиолетов.
1R-1	<i>Penicillium sp.</i> 114	-“-	-“-	0,15	фиолетов.	фиолетов.
Мелеаг-рин	Стандарт	-“-	-“-	0,13	фиолетов	фиолетов.
1S-7	<i>Trichoderma sp.</i> 10	-“-	-“-	0,9	фиолетов.	черный
Гризео-фульвин	Стандарт	-“-	-“-	0,99	фиолетов	черный
1B-1	<i>Aspergillus sp.</i> 127	-“-	-“-	0,10	розовый	отсутств.
Цитрин-ин	Стандарт	-“-	-“-	0,11	розовый	отсутств.

Таким образом, выявлены штаммы микромицетов, обладающие нематоцидной активностью, подобраны питательных среды для культивирования грибов и усиления их нематоцидных свойств. В компонентном составе биологически активных веществ экстрактов грибов обнаружены вещества, близкие по своей природе агроклавины, рокефортины, мелеагрины, оксалины, цитринины и гризеофульвины. Кроме индол содержащих соединений, в культуральной жидкости грибов также выявлены щелочные протеазы. Все это в комплексе дает возможность считать отобранные штаммы перспективными для создания на их основе новых микробных препаратов для защиты растений от нематодных заболеваний.

Литература

1. Qi JunShan; Chen PinSan; Hu QiYu Report on race 6 of *Heterodera glycines* in China. In Proceedings: The First Asian Conference on Plant Pathology, ACP, Beijing, China, 26-28 August, 2000. China Agricultural Sciencetech press (2000) 204 ISBN 7-80167-010-8.
2. Hirata, K.; Fernando, K.G.I.; Hewage, L.C. Plant parasitic nematodes associated with crops in Sri Lanka. Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan (2000) No. 36, 61-66.
3. Heath, W.L.; Haydock, P.P.J.; Wilcox, A.; Evans, K. The potential use of spectral reflectance from the potato crop for remote sensing of infection by potato cyst nematodes. In Remote sensing in agriculture, Royal Agricultural college, Cirecester, UK, 26-28 June 2000. Aspects of Applied Biology (2000) No. 60, 185-188.
4. Hockland, S.; Pickup, J.; Turner, S. Potato cyst nematode – a plant health perspective for Great Britain and Northern Ireland. Aspects of Applied biology (2000) No. 59, 11-18.
5. Michaelides, P.; Foesser, F.; Beadle, N. Nematicide efficacy tests for potato cyst nematode control in the UK and Europe. Aspects of Applied Biology (2000) No. 59, 115-120.
6. Хайсе И.М., Мацек К. Хроматография на бумаге. - М.: Иностранная литература, 1962. - 851 с.
7. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в клинической биохимии. - Москва.: Мир, 1980. - 551 с.

8. Хефтман Э., Кастер Т., Нидервизер А. и др.: хроматография. Практическое приложение метода. - М.: Мир, 1986. С.130-147.

9. Красиков В.Д. Современная планарная хроматография //Журнал аналитической химии. – 2003. – Т. 58, №8. – С. 792-807

10. Емцова Т.В., Коновалов С.А. Щелочные протеазы микробного происхождения. Прикладная биохимия и микробиология. - 1978. – Т.14. - В. 5. - С. 17-20.

Түйін

Нематидтік белсенділігіне қабілетті микромицеттердің штамдарына іріктеу жүргізілді, сонымен бірге саңырауқұлақтарды дақылдау үшін және нематоцидтік қасиетін күшейтетін қоректік орталарға сұрыптау жасалды. *Aspergillus Penicillium* және *Trichoderma* туысының саңырауқұлақтар штамдары бөлініп алынды, олардың әсерінен нематодтардың 57%-дан 78%-ға дейін өлуі байқалды. Зерттелген штамдардан биологиялық активті заттардың қосылысында сілтілі протеазалар мен индолдан тұратын заттар табылды.

Summary

The fungal strains having nematocide activity and nutrient medium for the cultivation of fungi and enhance their nematocide properties were selected. Identified strains of fungi of the *Aspergillus*; *Penicillium* and *Trichoderma* sorts, by the action of which, the mortality of nematodes ranged from 57% to 78%.

The complex of biologically active substances studied strains consists of indole substances and alkaline protease.

УДК 663.5

Шинтасова С.М., Байгазиева Г.И.

ПИЩЕВЫЕ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВОДКИ ОСОБОЙ

АО «Алматинский Технологический Университет», e-mail: santawka@mail.ru

В настоящее время во всем мире наблюдается расширение распространения алкоголизма. Параллельно этому процессу происходит нарастание заболеваний сердечно-сосудистой и печеночной системы. Сегодня социальные последствия алкоголизма весьма значительны вследствие повышения напряженности алкогольных проблем в обществе. Согласно существующим сведениям, около 5% населения планеты – полные трезвенники, 40% – мало пьющие, 30% – умеренно пьющие, 15% – много пьющие, а очень много пьющих, включая больных алкоголизмом – 10%. Поэтому крайне актуальна разработка методов терапии больных оригинальными продуктами лечебной направленности.

В Казахстане в 2010 году потребление алкоголя на душу населения составило 14 литров чистого спирта, в то время как по данным Всемирной Организации Здравоохранения, потребление алкоголя свыше 8 литров ведет к деградации нации. Наметила тенденция формирования алкоголизма в молодом возрасте, наблюдается увеличение частоты зависимости у лиц женского пола, появление злокачественных, клинических разновидностей алкогольной зависимости и алкогольных психозов, увеличилось количество неотложных наркологических состояний.

В отличие от других продуктов питания алкоголь является естественным продуктом обмена веществ, содержание которого в крови человека составляет от 30 до 60 мг/л.

Исходя из анализа современных сведений о действии экзогенного алкоголя на организм человека, можно сделать вывод, что в небольших дозах (20–40 г/день) алкоголь проявляет себя как продукт лечебно-профилактического действия, но длительное его употребление, особенно в больших дозах, способствует превращению здорового человека в алкогольного наркомана.

По классификации Всемирной Организации Здравоохранения алкоголь относится к наркотическим веществам, т. е. с наркологической точки зрения – это психоактивное вещество. Алкоголизм – заболевание, вызываемое систематическим употреблением спиртных напитков, характеризующееся патологическим влечением к ним, развитием психической и физической зависимости. В случаях длительного течения болезнь сопровождается стойкими психическими и соматическими расстройствами.