

DEVELOPMENT RECOMBINANT COUSTRUCTS FOR IN VITRO EXPRESSION OF ASF B646L GENE FRAGMENT UNDER CONTROL OF VIRAL PROMOTERS

Mima K.A., Burmakina G.S., Titov I.A., Malogolovkin A.S.

Key words: *African swine fever virus, epitope, cloning, clonal library, eukaryotic gene expression system.*

Here we present the results of molecular cloning of African swine fever virus p72 epitope into several expression vectors under control of eukaryotic promoters. Designed constructs will be used for in vitro expression of recombinant proteins in mammalian cell lines.

УДК 574.3

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА СУБСТРАТА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТВЕРДОФАЗНОЙ БИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ ЖИВОТНОВОДСТВА

Мухитова М.Э., к.б.н., ассистент факультета ветеринарной медицины

Игнаткин Д.С., к.б.н., ст.преп.,

Баева Т.Г., аспирант

*Научный руководитель: д.б.н., профессор Е.М. Романова
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»*

Ключевые слова: вермиккультура, субстрат, твердофазная биоконверсия отходов животноводства, биогукус.

Работа посвящена оптимизации состава субстратов для получения биогукуса при твердофазной биоконверсии отходов животноводства с использованием вермиккультуры дождевых червей Средневолжского региона. Исследовали прирост биомассы и выживаемость вермиккультуры в разных композициях субстрата.

Подготовка субстратов для червей является одним из ключевых звеньев в вермифтехнологии. Субстрат имеет двойное значение для червей: это среда, в которой они обитают и осуществляют все жизненные функции, и пища, благодаря которой обеспечивается их жизнедеятельность. Основой субстрата является навоз сельскохозяйственных животных, к которому в определенном соотношении добавляются другие органические компоненты. Для формирования маточного поголовья необходимо ускоренное наращивание биомассы червей. С этой целью разрабатывался специальный состав субстратов для формирования *маточной вермиккультуры*.

Для субстрата в вермиккультуре, используют только ферментированный навоз. Ферментация субстрата – важный этап его подготовки, в том числе и из-за того, что Ульяновская область находится в зоне повышенной паразитарной опасности [1-3]. Высокий уровень гельминтообсеменности навоза, в ходе ферментации снижается, как и уровень содержания санитарно-показательных организмов [4-10].

Среди нескольких вариантов субстратов был выбран наиболее успешный, который состоял на 40% из ферментированного навоза крупного рогатого скота, 35% - измельченных пищевых отходов, 20% - измельченная солома, 5% - мел или кремнеземистый мергель. В таком субстрате присутствуют необходимые для построения тела люмбрицид белки, углеводы, полный набор минеральных веществ, витамины. Измельченная солома является ценным источником клетчатки, увеличивает аэрируемость субстрата, задерживает влагу.

Цель: Разработка оптимальной композиции субстратов на основе отходов скотоводства и свиноводства.

Задачи: 1. Составление различных вариантов субстратов;
2. Оценка репродуктивного потенциала вермиккультуры;
3. Оценка прироста биомассы;
4. Исследование выживаемости вермиккультуры в разных композициях субстрата.

Для оптимизации технологии вермиккультивирования и наращивания биомассы люмбрицид были разработаны и апробированы несколько разновидностей субстратов из отходов сельскохозяйственного производства. Их основными компонентами являлись навоз сельскохозяйственных животных, солома и почва. При компоновке субстратов соотношение композитов рассчитывали исходя из следующих критериев: достаточностью содержания в исходном субстрате питательных веществ, клетчатки и почвы в качестве минерального компонента.

1 вариант субстрата. Состав субстрата включал: навоз 50%: солому 40%, почву в пределах 10%.

2 вариант. Состав субстрата включал: навоз 60%: солому 30%, почву в пределах 10%.

3 вариант. Состав субстрата включал: навоз 70%: солому 20%, почву в пределах 10%.

В ходе исследований использовали субстраты на основе навоза крупного рогатого скота и свиного навоза.

Высококалорийная пища способствует лучшему размножению червей и более быстрой переработке органических отходов [11-15]. В ходе вермикультивирования по отношению к каждому субстрату черви должны пройти адаптацию. Поэтому нами в разных вариантах субстратов была проведена оценка репродуктивного потенциала и прироста биомассы.

Для определения числа коконов в пластмассовые контейнеры объемом 250 см³ помещали субстрат, куда заселяли по два половозрелых червя. Продолжительность опыта составляла три месяца. Было проведено три серии опытов в десятикратной повторности. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Показатели	Субстрат на основе навоза крупного рогатого скота			Субстрат на основе свиного навоза		
	1 вариант	2 вариант	3 вариант	4 вариант	5 вариант	6 вариант
Количество коконов, экз./ нед.	3,1±0,5	4,6±0,3	4,0±0,4	2,6±0,3	4,2±0,3	3,8±0,2
max-min, экз.	5-1	9-3	7-2	3-1	8-3	5-2
Число личинок в одном коконе, экз./кок.	2,7±0,4	3,4±0,1	3,2±0,3	2,3±0,1	3,0±0,2	2,5±0,1
max-min, экз.	3-1	6-3	4-2	2-1	5-3	3-1
Инкубационный период, сутки	13,5±0,4	9,5±0,3	11,2±0,2	16,6±0,5	10,5±0,3	13,5±0,4
Прирост биомассы	в 4 раза	в 5 раз	в 4,6 раз	в 3,8 раза	в 4,5 раза	в 4,2 раза
Выживаемость, %	70	100	90	60	90	80

На следующем этапе мы оценивали репродуктивный потенциал червей по количеству личинок в 1 коконе. Для эксперимента было ото-

брано по 100 коконов червей каждого вида. В пластмассовые контейнеры объемом в 50 г субстрата были заложены коконы червей одного срока кладки. Результаты снимали через день. Количество и выход жизнеспособных личинок являлся вторым показателем репродуктивного потенциала и приспособленности популяции к конкретным условиям среды разведения. Результаты представлены в таблице 1.

На следующем этапе работы мы определяли продолжительность инкубационного периода у вермикультуры. Эксперимент проводился на 100 коконах червей. Результаты (таблица 1).

Для оценки прироста биомассы был поставлен эксперимент. В субстраты массой 3 кг заселяли по 150 особей половозрелых червей, из расчета 50 особей на 1 кг субстрата. Перед заселением червей взвешивали для определения биомассы. Через три месяца, после завершения вермикультивирования, все любрициды, включая молодь, были извлечены из контейнеров для определения итоговой биомассы. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Для определения выживаемости вермикультуры в разных композициях субстрата был заложен опыт. В пластмассовые емкости объемом 250 см³ поместили разные варианты субстратов и заселили их половозрелыми червями в количестве 10 штук. Через 10 дней подсчитывали количество выживших червей и оценили их физиологическое состояние. Опыт проводился в пятикратной последовательности. Результаты в таблице 1.

Было установлено, что лучший репродуктивный потенциал, прирост биомассы и выживаемость вермикультуры был на субстрате на основе навоза крупного рогатого скота вариант 2 (навоз 60%: солому 30%, почву в пределах 10%). У *E. andrei* в одном коконе содержалось в среднем – 3,4±0,1 личинок. Наибольший выход личинок из одного кокона у червей *E. andrei* и составил 6, наименьший – 3 экземпляра. Червями в среднем было отложено 4,6±0,3 коконов в неделю. Наибольшее количество коконов, отложенных парой червей за неделю, составило - 9. Минимальное количество – 3. Средняя продолжительность инкубационного периода личинок составила 9,5±0,1 суток. В конце опыта биомасса калифорнийских червей возросла в 5 раз. Выживаемость червей составила 100%

Технология вермикомпостирования отходов на первом этапе предусматривает их аутоферментацию, добавку определенных компонентов, измельчение, проверку параметров субстрата и готовности к зачервлению, непосредственно вермикультивирование, отделение биогуруса. Продолжительность ферментации зависела от типа отходов. В зависимости от температуры продолжительность ферментации колебалась до 5 месяцев.

Библиографический список

1. Романов, В.В. Система MAPINFO в геоинформационном прогнозировании и картографировании зон распространения стронгилоидоза в Средневолжском регионе/ В.В. Романов, А.Н. Мишонкова// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.-2010.- №1.-С. 75-81.
2. Романов, В.В. Биотестирование экологического состояния почв несанкционированных свалок ТБО на территории Ульяновской области/ В.В. Романов, В.Н. Любомирова// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.-2009.-№2.-С. 82-85.
3. Романова Е.М. Экологические закономерности циркуляции геонематодозов на территории Ульяновской области / Е. М. Романова, А. Н. Мишонкова, В. В. Романов, Д. С. Игнаткин, Т. Г. Баева, А. Е. Щеголенкова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. – №1 (25)- С. 58-62.
4. Романова, Е.М. Повышение эффективности вермикультуры *Eisenia fetida* (SAVIGNY, 1826) в условиях симбионтного сообщества / Е. М. Романова, Д. С. Игнаткин, М. Э Мухитова, К. О. Новикова, В. С. Маланина / Материалы III Международной научной Интернет-конференции: Биотехнология. Взгляд в будущее. (Казань, 25 - 26 марта 2014 г.) - Казань: ИП Синяев Д. Н. , 2014.- С. 83-87.
5. Романова, Е.М. Сравнительный анализ эффективности утилизации отходов животноводства с использованием красного калифорнийского гибрида (*E.f. andrei*) / Е.М. Романова, М.Э. Мухитова, Е.В. Титова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета.– 2008.–Т. 1.–№17-1.–С. 159–162.
6. Романова, Е.М. Общие и отличительные черты микробиоценоза промышленной вермикультуры *Eisenia fetida andrei* (BOUCHE, 1972) и ее природного аналога *Eisenia fetida* (SAVIGNY, 1826) / Е.М. Романова, М.Э. Мухитова, Е.В. Титова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.–2011–№4 (16).–С. 64–70.
7. Романова, Е.М. Оптимизация плотности популяции вермикультуры в условиях пониженных температур / Е.М. Романова, Д.С. Игнаткин, М.Э. Мухитова, Т.Г. Баева, Д.А. Удод, А.К. Сибгатуллова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.–2013.–№2 (22).–С. 35–39.
8. Романова, Е.М. Исследование симбионтной микробиоты представителей вида *Lumbricus terrestris* (LINNAEUS, 1758) и оценка пер-

спектив использования их в качестве вермикультуры для биодеструкции органических отходов сельскохозяйственного производства / Е.М. Романова, Д.С. Игнаткин, М.Э. Мухитова, В.В. Романов, Т.М. Шленкина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.–2013.–№3(23).–С. 61–68.

9. Любомирова, В.Н. Биотестирование токсичности почв свалок твердых бытовых отходов / В. Н. Любомирова, Е. М. Романова, В. В. Романов, Т. М. Шленкина// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.–2013.–№4 (24), 2013.–С. 50–54.

10. Романова, Е.М. Сравнительное исследование структурирующих способностей компостных червей видов *Eisenia fetida* (SAVIGNY, 1826) и *Eisenia hortensis* (MICHAELSEN, 1889) (OLIGOCHAETA, LUMBRICIDAE) / Е.М. Романова, Д.С. Игнаткин, М.А. Видеркер, М.Э. Мухитова, В.С. Маланина // Международный научно-исследовательский журнал. Часть 1. – 2014. - №2 (21). – С. 57-58.

11. Романова Е. М. Оценка структурирующих способностей люмбрицид Средневолжского региона/Е. М. Романова, М. Э. Мухитова, Д. С. Игнаткин//Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения: Материалы Международной научно-практической конференции, Том 1. -Ульяновск, 2011. -С. 229-232.

12. Романова, Е.М. Оценка экологического состояния почв / Е.М. Романова, В.Н. Любомирова, В.В. Романов, Д.С. Игнаткин // Материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения ветеринарной медицины и биологии – в сельскохозяйственное производство», 21-22 февраля 2014 г. – Уфа: Башкирский ГАУ, 2014. – С. 309-312.

13. Любина, Е.Н. А-витаминная обеспеченность свиней при разном уровне бета-каротина в рационах/Е.Н. Любина, Е.М. Романова. Материалы Международной научно-практической конференции «Молодежь и наука XXI века» Ч.1. -Ульяновск. -2006. -С. 288-289.

14. Романова, Е.М. Характеристика свалок и полигонов ТБО на территории Ульяновской области/Е.М. Романова, В.Н. Намазова//Молодежь и наука XXI века: матер. II открытой Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых. Ульяновск, 2007. -С. 144-148.

15. Романова, Е.М. Проблемы экологического обезвреживания твердых бытовых отходов в Ульяновской области/Е.М. Романова, В.Н. Намазова//Труды IV Всероссийской научной конференции молодых ученых и студентов. Краснодар: Просвещение-Юг, 2007. С. 48-50.

OPTIMIZATION OF THE SUBSTRATE TO IMPROVE BIOCONVERSION SOLID WASTES LIVESTOCK

Mukhitova M.E., Ignatkin D.S., Baeva T.G.

Keywords: *vermicultura, processing of waste, biohumus.*

Work is devoted to an assessment of substrata for vermicultural. Investigated a gain of biomass and survival vermicultura in different compositions of a substratum.

УДК 619:578

ЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИОФАГОВ БАКТЕРИЙ AEROMONAS HYDROPHILA

*Насибуллин И.Р., соискатель,**

*Викторов Д.А., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,**

*Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор,**

*Нафеев А.А., доктор медицинских наук, профессор**

*Швиденко И.Г., доктор медицинских наук, профессор***

**ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»*

***ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ имени В.И. Разумовского»*

Ключевые слова: *Aeromonas hydrophila*, бактериофаги, диагностика, изолят фагов, биологические свойства, литическая активность.

*Статья посвящена методам изучения литической активности бактериофагов бактерий *Aeromonas hydrophila*, выделенных из объектов окружающей среды Ульяновской области. Выделенные бактериофаги проявили различную литическую активность, варьирующую в пределах от 10^{-5} до 10^{-8} по методу Анпельмана и от $5,8 \times 10^5$ до $2,5 \times 10^8$ БОЕ/мл по методу Грациа.*