

Whittington, A.T., Vugrek, O., Wei, K.J., Hasenbein, N.G., Sugimoto, K., Rashbrooke, M.C. and Wasteneys, G.O. MOR1 is essential for organizing cortical microtubules in plants // Nature. -2001. – V.411. – P. 610–613.

Williamson, R.E., Burn, J.E., Baskin, T.I., Arioli, T., Cork, A. Morphology of rsw1, a cellulose-*Arabidopsis thaliana* // Protoplasma. – 2001. – V. 215. – P. 116–127.

#### **Резюме**

Представлені результати по агробактеріальній трансформації різних сортів льону-довгунця з використанням конструкції, що містить химерний ген GFP-TUA6. Трансгенна природа отриманих ліній була підтверджена за допомогою ПЛР-аналізу. Показано, що GFP-мічений тубулін здатен успішно ко-полімеризуватися з ендогенним тубуліном і приймати участь у формуванні кортикальної сітки мікротрубочок в клітинах трансгенних ліній льону.

Представлены результаты по агробактериальной трансформации разных сортов льена-долгунца с использованием конструкции, несущей химерный ген GFP-TUA6. Трансгенная природа полученных линий была подтверждена с помощью ПЦР-анализа. Показано, что GFP-меченый тубулин успешно ко-полимеризуется с эндогенным тубулином и принимает участие в формировании кортикальной сетки микротрубочек в клетках трансгенных линий льна.

The results of *Agrobacterium*-mediated transformation of different flax cultivars by plasmid carrying chimeric GFP-TUA6 gene are presented in this study. Transgenic nature of obtained lines was confirmed by PCR analysis. It was shown that GFP labeled tubulin is capable to co-polymerize with endogenous cell tubulin and to participate in cortical microtubule network organization in transgenic flax cells.

**ГОЛОВНЕВА Н.А.<sup>1</sup>, ЩЕТКО В.А.<sup>1</sup>, НАЙДЕНКО И.А.<sup>1</sup>, ДЕНИСЕНКО В.В.<sup>1</sup>, РЯБАЯ Н.Е.<sup>1</sup>, КРАСОЧКО П.А.<sup>2</sup>, ЛОМАКО Ю.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь, 220141, Минск, ул. Акад. Купревича, 2, e-mail: vental@yandex.ru

<sup>2</sup>РНИДУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», Беларусь, 220003, Минск, ул. Брикета, 28, e-mail: bievnt@tut.by

### **ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БИФИДО- И МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ МОЛОДНЯКА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

Актуальным направлением развития современной биотехнологии является разработка и применение в ветеринарной практике и медицине бактериальных препаратов-пробиотиков на основе микроорганизмов нормофлоры человека и животных, наиболее значимыми компонентами которой являются бифидо- и лактобактерии. Востребованность таких препаратов в настоящее время особенно возросла в связи с развитием множественной лекарственной резистентности и усилением факторов патогенности возбудителей различных заболеваний [1].

Антагонистическая активность нормофлоры по отношению к патогенным и условно патогенным бактериям является одним из основных критериев отбора штаммов бактерий для включения в состав пробиотических препаратов. Антимикробные взаимодействия оказывают влияние как на структуру микробиоценоза, т.е. на состав и разнообразие видов бактерий, так и на их функционирование. Изучение антагонистических свойств лакто- и бифидобактерий важно для характеристики

симбиотических отношений пробиотических микроорганизмов с организмом хозяина и с микроорганизмами других таксономических групп, что необходимо учитывать при создании многокомпонентных препаратов-пробиотиков.

Антимикробный эффект молочнокислых и бифидобактерий обусловлен комплексом их антагонистических свойств и определяется способностью ингибировать адгезию патогенных бактерий, а также продукцией таких метаболитов, как молочная кислота, перекись водорода, лизоцим, бактериоцины и др. [2 - 4]. Состав и активность секретлируемых метаболитов, продукция ферментов, витаминов, олигосахаридов и др. веществ существенно различаются в зависимости от родовых, видовых, штаммовых характеристик микроорганизмов-пробиотиков.

Целью работы был скрининг молочнокислых и бифидобактерий с высокой антагонистической активностью по отношению к возбудителям бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных циркулирующих в хозяйствах Беларуси, исследование спектра антимикробного действия бесклеточной культуральной жидкости в условиях *in vitro*. Представляло также интерес изучение возможности применения препарата для коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта при болезнях молодняка сельскохозяйственных животных.

#### Материалы и методы

В качестве объектов исследования были использованы 45 штаммов бифидобактерий и молочнокислых бактерий родов *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* из коллекции лаборатории молочнокислых и бифидобактерий Института микробиологии НАН Беларуси.

Культивирования бифидо- и молочнокислых бактерий проводили на стандартных питательных средах [5].

Для изучения антагонистической активности внеклеточных метаболитов использовали бесклеточную культуральную жидкость. Клетки отделяли центрифугированием при 10000g и 4°C в течение 20 мин. Полученный супернатант стерилизовали фильтрованием через мембраны с диаметром пор 0,2 мкм в стерильных условиях.

Антагонистическую активность молочнокислых и бифидобактерий по отношению к патогенным микроорганизмам определяли общепринятыми методами при культивировании тест-бактерий в агаризованных (метод диффузии в агар) питательных средах [6]. Об антагонистическом эффекте судили по величине зон подавления роста тест-организмов.

В качестве тест организмов использовали штаммы бактерий - возбудителей гастроэнтеритов крупного рогатого скота родов *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, и *E.coli*, циркулирующих в хозяйствах Беларуси.

#### Результаты и обсуждения

В результате проведенных экспериментов показано, что бесклеточная культуральная жидкость бифидо- и молочнокислых бактерий эффективно ингибируют рост патогенных штаммов. Наиболее выраженный антимикробный эффект оказывают метаболиты, продуцируемые штаммами *Bifidobacterium adolescentis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus rhamnosus* (таблица 1).

Таблица 1

#### Скрининг молочнокислых и бифидобактерий по антагонистической активности

Бактерии	Количество активных штаммов по отношению к патогенным микроорганизмам						
	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Pasteurella haemolytica</i>

<i>Enterococcus faecalis</i>	0	1	2	0	2	0	1
<i>Lactococcus sp.</i>	2	1	1	1	2	0	0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1	0	2	1	2	1	0
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0	0	0	1	0	0	0
<i>Lactobacillus brevis</i>	2	3	2	2	4	2	1
<i>Lactobacillus buchneri</i>	1	0	3	2	4	1	0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5	6	8	4	8	4	2
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	2	2	2	1	2	1	0
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	6	5	6	6	6	5	2
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	3	2	3	2	2	1	1

Для дальнейшей работы были отобраны 3 штамма бифидобактерий относящихся к виду *Bifidobacterium adolescentis*, и 3 штамма молочнокислых бактерий видов *Lactobacillus plantarum* и *Lactococcus lactis*. Бесклеточную культуральную жидкость данных бактерий смешивали в различных комбинациях и изучали антагонистическую активность по отношению к патогенным микроорганизмам. Было установлено, что смешивание препаратов культуральной жидкости молочнокислых бактерий и бифидобактерий приводило к усилению антагонистического эффекта в 1.5 - 2 раза в зависимости от используемого тест-штамма. Наиболее эффективно подавляла рост патогенных штаммов микроорганизмов смесь бесклеточных культуральных жидкостей штаммов *Bifidobacterium adolescentis* и *Lactobacillus rhamnosus*.

На основе экспериментальных данных получен бесклеточный препарат, содержащий продукты метаболизма *B.adolescentis* и *L. rhamnosus*. Установлено, что бесклеточный препарат является непатогенным и безвредным для лабораторных животных, не обладает токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

Исследована эффективность препарата бесклеточной культуральной жидкости, проявляющей антимикробную активность в условиях *in vitro*, для лечения желудочно-кишечных заболеваний телят. Эффективность препарата исследовалась на телятах возрастом 7-10 сут, больных гастроэнтеритами. В результате установлено, что после 2-3 кратного введения препарата у телят прекращались симптомы гастроэнтеритов, выздоровление наступало на второй день лечения. У телят контрольной группы болезнь продолжалась 4-6 дней. Анализ результатов проведенных испытаний показал, что бесклеточный препарат на основе метаболитов *B.adolescentis* и *L.rhamnosus* обладает высокой антагонистической активностью по отношению к патогенным бактериям, вызывающим гастроэнтериты у телят, и может использоваться для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний молодняка крупного рогатого скота.

### **Выводы**

Таким образом, проведен скрининг бактерий - представителей нормальной микрофлоры, по антагонистической активности в отношении сапрофитных, условно патогенных, а также некоторых патогенных бактерий родов *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pasterella* и патогенных серотипов *E. coli*. Показано, что препараты бесклеточной культуральной жидкости бифидо- и молочнокислых бактерий эффективно ингибируют рост патогенных штаммов. Наиболее выраженный антимикробный эффект оказывают метаболиты, продуцируемые штаммами *Lactobacillus rhamnosus* и *Bifidobacterium adolescentis*. Препарат, содержащий продукты метаболизма штаммов *B.adolescentis* и *L. rhamnosus*, эффективно подавляет рост бактерий, вызывающих гастроэнтериты у телят, перспективен для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных.

### **Литература**

1. Малик Н. И., Панин А. И. Ветеринарные пробиотические препараты // Ветеринария. -2001. - №1.- С. 46-51.
2. Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition // Am. J. Clin. Nutr. 2001. V. 73. P. 365-373.
3. Drakes M., Blanchard T., Czinn S. Bacterial probiotic modulation of dendritic cells // Infect Immun. 2004.- V.72, N 6.- P. 3299-3309.
4. Астапович Н.И, Головнева Н.А., Щетко В.А., Кондратьева Л.В., Грель М.В. К механизму антимикробной активности бифидобактерий / Н.И. Астапович [и др.] // Доклады НАН Беларуси – 2004. – Т. 48, №4. – С. 57 – 61.
5. Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E. A medium for the cultivation of *Lactobacilli* // J. Appl. Bacteriol.- 1960.- Vol.23, N1.- P. 30-135.
6. Егоров Н.С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. – М.: Высшая школа, 1965, 211 с.

#### **Резюме**

Исследована антагонистическая активность бифидо- и молочнокислых бактерий по отношению к возбудителям бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных. Отобраны штаммы для создания комплексного бесклеточного препарата, для коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта при болезнях молодняка сельскохозяйственных животных.

Досліджена антагоністична активність біфідо- і молочнокислих бактерій по відношенню до збудників бактерійних інфекцій сільськогосподарських тварин. Відібрані штами для створення комплексного бесклеточного препарату, для корекції мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту при хворобах молодняка сільськогосподарських тварин.

Antagonistic activity of bifido- and lactic acid bacteria against causative agent of bacterial infection of farm livestock was investigated. Strains for complex cell-free drug for correction of gastrointestinal tract's microbiocenosis of farm animals were selected.

**ДЕНИСЕНКО В.В., НАЙДЕНКО И.А.**

*Институт микробиологии НАН Беларуси*

*Беларусь, 220141, Минск, ул. акад. Купревича, 2, e-mail: naidenko@mbio.bas-net.by*

#### **ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА В СРЕДЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ПРОДУКЦИЮ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ *LACTOBACILLUS SP.***

Молочнокислые бактерии широко используются в разных отраслях народного хозяйства, в частности в медицине и ветеринарии для создания препаратов пробиотического действия. Биологическая активность этих микроорганизмов в значительной степени связана с продуктами метаболизма, в том числе внеклеточными полисахаридами. Благодаря своим реологическим свойствам экзополисахариды молочнокислых бактерий традиционно используются в пищевой промышленности в качестве загустителей, стабилизаторов консистенции [1]. Установлена противоопухолевая, иммуномодулирующая активность [2,3], а также пребиотические свойства [4] этих соединений.

Физиологическая роль внеклеточных полисахаридов молочнокислых бактерий до конца не установлена. В литературе имеются данные о том, что экзополисахариды повышают выживаемость клеток в условиях температурного стресса [5], снижают чувствительность бактерий к бактериоцинам и бактериофагам [6], стимулируют