

АКТИВНОСТЬ 4-(2-МЕТИЛ-1Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-1-ИЛМЕТИЛ)ФЕНОЛА ПО ОТНОШЕНИЮ К ГРИБАМ *ASPERGILLUS NIGER* И *CLADOSPORIUM HERBARUM*

Атлашова Е.Ю., Белоусова З.П., Кленова Н.А., Овчинникова Т.А.

Самарский государственный университет

Самара

Важнейшими среди современных синтетических антифунгальных препаратов являются азолы. Их отличает высокая противогрибковая активность, которая основана на ингибировании четвертой стадии синтеза эргостерола. Однако многие из современных препаратов на основе имидазола и триазола токсичны и малорастворимы в воде. Так как степень биологической активности азолов варьирует в зависимости от положения и природы заместителя N-1, имеет значение синтез новых соединений с возможно большим проявлением антифунгальной активности при меньшей общей токсичности соединения. Нами был проведен органический синтез нового производного – 4-(2-метил-1Н-бензол-1-илметил)фенола, обладающего достаточной растворимостью в воде. Синтез и изучение гемолитической активности 4-(2-метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенола описаны нами ранее.

Целью данной работы стало изучение дозозависимой активности 4-(2-метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенола по отношению к штаммам *Aspergillus niger* и *Cladosporium herbarum*.

Посевы проводили на кислую среду Чапека в чашки Петри по 0,1 мл из разведений 10^5 исходной суспензии клонов. Выращивали при 30°C в течение 12 дней. Пробы на противогрибковую активность 4-(2-метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенола оценивали по размеру зоны отсутствия роста, возникающей после посева вокруг тест-дисков, на которые наносили соединение в действующих дозах 150, 200 и 250 мкг. А также проводился подсчет грибных пропагул.

Исследования на противогрибковую активность 4-(2-метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенола в выбранных концентрациях показало, что соединение обладает выраженной активностью, что обнаруживается по достоверному увеличению диаметра зон задержки роста при посеве из разведений 10^5 , как *Aspergillus niger*, так и *Cladosporium herbarum*. Эффект сохранялся до 10-12 суток в зависимости от дозы воздействия и разведения суспензии культуры грибов. Более эффективным действием соединение обладает по отношению к культуре *Cladosporium herbarum*, что выражается в ингибирование роста на 59 % уже на третьи сутки культивирования дозой 150 мкг, тогда как рост *Aspergillus niger* тормозился лишь на 8,5 %. Причем действие на культуру *Aspergillus niger* имеет явный дозозависимый эффект, который сохраняется без видимых изменений до 9-х суток инкубирования. Уменьшение количества грибных пропагул составляло в среднем 8,5%, 47% и 54% соответственно дозе воздействия (150, 200 и 250 мкг), наиболее существенным оказалось увеличение дозы в интервале 150-200 мкг. Воздействие на культуру *Cladosporium herbarum* выявляло другие закономерности. Нами не было отмечено дозозависимого влияния на количество грибных пропагул в данном интервале изменения концентраций, а интенсивность действия зависела от суток культивирования. На третьи сутки количество пропагул уменьшилось в среднем на 59%, затем процент уменьшения снижался и к 11-м суткам уже составлял в среднем только 36%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что вновь синтезированное производное бензимидазола – 4-(2-метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенол – является эффективным

фунгиостатическим средством в действующих дозах 150-250 мкг, задерживая рост условно-патогенных грибов *Aspergillus niger* и *Cladosporium herbarum* в среднем на 50%.

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИПОГЕОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА РОСТ МИКРОМИЦЕТОВ

Богомолова Е.В.¹, Быстрова Е.Ю.², Гаврилов Ю.М.², Дмитриев С.П.³, Доватор Н.А.³, Панина Л.К.²

1 – Ботанический институт имени В.Л.Комарова РАН

2 – Санкт-Петербургский государственный университет

3 – Физико-технический институт имени Ф.Иоффе РАН
Санкт-Петербург

Результаты исследования биологической активности ослабленных магнитных полей свидетельствуют об определенной чувствительности различных групп микроорганизмов к данному фактору. Воздействие гипомангнитных полей может вызывать изменение морфологических и физиологических характеристик и являться, по существу, способом бесконтактного управления ростом микроскопических грибов. В свете постоянно возрастающего интереса к нехимическим способам защиты, как наиболее безопасным и экологически чистым, встает чрезвычайно актуальная задача поиска эффективных режимов подавления роста условно-патогенных грибов и биодеструкторов с использованием магнитного экранирования.

В качестве экспериментального материала использовались грибы *Ulocladium consortiale*, *Cladosporium cladosporioides*, *Mucor sp.*, *Aspergillus versicolor*, *Aureobasidium pullulans* и *Neurospora crassa* штамм F-872. Культивирование проводили на агаризованной среде Чапека в чашках Петри и на агаровых слайдах. Для микрофотосъемки использовалась цветная цифровая камера LEICA DC 300F (Leica, Germany), смонтированная на тринокулярный микроскоп H605T (WPI, USA) (объектив x25). Компьютерный анализ и обработка цифровых изображений проводились в ручном режиме с помощью программных средств ВидеоТест-Мастер-Морфология 4.0 (ООО "ВидеоТест", СПб, Россия). Культуры микромицетов экспонировались в условиях магнитного вакуума (100 нТл) на экранирующей постоянное и переменное магнитное поле установке, представляющей собой пятислойный цилиндрический магнитный экран с внутренним соленоидом для создания сверхслабого однородного магнитного поля. Наружный и внутренний цилиндры экрана были изготовлены из сплава "армко", остальные оболочки из пермаллоя 79НМ с высокой магнитной проницаемостью. Измерения индукции магнитного поля и его однородности внутри экранированной установки проводились как с помощью феррозондового датчика, так и магниточувствительного датчика, основанного на оптической ориентации атомов цезия. Коэффициент продольного экранирования внешних возмущений в полосе частот 0-0,15 Гц был $\sim 10^3$. Соленоид с концевыми корректирующими обмотками имеет длину 90 см, диаметр 30 см и позволяет получать статистически достоверные данные за счет одновременного размещения большого количества образцов в экранирующей камере.

Воздействие гипомангнитного поля приводило к снижению скорости роста колоний, причем, клетки грибов претерпевали определенные морфологические изменения за счет увеличения длины (10 %) и уменьшения размера поперечного сечения в центральной части клетки (до 30%). В экспериментальных условиях возникали изменения апикального роста и строения конидиеносцев, изменялась пигментация колоний. Начиная со второго поколения, колонии характеризовались значительным временным запаздыванием фазы спороношения, а также практически полным ингибированием процессов спорообразования. Обсуждаются альтернативные гипотезы о механизме действия гипогеомагнитных полей на грибы. Работа частично поддержана грантами РФФИ 08-02-01134-а и АВЦП "Развитие научного потенциала высшей школы" № 2.1.1./485.

ВЛИЯНИЕ АМИНОАДАМАНТАНА НА СИНТЕЗ ЭРГОСТЕРИНА *C.albicans* **Врынчану Н.А.**

Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины
Киев, Украина.

В настоящее время отмечается увеличение количества заболеваний, обусловленных грибами. За последние 20 лет их количество возросло на 20 % (Каплин Н.Н. и др. 2001г.). Возникновению микозов способствует нерациональное использование антибиотиков, прием цитостатиков, кортикостероидов и др. Для лечения грибковых заболеваний применяются препараты различных химических классов (пиримидины, полиены, азолы и др.). Антифунгальные средства ингибируют рост и размножение грибов нарушая внутриклеточные процессы (сордарины, гризеофульвин и др), оказывая мембранотоксические эффекты (амфотерицин В, нистатин и др.). В механизме действия последних важное место занимает влияние на липид эргостерин.

Увеличение резистентности грибов к антифунгальным препаратам, снижение эффективности лечения требует разработки новых лекарственных средств, в том числе и среди новых химических классов. Ранее нами было показано, что производное адамантана, вещество 4-(адамантил-1)-1-1(1-аминобутил)бензол (соединение АМ- 166) проявляет широкий спектр антимикробной активности, угнетает рост и размножение аэробных, анаэробных бактерий, а также дрожжеподобных, плесневых грибов и дерматомицетов (Врынчану Н.А., 2006г., Врынчану Н.А., 2007г.). МПК вещества АМ-166 в отношении грибов рода *Candida* (*C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.glabrata*, *C.krusei* и др.) составляет 0,5 - 2 мкг/мл. Механизмы антифунгального действия этого вещества не установлены.

Цель работы. Изучить влияние АМ- 166 на синтез эргостерина, важного компонента клеточной стенки грибов.

Влияние соединения АМ-166 на образование эргостерина изучали по отношению к *C.albicans* NCTC 885/653. Уровень эргостерина в гептановых экстрактах клеток дрожжеподобного гриба определяли спектрофотометрически (Крейер и др., 1993 г.) в диапазоне волн 200 – 300 нм (262, 271, 282 и 293 нм) через 1, 6 и 24 ч после добавления изучаемого соединения. Вещество АМ-166 синтезировано на НПЦ «Борщаговский химико-фармацевтический завод». Концентрация соединения АМ- 166 составляла 1 МПК (1 мкг/мл), плотность инокулята – 10^6 грибных элементов/мл питательной среды.

Результаты исследования. Полученные данные свидетельствуют, что через 24 ч инкубации *C.albicans* и соединения АМ- 166 в концентрации 1 МПК регистрируется статистически достоверное уменьшение массы клеток в сравнении с контролем.

Вещество в изученной концентрации влияет на образование стерина у дрожжеподобных грибов. Спектрофотометрический анализ гептановых экстрактов свидетельствует, что через 6 ч инкубации АМ-166 и *C.albicans* содержание эргостерина (по величине пиков) увеличивается (более, чем в 2 раза) в сравнении с 1 ч. Через 24 ч инкубации культуры с веществом регистрируется значительное увеличение его количества в сравнении с 6 ч. Значительное увеличение пиков отмечается во все сроки исследования (1ч, 6 ч, 24 ч) в сравнении с контролем.

Таким образом, соединение 4-(адамантил-1)-1-1(1-аминобутил)бензол в концентрации 1 МПК стимулирует образование эргостерина у дрожжеподобных грибов *C.albicans*, что может свидетельствовать о наличии у него мембранотропных свойств. В дальнейшем необходимо продолжить исследования механизма ингибирующего действия АМ-166, а именно изучение влияния на обменные процессы микроорганизмов.

БИОЦИДНЫЕ ПОКРЫТИЯ КАК СРЕДСТВО БОРЬБЫ С БИОПЛЕНКАМИ

Доброхотский О.Н., Негрий Н.В., Коломбет Л.В., Воинцева И.И., Скороходова О.Н.

Медико-санитарная часть №164 ФМБА

НИЦ токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов ФМБА

ООО «Эвима-М»

Оболенск – Серпухов – Москва

В соответствии с современными представлениями, микроорганизмы живут, в основном, в виде организованных сообществ, для обозначения которых используют термин «биопленки» (Biofilms). В состав биопленок кроме бактерий и вирусов, как правило, входят и различные виды грибов. Экспериментальные данные свидетельствуют об устойчивости микроорганизмов, находящихся в составе биопленок, к антибиотикам и различным дезинфектантам, что весьма актуально для практической медицины.

Биопленки образуются на внутренних имплантатах, контактных линзах и протезах, а также катетерах, - как на внешней, так и на внутренней поверхности. Формировать биопленки на катетерах способны практически все микроорганизмы, однако наибольшее клиническое значение имеют биопленки, формируемые *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, из эукариотических микроорганизмов основное значение имеют *Candida spp.*

Полимерные материалы, широко используемые в лечебных учреждениях различного профиля, по своим физико-химическим характеристикам представляют идеальный субстрат для интенсивного образования биопленок. В процессе эксплуатации исследовали с внутренней и наружной сторон шланги кислородной подводки, гофрированные трубки и прочее. Внутренние поверхности в большей степени обсеменены представителями антропогенной микрофлоры – *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida spp.*, *Enterococcus spp.*, чем наружные. Так из более, чем 120 штаммов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из биопленок, около 30 штаммов представлены микроскопическими грибами, из которых 16 – из рода *Candida*. При многократном использовании таких изделий даже для одного пациента возможно накопление возбудителей в составе биопленок (Самойленко В.А. и др., www.ecologylife.ru/odesski-region). Одним из наиболее простых и распространенных способов предотвращения образования биопленок является применение дезинфицирующих средств в виде водных растворов. Однако операции по очистке поверхностей от биологического обрастания довольно трудоемки, требуют большого расхода дезинфекционных средств и рабочего времени. При этом дезинфектант обычно воздействует только на внешний слой биопленки, а жизнеспособные микроорганизмы, находящиеся в более глубоких слоях, быстро наращивают биомассу и становятся источником повторного загрязнения.

Для предотвращения биологического обрастания поверхностей, контактирующих с водой, могут быть применены лакокрасочные покрытия, обладающие бактерицидным эффектом. В основу создания биоцидных водостойких лакокрасочных покрытий положены результаты многолетних фундаментальных исследований необратимых интерполимерных реакций, проведенные И.И. Воинцевой (Воинцева И.И., 1992). Проведенные исследования позволили синтезировать и испытать в качестве биоцидных покрытий интерполимерные соединения на основе полигексаметиленгуанидина (ПГМГ). Показано, что эти покрытия обладают широким спектром биоцидных свойств по отношению к бактериальным и грибным загрязнителям. Исследования позволили разработать технологию применения бактерицидных покрытий, обеспечивающую длительную защиту от биообрастания поверхностей, контактирующих с водой. На изобретенный способ пролонгированной дезинфекции выдан патент Российской Федерации, подана заявка РСТ для патентования в других странах.

ОЦЕНКА IN VITRO ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИСЕПТИКА ACTOLIND

Евстратенко Б. П., Маханова А. М., Захарова Е.А., Азизов И. С.

Карагандинская Государственная Медицинская Академия

Караганда, Казахстан

Введение: В связи с растущей резистентностью дрожжеподобных грибов *Candida spp.* к противогрибковым препаратам применяемым при лечении поверхностных кандидозов, актуальным является поиск новых антимикробных препаратов. Новый препарат Actolind (действующее вещество полигексанид)- антисептик, механизм действия которого связан его с действием, на белковые структуры мембраны, приводя к их денатурации. Отсутствие данных о противогрибковой активности Actolind in vitro послужило обоснованием для наших исследований.

Цель работы: In vitro оценка противогрибковой эффективности антисептика Actolind в отношении клинических штаммов дрожжеподобных грибов *Candida spp.*

Материалы и методы: Проведено определение чувствительности 56 клинических штаммов дрожжеподобных грибов *Candida spp.* к 5 противогрибковым препаратам. Определение чувствительности проводилось диско-диффузионным методом к следующим противогрибковым препаратам: нистатину (50мкг/диск), амфотерицину В (10мкг/диск), клотримазолу (10мкг/диск), кетоконазолу (15мкг/диск) и флюконазолу (15мкг/диск). Оценка проводилась в соответствии с критериями Neo-Sensitab. Определение чувствительности к препарату Actolind проводилось методом серийных разведений (в 100мл Actolind содержится: полигексанид 0,1%, ундициленамидопропил-бетаин 0,1% и дистиллированная вода).

Все исследуемые штаммы дрожжеподобных грибов *Candida spp.* были разбиты на 4 группы: 1 – устойчивые к флюконазолу (25 штаммов), 2 – устойчивые к кетоконазолу и нистатину (22 штамма), 3 – устойчивые к амфотерицину В, клотримазолу и флюконазолу (10 штаммов), 4 – устойчивые к нистатину, клотримазолу, кетоконазол и флюконазолу (12 штаммов).

Статистическая обработка проводилась путем определения МПК₅₀, МПК₉₀ и среднегеометрического отклонения с помощью программ WhoNet 5.4 (www.who.org).

Результаты и обсуждение:

Проведя статистический анализ чувствительности 56 штаммов дрожжеподобных грибов *Candida spp.* к пяти противогрибковым препаратам, выявили следующие значения МПК Actolind: МПК₅₀ = 2 мкг/мл, МПК₉₀ = 32 мкг/мл. Диапазон МПК варьировал в широком диапазоне от 0,5 до 62,5 мкг/мл. Среднегеометрическое значение МПК составило 7,177 мкг/мл.

Учитывая широкие вариации МПК нами было проведено изучение уровней чувствительности к препарату Actolind у кандид, устойчивых к другим противогрибковым препаратам.

Анализ данных чувствительности штаммов, устойчивых к флюконазолу выявил следующую картину: МПК₅₀ = 32 мкг/мл, МПК₉₀ = 32 мкг/мл. Диапазон МПК варьировал от 0,5 до 31,3мкг/мл. Среднегеометрическое значение МПК 7,838 мкг/мл.

Анализ чувствительности штаммов, устойчивых к двум препаратам (кетоконазолу и нистатину), выявил достоверно более высокие значения МПК: МПК₅₀ = 32 мкг/мл, МПК₉₀ = 32 мкг/мл, в тоже время диапазон МПК оставался в пределах 0,5-31,3мкг/мл.

Среднегеометрические значения МПК не несли достоверных различий и составили 7,362 мкг/мл.

При анализе данных чувствительности в группе штаммов, устойчивых к трем препаратам значения МПК достоверно не отличались от первой группы: МПК₅₀ = 2 мкг/мл, МПК₉₀ = 32 мкг/мл. Диапазон МПК так же как и в первой группе варьировал то 0,5 до 31,3 мкг/мл. При этом медиана была ниже, чем в предыдущих группах, что нашло свое отражение на значениях среднегеометрического МПК, которое составило 5,951 мкг/мл.

Проведенный анализ чувствительности штаммов четвертой группы выявил значения МПК: МПК₅₀ = 2 мкг/мл, МПК₉₀ = 32 мкг/мл. Диапазон МПК варьировал 0,5 от до 31,3 мкг/мл. Среднегеометрические значения МПК не несли достоверных различий и составили 5,559 мкг/мл.

Таким образом, мы не выявили данных, указывающих на перекрестную устойчивость к полигексаниду и классическим антимикотикам, что позволяет ожидать антифунгальной активности препарата Actolind в отношении полирезистентных штаммов. В тоже время, широкий диапазон вариаций МПК требует микробиологического обоснования применения данного антимикробного препарата.

Выводы: Выявлена *in vitro* высокая антифунгальная активность антисептика Actolind со средними показателями МПК 6,6775 мкг/мл, что позволяет рекомендовать препарат для клинического применения.

ШТАММ *BACILLUS THURINGIENSIS* С ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Калмыкова Г.В., Чекрыга Г.П., Бурцева Л.И.

Сибирский НИПТИ переработки сельскохозяйственной продукции СО РСХА
Институт Систематики и Экологии Животных СО РАН
Новосибирск

Использование микроорганизмов в качестве агентов биологического контроля фитопатогенных грибов представляет экологически безопасную альтернативу химическим пестицидам. В связи с этим в последнее время активизировался поиск микробных антагонистов фитопатогенных грибов.

Бактерии рода *Bacillus* включают в себя промышленно важные виды, которые имеют длительную историю безопасного применения в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве, во многих других отраслях народного хозяйства. Среди бактерий этого рода обнаружены виды, продуцирующие антимикробные вещества с высокой противогрибковой активностью [J.R. Nair et al., 2002; Lee H. et al., 2008].

Bacillus thuringiensis (*Bt*) - используется как безопасный биоинсектицид уже более 50 лет и недавно появились сообщения о способности штаммов *Bt* ингибировать рост фитопатогенных грибов [Reyes-Ramirez A. et al., 2004; Driss F. et al., 2005; Lee K.D. et al., 2006; Choi, Gyung Ja et al., 2007].

В коллекции лаборатории патологии насекомых Института Систематики и Экологии Животных СО РАН хранятся штаммы *Bt*, относящиеся к 43 подвидам. Штаммы охарактеризованы по физиолого-биохимическим свойствам, инсектицидности, определена литическая активность микроорганизмов в отношении 5 видов микрококков, проверена способность штаммов продуцировать бактериоцины [Калмыкова и др., 2008].

Используя штамм 221 *Bt ssp.thuringiensis* как модельный микроорганизм (штамм обладает инсектицидной активностью, продуцирует β - экзотоксин, проявляет высокую антибактериальную активность в отношении *Micrococcus lysodeikticus*), мы провели оценку трех методов определения противогрибковой активности в отношении грибов родов *Mucor*, *Fusarium*, *Aspergillus*. В первом тесте посев гриба и бактерии проводили одновременно с противоположных сторон чашки Петри. Во втором - посев гриба проводили через двое суток после высева бактериальной культуры на агаризованную среду. Кроме этих двух методов, был испытан метод Кекеси и Пике [Kekessy, Piquet, 1970], который исключает прямой контакт между продуцентом и индикаторным штаммом. Чашки Петри с двумя засеянными на агаризованные среды культурами инкубировали при $30 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 3-4 дней. Антибактериальное действие штамма 221 *Bt ssp.thuringiensis* на фитопатогенные грибы оценивали по угнетению линейного роста, а также по изменению культуральных признаков у исследуемых грибов.

Результаты показали, что бактериальный штамм угнетал рост грибов родов *Mucor* и *Fusarium*, но не влиял на рост *Aspergillus*. Угнетение линейного роста гриба рода *Mucor* (приблизительно на 30%) наблюдалось при посеве методом двойных культур с отсроченным и одновременным посевом гриба. Линейный рост грибного штамма при посеве методом Кекеси и Пике не отличался от контроля, но сопровождался полным отсутствием спорообразования. Для гриба рода *Fusarium* угнетение линейного роста (приблизительно на 50%) было выявлено методом Кекеси и Пике, но слабо проявлялось при посеве методом двойных культур.

Таким образом, полученные результаты подтвердили возможность дальнейшего поиска штаммов *Bt* с фунгицидной активностью. Предполагаем, что скрининг бактериальных штаммов позволит выявить потенциальные агенты биоконтроля фитопатогенных грибов.

ИСПЫТАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО СРЕДСТВА АРГОДЕРМ ПРОТИВ МИКРОСПОРИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Колесник Н. И., Пархоменко Н. А., Скрипник В. Г., Рябушко В.И., Юркова И. Н.

Институт биологии южных морей НАН Украины

Таврический государственный университет

Государственный НКИ биотехнологии и штаммов микроорганизмов

Севастополь – Симферополь – Киев, Украина

Дерматомикозы поражают все виды домашних животных, пушных зверей, грызунов, а также - человека. Для их лечения разработаны и внедрены в практику различные лечебно-профилактические средства с фунгицидным эффектом. В гуманной медицине в этих целях применяют различные препараты симптоматического действия: Амиклон, Анмарин, Антифин, Нитрофунгин, Брамизил, Ламизил, Ламикан, Медофлоран, Микотербин, Онихон, Тербизил, Фунготербин, Веро-Флуконазол, Дектанол и др.

В арсенале современных специалистов ветеринарной медицины есть препараты как специфического действия (вакцины: Фунгиканифел, Поливак-Т, Вермет, Биокан М, Биофел М и др.), так и симптоматического действия, но перечень последних намного скромнее.

Известно, что действующими веществами некоторых популярных препаратов против дерматомикозов человека являются ионы серебра и тербинафин в соединении с другими фунгицидными веществами. В ГНКИБШМ в 2007-2008 гг проводили доклинические и клинические исследования нового отечественного препарата для лечения дерматомикозов - Аргодерм, содержащего серебро в виде наночастиц (10-20 нм) в матрице морских биополимеров (патент Украины № 10539).

Целью нашей работы было определить эффективность препарата Аргодерм против микроспории при искусственном заражении морских свинок по сравнению с известными средствами местного действия Ламизилом (д.в.- тербинафин) и Малавитом (д.в. – серебро, медь, фитосредства и пр.).

Для искусственного заражения опытных животных использовали 14-ти суточные вирулентные культуры трех штаммов *Microsporum canis* из коллекции ГНКИБШМ. На каждый вариант опыта брали по 5 морских свинок. Инокулом наносили на предварительно выбритые на спине животного и скарифицированные участки кожи размером 4 x 4 см, в дозе около 2,5 млн. микроконидий. Сравнимыми препаратами обрабатывали пораженные участки один раз в день в одинаковой дозе.

Результаты исследований показали, что первые признаки развития микроспории проявились на 5-8 сутки независимо от штамма, культурой которого инокулювали животных. Степень поражения усиливалась на протяжении 15-20 дней от инокуляции и проявлялась в виде мокрых ран и струпьев. Лечение каждым из средств начинали на пятнадцатые сутки. Развитие болезни начало заметно снижаться уже в течение первых дней от начала лечения. Для полного возобновления эпидермиса (отсутствия ран) потребовалось 5 дней (малавит и аргодерм), 15 дней (ламизил), 20 дней (контроль). Заживление до полного возобновления волос наступало во всех вариантах не ранее, чем за 25 дней. Контрольные инокулированные животные, которых не лечили, имели такой же уровень развития болезни, как и опытные, но выздоровление их происходило не менее, чем на 40-й день от заражения. Такого стремительного снижения заболеваемости животных, как в вариантах с малавитом и аргодермом, не наблюдали ни в контроле, ни в варианте с ламизилом.

Таким образом, испытываемый отечественный серебросодержащий препарат Аргодерм при лечении микроспории лабораторных животных в остром опыте оказался одинаково эффективен по сравнению с малавитом и превышал по эффективности ламизил.

ХИМИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА БОРЬБЫ С АЛЬТЕРНАРИОЗОМ ГОРОХА

Космынина О. Н.

Самарская государственная сельскохозяйственная академия

Самара

Среди мероприятий по поднятию урожайности сельскохозяйственных культур большое значение имеет борьба с потерями в сельскохозяйственном производстве, вызываемыми различными причинами, в том числе болезнями растений. Потенциальные ресурсы увеличения урожая сельскохозяйственных культур за счет борьбы с болезнями очень велики. В числе мероприятий, рекомендованных для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, большое место занимают своевременные и правильное применение фунгицидов для борьбы с возбудителями болезней растений. До недавнего времени в Самарской области не отмечалось развитие альтернариоза на сельскохозяйственных культурах. Но в последнее время это заболевание наносит большой вред. Заболевание вызывается несовершенными грибами рода *Alternaria*. Эти грибы способны поражать все органы гороха, но чаще всего концентрируются на листьях и плодах. Это приводит к снижению урожая культуры, а также пищевых и посевных свойств зерна. Поэтому в последнее время все актуальнее становится борьба с альтернариозом.

Альтернариоз проявлялся в виде темно-бурых разрастающихся пятен, часто расположенных по краям листьев. При сильном заражении листья усыхали, крошились и опадали. Подобная пятнистость образовывалась на черешках листьев и стеблях. При окольцевании стебля, верхние части растения усыхали. Плоды приобретали темно-серый, почти черный налет. При содействии сотрудников ВИЗРа было установлено, что наибольшее распространение на горохе в условиях Самарской области имеет широкоспециализированный мелкоспоровый вид *Alternaria tenuissima*.

Учет степени пораженности гороха альтернариозом проводили, начиная с проявления первых признаков заболевания в фазу молочной спелости зерна, с повторностью через каждые 7 дней. Для получения сведений о поражении альтернариозом гороха проводились обследования участков по 0,25 м² в трехкратной повторности. Растения в пробе брались подряд, без выбора. Элементами учета являлись: распространенность болезни (в %) и интенсивность развития болезни (в баллах). Учет проводился на корню. В опыте изучалось влияние трех различных фунгицидов на развитие альтернариоза на посевном горохе (*Pisum sativum*) сорта Флагман 9, усатого морфотипа. Семена перед посевом протравливались следующими фунгицидами: Витавакс 200 ФФ (1,5 л/т), Максим (1,5 л/т), Винцит Форте (2 л/т). И часть семян осталась не обработанной – контроль.

Были получены следующие результаты: химическая обработка выше указанными препаратами снижала развитие альтернариоза на горохе. При протравливании семян фунгицидом Витавакс 200 ФФ наблюдается наименьшее развитие альтернариоза. Пораженность возбудителем резко снижается на всех органах растений по сравнению с контролем в 2-2,5 раза. Также значительно снижает распространенность и интенсивность развития болезни на листьях и стеблях – Винцит Форте. Протравливание семян фунгицидом Максим, практически не оказывает никакого влияния на снижение развития альтернариоза по сравнению с контролем.

Корреляционный анализ выявил обратную среднюю зависимость между распространением болезни и урожайностью. Коэффициент корреляции составил - 0,37. Наибольший урожай был получен при протравливании семян фунгицидом Витавакс 200 ФФ, а наименьший при обработке семян препаратом Винцит Форте.

Из полученных нами результатов, можем рекомендовать для снижения развития альтернариоза и повышения урожайности гороха, протравливание семян перед посевом препаратом Витавакс 200 ФФ в лесостепи Среднего Поволжья.

ПОЧВЕННЫЕ МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТИФУНГАЛЬНЫЕ АГЕНТЫ

Кравченко Л.В., Шапошников А.И., Лапицкая Е.А., Никонов И.Н., Азарова Т.С., Кряжевских Л.А., Лаптев Г.Ю.

ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РСХА
Санкт-Петербург

Вопрос о широком распространении молочнокислых бактерий в почве остается дискуссионным уже долгое время. Мы полагаем, что почва и ризосфера являются для молочнокислых бактерий естественной средой обитания и лактобациллы, продуцируя в окружающую среду экзометаболиты, могут играть существенную роль в растительно-микробных взаимодействиях. Известно, что молочнокислые бактерии могут обладать антифунгальной активностью, подавляя развитие грибов, особенно патогенных и условно-патогенных микромицетов. Целью исследования являлся поиск молочнокислых бактерий в почве и ризосфере и изучение их антифунгального потенциала.

Молочнокислые бактерии выделяли на селективные среды из дерново-подзолистых почв Ленинградской обл. и из ризосферы высших растений. Изоляты почвенных лактобацилл тестировали на антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным грибам р. *Fusarium*. В ходе исследований было обнаружено, что молочнокислые бактерии р. *Lactobacillus* являются обитателями ризосферы *Petroselinum crispum*, *Elitrigia repens*, *Phleum pratense*, *Anethum graveolens*, *Solanum lycopersicum*, *Medicago sativa*, *Lactuca sativa* и *Beta vulgaris*, а также встречаются в дерново-подзолистых почвах. Было показано, что большинство штаммов лактобацилл обладают высокой антифунгальной активностью по отношению к грибам р. *Fusarium* в сравнении с контрольными штаммами молочнокислых бактерий, отсутствующими в составе микробного комплекса почв. Максимальная антифунгальная активность была выявлена у изолята, идентифицированного как *L. buchneri*.

Анализ состава антифунгальных метаболитов, продуцируемых *L. buchneri*, проводился методом ВЭЖХ в этилацетатном экстракте культуральной жидкости. Экстракт культуральной жидкости *L. buchneri* обладал высокой антифунгальной активностью по сравнению с контролем – экстрактом стерильной питательной среды. Проведенный хроматографический анализ позволил обнаружить наличие 3 фракций экзометаболитов, которые обладали антифунгальным эффектом против грибов р. *Fusarium*. Два активных метаболита были идентифицированы как валериановая и масляная кислоты. Один из метаболитов, обладавший фунгистатическим эффектом, идентифицировать не удалось.

Результаты проведенных исследований показали, что молочнокислые бактерии широко распространены в почвах и ризосфере высших растений. Большинство штаммов лактобацилл обладает высоким антифунгальным потенциалом по отношению к грибам-фитопатогенам. Механизм антифунгального действия лактобацилл связан с синтезом и выделением в окружающую среду метаболитов, относящихся к органическим кислотам.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00248-а

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАНОСТАНОИДОВ ИЗ ГРИБОВ И РАСТЕНИЙ.

Кукина Т.П., Горбунова И.А., Баяндина И.И.

Новосибирский институт органической химии СО РАН

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН

Новосибирский Государственный Агроуниверситет

Новосибирск

Тритерпеноиды ланостанового ряда, выделенные из плодовых тел и мицелия различных видов базидиомицетов, обладают широким спектром физиологической активности и являются основой для получения лечебных препаратов, применяющихся в официальной и народной медицине. Из экстрактов грибов различных видов *Polyporus*, *Fomes*, *Inonotus*, *Trametes*, *Poria*, *Lentinus*, *Ganoderma*, *Tyromyces*, *Hebeloma* выделено более сотни ланостаноидов, обладающих антифунгальной, цитостатической, цитотоксической, антибиотической, иммуностимулирующей, анти-ВИЧ и другими жизненно важными видами активности (Quang, 2006).

В то же время структурно близкие соединения присутствуют в ряде высших растений. Так, к настоящему времени выделено несколько десятков ланостановых тритерпеноидов из различных видов пихт (Yang, 2008), растений семейства *Schisandraceae* (Xiao, 2008), гарцинии. Для многих из них выявлены те же виды активности: противовоспалительная, противоопухолевая, антиязвенная, противогрибковая. На основе экстрактов пихт создан ряд нетоксичных препаратов сельскохозяйственного назначения с фунгицидной активностью: СИЛК, Новосил, ВЭРВА и пр. Основу этих препаратов составляют суммарные фракции тритерпеновых кислот с ланостановым остовом, структурно близких тритерпеноидам базидиомицетов. Фармакологические испытания, проведенные с индивидуальными компонентами, выявили, что ацильная функция способствует эффективности испытываемых препаратов. В то же время для ряда соединений метилирование кислоты повышает противоопухолевую активность.

Ланостаноиды, выделенные из лимонника китайского, обладают выраженной противоопухолевой активностью, а также демонстрируют антихолестеринемическую активность.

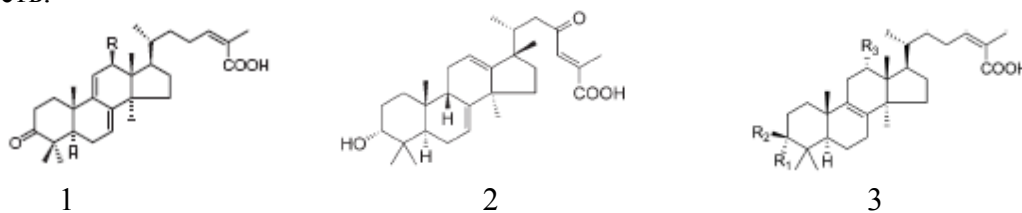


Рисунок иллюстрирует структурную общность ланостаноидов из базидиомицетов (1), пихты (2) и лимонника китайского (3).

Эти данные свидетельствуют о том, что препараты из лимонника китайского, широко культивируемого в наших садах, и пихты сибирской (Kim, 2008; Малыхин, 2007), являющейся одной из лесобразующих пород Сибири, могут занять достойное место наряду с препаратами из различных видов базидиальных грибов.

ПРОТИВОГРИБНЫЕ СВОЙСТВА ХИТОЗАНА В ОТНОШЕНИИ SACCHAROMYCES CEREVISIAE И CANDIDA ALBICANS

Куликов С.Н., Лисовская С.А., Глушко Н.И.

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии

Казань

На протяжении всей жизни человек постоянно сталкивается с представителями грибного царства. Иногда такое взаимодействие приводит к нежелательным последствиям в виде грибковых заболеваний, микотоксикозов, аллергических реакций. Для борьбы с грибами успешно используются многочисленные антимикотики и фунгициды. Однако разработка новых форм препаратов сохраняет свою актуальность и в настоящее время из-за появления резистентных штаммов микроорганизмов, а также всё возрастающими требованиями по безопасности к противогрибным веществам.

Одним из таких веществ является хитозан - биогенный полимер, получаемый из хитина методом щелочного деацетилирования, и, состоящий из остатков глюкозамина и ацетилглюкозамина. Вследствии природного происхождения хитозан характеризуется нетоксичностью, биodeградируемостью, биосовместимостью. Благодаря неспецифическому механизму действия на грибные клетки хитозановый полимер обладает широким спектром действия, поскольку, в отличие от классических веществ с антибиотическими свойствами, не имеет единственной мишени для своего действия, а его противогрибной эффект является совокупностью нескольких возможных механизмов, складывающихся в сложный процесс, который приводит в конечном итоге к гибели клеток микроорганизмов, таких как: изменение проницаемости ЦПМ, разрыв электронно транспортной цепи, нарушение гликозилирования белков.

Целью работы было определение концентрационной зависимости действия хитозана на *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida albicans* и выявление морфологических изменений грибных клеток при действии на них вещества.

Нами исследовалась противогрибная активность хитозана со средневязкостной молекулярной массой 240 кДа и степенью деацетилирования 85% («Биопрогресс», Щёлково). К суспензии грибных клеток в среде Сабуро (10^5 КОЕ/мл) добавляли раствор хитозана до конечной концентрации 50, 100 и 200 мкг/мл. После 48 ч инкубации оценивали рост культуры и проводили микроскопический анализ.

Было показано, что хитозан в концентрациях 50 и 100 мкг/мл не ингибировал рост культур обоих грибов. Однако при проведении микроскопии отмечено утолщение клеточных стенок, наблюдались изменения во внутреннем строении клеток – количество вакуолей увеличивалось, ядро становилось плохо различимым. Нарушалось расхождение клеток после почкования из-за чего образовывались крупные клеточные скопления.

В концентрации 200 мкг/мл рост культур *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida albicans* не наблюдался. Микроскопический анализ выявил наличие небольшого количества живых клеток, которые практически все имели угловатую, вытянутую или иную неправильную форму. Некоторые из них имели размер превышающий нормальный в два-три раза, возможно, из-за нарушения регуляции осмотического баланса или нерасхождения ядерного материала в ходе размножения. У некоторых живых клеток с нарушенной целостностью клеточной стенки наблюдалось вытекание цитоплазматического содержимого в среду. В самой среде находилось большое количество материала от погибших клеток, который, благодаря агглютинирующим свойствам хитозана, образовывал большие конгломераты.

Таким образом, хитозан, уже применяющийся на практике как компонент медицинских и косметических средств (мази, крема, гели), может обладать в составе этих препаратов и противогрибными свойствами. Выявленные нами изменения в структуре дрожжевых

клеток под действием хитозана указывают на обоснованность проведения дальнейших исследований по выяснению механизма действия полимера на грибы на молекулярном уровне.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНГИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТОВ И ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ПОЧЕК ТОПОЛЯ НА МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ

Литовка Ю.А., Исаева Е.В., Грищенко Е.

Сибирский федеральный университет

Сибирский государственный технологический университет

Красноярск

По данным ряда исследований летучие компоненты и спиртовые экстракты почек тополя обладают выраженными антимикробными свойствами, превосходящими по таковым экстракт прополиса, а в ряде случаев и эвкалиптовое масло, в связи с наличием в их составе сесквитерпеноидов и флавоноидов. В последнее время проводятся многочисленные исследования по влиянию веществ растительного происхождения на ростовые характеристики мицелиальных и дрожжевых грибов. Большинство исследований имеет фармакологическую направленность, тогда как возможно использование эфирных масел и растительных экстрактов при хранении зерновых, овощных и плодовых культур для их защиты от многочисленных возбудителей болезней.

Объектами исследования служили эфирное масло, спиртовой экстракт почек тополя бальзамического и его фракции, извлекаемые бутанолом (гликозиды фенольных соединений), петролейным эфиром (моно- и сесквитерпеноиды), диэтиловым эфиром (моно-, ди-, триацилглицериды, эфиры стеринов) и этилацетатом (халконы, флаванолы, коричные кислоты) в концентрациях от 500 до 2000 мкг/мл.

Для установления антифунгальной активности были использованы штаммы микроскопических грибов T11 *Fusarium sporotrichiodes*, T13 *Fusarium verticillioides*, П2-07 *Fusarium oxysporum* и Z3-05 *Fusarium poae*, которые характеризуются высокой степенью токсичности в отношении семян, проростков и сеянцев хвойных и злаковых растений; проявляют среднюю чувствительность к метаболитам ряда антагонистически активных штаммов микроорганизмов и химическим фунгицидам ТМТД, фундазол, виал-ТТ.

Концентрации исследуемых веществ готовили путем асептического их внесения в колбы Эрленмейера, содержащие горячую стерильную питательную среду. В качестве контроля использовали сусловый агар, инокулированный изучаемыми штаммами. Чашки Петри герметично закрывали при помощи клейкой ленты для избегания потерь летучих соединений. Посевы инкубировали при 28 °С в течение 10 сут, измеряя диаметр колонии, скорость роста, микроморфологические особенности, жизнеспособность клеток. Процентное ингибирование роста грибов (антифунгальную активность) вычисляли по сравнению с контролем.

Все тестируемые концентрации оказали антифунгальную активность (АФ) в отношении фитопатогенных грибов. Эфирное масло почек тополя в концентрации 500 мкг/мл снижало скорость роста фитопатогенов и интенсивность конидиегенеза в среднем в 1,9-2,2 раза по сравнению с контролем. Максимальная антифунгальная активность спиртового экстракта отмечена при концентрации сухого вещества 2000 мкг/мл (АФ 61-69 %): все изученные штаммы приостанавливали рост через 3-4 суток после инокулирования питательной среды, интенсивность образования конидий снизилась в среднем в 10-12 раз.

Изучение фракционного состава спиртового экстракта позволило установить, какие соединения в сухом остатке обладают выраженным фунгицидным действием. Максимальную антифунгальную активность (60-73,9 %) оказывают фракции, извлекаемые петролейным и диэтиловым эфиром в концентрации 1000 мкг/мл, что обусловлено высоким процентным содержанием в них сесквитерпеноидов и

флавоноидов – веществ, обладающих выраженным антимикробным действием. При этом АФ активность фракции, извлекаемой петролейным эфиром, в концентрации 1000 мкг/мл оказалась выше, чем суммарное действие спиртового экстракта в концентрации 2000 мкг/мл.

Минимальное воздействие (АФ 17-19 %) оказала фракция, извлекаемая бутанолом, содержащая гликозиды фенольных соединений, ацилированных фенолокислотами, уксусной кислотой или метоксилированных по углеводной части молекул.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS* SP. НА РОСТ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ.

Лукаткин А.А., Бурова Ю., Ибрагимова С.А.

Мордовский государственный университет имени Н.П.Огарева

Саранск

Инфекционность паразитарных болезней обусловлено способностью фитопатогенных организмов вызывать заражение, а также быстрым и массовым размножением и распространением их от больных растений к здоровым. Инфекционные болезни растений значительно снижают продуктивность сельскохозяйственных культур и ухудшают качество собранного урожая. Биологическая защита растений составляет направленное использование эволюционно сложившихся в природе межвидовых взаимоотношений. Преимущества органических веществ, метаболитов живых существ перед пестицидами и химическими удобрениями – это их комплексное позитивное действие и высокая эффективность, что позволяет вносить биопрепараты в минимальных дозах. Являясь природными веществами, они не накапливаются в окружающей среде и легко утилизируются в ней. Часть необходимых веществ можно не вносить в готовом виде, а производить прямо на месте потребления, используя живые существа. Естественно, для этой цели более пригодны микроорганизмы.

На кафедре биотехнологии ведутся работы по созданию биопрепарата на основе бактерий рода *Pseudomonas* с целью использования в сельском хозяйстве для защиты растений от фитопатогенных грибов. Антагонистические свойства бактерий *Pseudomonas* обусловлены не только синтезом антибиотиков, но представляют собой сложный комплекс, включающий образование белковых соединений и пептидов группы бактериоцинов и микроцинов, литических ферментов, сидерофоров и других биологически активных соединений. Целью данной работы являлось изучение взаимодействий *Pseudomonas* sp. с фитопатогенными грибами: *Botrytis cinerea* или *Fusarium* sp. при совместном глубинном культивировании на минеральной среде.

При совместном культивировании *Pseudomonas* sp. с *Botrytis cinerea* развитие гриба наблюдалось в течение суток, на вторые сутки культивирования наблюдалось частичное разрушение грибного мицелия. Однако на девятые сутки культивирования культур наблюдалось частичное восстановление грибного мицелия.

При культивировании бактерии с грибом *Fusarium* sp. наблюдалась схожая картина взаимодействия между ними. Так рост гриба наблюдался до вторых суток, затем происходило частичное разрушение мицелия вызванное, скорее всего, окончательным развитием *Pseudomonas* sp. Спустя десять суток наблюдалось восстановление мицелия гриба, что возможно связано со старением культуры бактерии.

Результаты проведенной работы показывают принципиальную возможность использования бактерий *Pseudomonas* sp. для создания биопрепарата для защиты сельскохозяйственных растений. Данный вид защиты является более выгодным с экономической и экологической точки зрения по сравнению с использованием пестицидов для обработки растений.

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ И ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ОПЫТНОГО БИОПРЕПАРАТА НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ДЕРМАТОМИКОЗОВ

Лукманова К.А.¹, Галимзянова Н.Ф.², Актуганов Г.Э.², Мелентьев А.А.², Киреева Р.М.¹, Салихова М.Х.¹

1 – Башкирский государственный медицинский университет Росздрава РФ

2 – Институт биологии Уфимского научного центра РАН

Уфа

Ранее нами была продемонстрирована эффективность штамма бактерий-антагонистов *Bacillus subtilis* ИБ-54 в подавлении грибов-дерматофитов и его перспективность для противогрибкового геля (Актуганов Г.Э. и др., 2007; Лукманова К.А. и др., 2008) как безопасной альтернативы и дополнения к существующим синтетическим средствам. Цель настоящей работы заключалась в экспериментальной разработке антимикотического препарата на основе данного штамма и изучение его эффективности на модели дерматомикоза у белых мышей.

В качестве экспериментальной лекарственной формы был использован препарат в виде геля на основе карбопола (Ultres 21) с оптимизированным составом, содержащий жидкую культуру бактерий (титр – не менее 10^8 КОЕ на 1 г лекарственного препарата). Изучение эффекта геля на модели дерматомикоза лабораторных животных проводили в соответствии с методическими указаниями по изучению противогрибковой активности фармакологических веществ. Стабильность препарата в форме геля при хранении оценивали на основе учета жизнеспособности бактериальных клеток и их антимикотических свойств по отношению к тест-штаммам дерматофитов *in vitro*. В течение срока наблюдения (9 мес.) гель сохранял исходные показатели биологической активности при разведениях до 10^{-8} . На лабораторных животных (белые мыши) была воспроизведена модель зоофильного дерматомикоза с использованием в качестве инфицирующего агента суспензии спор (не менее 10^7 на 1 мл) *Trichophyton gipseum*. В работе использовали 75 голов белых мышей массой 12-14 г. Заражение производили нанесением и втиранием 0,05 мл суспензии спор на выстриженные и скарифицированные участки кожи (2x2 см) на боковой поверхности туловища животных. Результаты регистрировали с 3-го по 30-й дни. В первой серии опытов препарат применяли профилактически, на следующий день после заражения. Во второй серии опытов лечение препаратом начинали при возникновении инфекционного процесса. В качестве препарата сравнения использовали синтетическое средство «Экзодерил» (1%-ный крем) фирмы “Sandoz”. Контрольная группа животных получала гелевую основу (карбопол) без *B. subtilis* ИБ-54. В качестве критерия эффективности препарата использовали различие в сроках излечения подопытных и контрольных групп животных. В течение срока наблюдения в группах, получавших профилактическое лечение исследуемым препаратом и «Экзодерилом», больных животных не выявлено. Таким образом, профилактическое применение геля на основе *B. subtilis* ИБ-54 защищало животных от инфицирования. Заболевших мышей подразделяли на три группы: группу 1 (контроль), где животные продолжали получать гелевую основу без *B. subtilis* ИБ-54, группу 2 и 3, в которых мышей лечили с применением испытуемого препарата и экзодерила, соответственно. В группах, получавших лечение препаратом на основе *B. subtilis* ИБ-54 и экзодерилом, на 21-е сутки наступало излечение всех животных, тогда как в группе - плацебо больные животные оставались до 30 дня.

Таким образом, гель на основе *B. subtilis* ИБ-54 стабилен при хранении в течение 9 месяцев и проявляет противогрибковую активность как *in vitro*, так и *in vivo*. Полученные

результаты демонстрируют перспективность экспериментального препарата для разработки технологии его промышленного получения и последующего внедрения в медицинскую практику.

ВЛИЯНИЕ КВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ CANDIDA ALBICANS С ЭПИТЕЛИОЦИТАМИ И НЕЙТРОФИЛАМИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Лукова О.А., Заславская М.И., Махрова Т.В.

Нижегородская государственная медицинская академия

Нижний Новгород

Развитие кандидоза зависит не только от вирулентности кандид, но и от состояния колонизируемой ткани и выраженности иммунных реакций человека. Доказанная эффективность применения КВЧ-излучения миллиметрового диапазона при различных патологиях дает основание говорить о его стимулирующем влиянии на организм человека, в частности, в отношении клеток, задействованных в иммунном ответе. Целью работы была оценка влияния КВЧ-излучения на реактивность эпителиоцитов и нейтрофилов человека в системах с *C. albicans in vitro*.

В работе применялся аппарат КВЧ-терапии с шумовым излучением (53,57-78,33 ГГц) АМФИТ-0,2/10-01 (НИФТИ, г. Н. Новгород). Эпителиоциты и нейтрофилы человека подвергали воздействию КВЧ (37°C, 30 мин) *in vitro*. Контролем служили клетки, не подвергавшиеся действию КВЧ. В работе использовали *C. albicans* штамм 601 (из коллекции кафедры микробиологии и иммунологии ГОУ ВПО НижГМА). Суспензию *C. albicans* (10^7 кл/мл) инкубировали (37°C, 30 мин) с буккальными эпителиоцитами в равных объемах. Определяли индекс искусственной колонизации кандид на эпителиоцитах после просмотра 100 клеток. В ряде экспериментов посеы *C. albicans* в чашках Петри облучали КВЧ (37°C, 30 мин). Измерение хемилюминесценции нейтрофилов проводили на жидкостно-стинцилляционном счетчике «Бета-2». Суспензию нейтрофилов ($5 \cdot 10^5$ кл/мл, 1 мл) в растворе Хенкса без фенолового красного смешивали с 0,1 мл раствора люминола ($5 \cdot 10^{-4}$ М). Для изучения индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов в пробы вносили 0,1 мл взвеси кандид ($2 \cdot 10^7$ кл/мл).

Действие КВЧ на систему «*C. albicans*-буккальные эпителиоциты» приводило к снижению уровня искусственной колонизации кандид на эпителиоцитах в $1,9 \pm 0,7$ раз по сравнению с контролем. Воздействие КВЧ только на *C. albicans* приводило к снижению адгезии в системе в $2,3 \pm 0,9$ раз, а при обработке одних эпителиоцитов – в $1,5 \pm 0,5$ раза по сравнению с контролем. Кроме того, воздействие КВЧ значительно повышало десорбцию ранее прикрепившихся кандид к эпителиоцитам по сравнению с контролем (в $1,7 \pm 0,3$ раз, $p < 0,05$). Выявлено, что КВЧ не обладает прямым фунгицидным эффектом в отношении *C. albicans* и не влияет на жизнеспособность эпителиоцитов (трипановый тест). Кандида-индуцированная ХЛ нейтрофилов, предварительно обработанных КВЧ, усиливалась в 1,5 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Таким образом, КВЧ-излучение миллиметрового диапазона способно повышать резистентность эпителиоцитов слизистых оболочек к *C. albicans* и одновременно усиливать кислород-зависимую биоцидность нейтрофилов в отношении кандид.

ЭНДОФИТНЫЙ ШТАММ *BACILLUS SUBTILIS* 49PH КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ ОСНОВА НОВОГО БИОФУНГИЦИДА.

Лукьянцев М.А., Егоршина А.А., Хайруллин Р.М.

Башкирский государственный аграрный университет
Уфа.

Поражение растений фитопатогенными грибами является известным и значимым фактором, снижающим продуктивность сельскохозяйственных культур. Наиболее действенным способом борьбы с фитопатогенными микромицетами в настоящее время является применение химических фунгицидов. Однако практически все они представляют опасность для живых организмов, так как содержат в своем составе соединения, токсичные для человека и животных. Кроме того, для защиты растений от некоторых грибных заболеваний химические препараты пока еще остаются малоэффективными. В сложившейся ситуации становится актуальным поиск новых эффективных и безопасных средств и методов борьбы с грибными фитопатогенами.

Известно, что многие почвенные микробы способны формировать антагонистические отношения с другими представителями микроорганизмов почвы. Так, в составе вторичных метаболитов многих представителей ризосферных бактерий рода *Bacillus*, в частности *Bacillus subtilis*, присутствуют антибиотические и фунгистатические вещества липопептидной природы, а также гидролитические ферменты, способные разрушать мицелий грибов. Эта особенность была обнаружена также у эндофитных представителей *B. subtilis*, заселяющих внутренние ткани растений без видимых симптомов влияния на рост и развитие хозяина. На основе некоторых таких штаммов созданы и широко применяются биофунгициды, как, например, «Фитоспорин» и «Фитоспорин-М», содержащие живые клетки и споры эндофитного штамма-антагониста *B. subtilis* 26D.

С целью повышения эффективности подобных биофунгицидов в нашей лаборатории из растений пшеницы были выделены несколько новых эндофитных штаммов *B. subtilis*, значительно превосходящих *B. subtilis* 26D по способности подавлять рост фитопатогенных грибов *in vitro* и не проявляющих выраженные фитотоксические свойства. Наиболее сильным антагонистом, активным в отношении широкого спектра фитопатогенных микромицетов, оказался штамм *B. subtilis* 49PH. Результаты экспериментов по влиянию метаболитов штамма 49PH на рост мицелия грибов *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *Mucor recurvus* и *Penicillium lividium* позволили сделать заключение о различии фитопатогенов по чувствительности к антибиотикам. В то же время существенных отличий в фунгистатическом действии бактериальных метаболитов на представителей одного рода грибов не наблюдалось. Микрофотосъемка выявила способность выделяемых бактерией веществ разрушать грибной мицелий. Возможность получения метаболитов, обладающих фунгистатическим действием, была исследована в процессе глубинного культивирования штамма 49PH в газо-вихревом биореакторе «БИОК». Нами показано, что фунгистатическая активность культуральной жидкости может регулироваться составом питательной среды, в частности различными концентрациями ионов железа и составом и количеством углеводов.

Таким образом, новый антагонистичный штамм *B. subtilis* 49PH проявляет высокую антагонистическую активность к микромицетам при отсутствии фитотоксичности ко многим видам культурных растений в концентрациях 10^8 - 10^9 КОЕ/мл. Эндофитность штамма и возможность повышения фунгицидной и фунгистатической активности в процессе глубинного культивирования создают предпосылки для разработки нового препарата для защиты растений от болезней, вызванных фитопатогенными грибами.

Сравнительное изучение спектра антибиотических веществ, выделяемых штаммом *B. subtilis* 49PH, является задачей следующего этапа наших исследований.

АНТИМИКОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДЕРМАДЕКСА

Матросова Л.Е., Крючкова М.А., Сагдеева З.Х., Титова В.Ю.

Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных
Казань

Зооантропонозные дерматомикозы (микроспория и трихофития) - заразные контагиозные заболевания, представляющие значительную опасность для человека и животных. В настоящее время отечественная и зарубежная промышленности предлагают широкий выбор препаратов для профилактики и лечения дерматомикозов. Однако литературные данные показывают, что некоторые из существующих на сегодняшний день средств имеют противопоказания и побочные эффекты, что делает невозможным их применение в ряде случаев и снижает их эффективность. Многие из препаратов не пригодны для массовых обработок животных, имеют низкую фунгицидную активность, плохо проникают в кожу, тем самым не обеспечивают эффективного действия на возбудителя. В связи с этим, весьма актуальным является разработка новых более эффективных и безопасных антимикотических препаратов.

Целью данного исследования явилось изучение фунгистатической и фунгицидной активности препарата Дермадекс, разработанного в ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

В качестве тест-культур использовали штаммы грибов *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton gypsum* и *Microsporum lanosum*, возбудителей трихофитии и микроспории. Для определения фунгистатической активности Дермадекса использовали метод двукратных серийных разведений в жидкой среде Сабуро; чувствительность к препарату определяли его минимальной дозой, при которой рост гриба не наблюдается. Фунгицидное действие изучали путем погружения тест-культур в Дермадекс и последующей посев на агар Сабуро, за активность препарата принимали отсутствие роста культур, лизис гриба и исчезновение с поверхности инокулятов.

В результате исследования определена минимальная концентрация препарата при которой происходило максимальное подавление роста грибов-возбудителей дерматомикозов. Так, при разведении 1:50, что соответствует дозе препарата 50 мкг/мл, наблюдали полное прекращение роста гриба. 15 минутный контакт с тестовыми культурами, приводил к полному отсутствию роста микромицетов.

Проведенные исследования на сельскохозяйственных и домашних животных показали эффективность использования Дермадекса при лечении трихофитии и микроспории. Дермадекс обладает высокой проникающей способностью в глубокие слои кожи, что способствует быстрому купированию процесса и восстановлению ее нормальных функций, активизации волосяных фолликул. Рост волос на пораженных участках начинался уже через 5 дней.

Таким образом, Дермадекс обладает выраженными фунгистатическими и фунгицидными свойствами в отношении возбудителей трихофитии и микроспории. Антимикотическая активность связана с наличием в составе препарата высокоактивного соединения серы меркаптобензотиазола и пролонгатора. Важным преимуществом препарата является его низкая токсичность (4 класс опасности), отсутствия алергизирующих, раздражающих, мутагенных, эмбриотоксических, тератогенных и канцерогенных свойств. На средство для лечения дерматомикозов получен патент №2281769.

АНТИМИКОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

Поликсенова В.Д., Стадниченко М.А., Федорович М.А., Карпук В.В.

Белорусский государственный университет

Минск

Главная причина интереса к биологическому методу защиты растений в настоящее время состоит в экологизации природопользования, и рациональном, более эффективном, использовании природных ресурсов. Теоретически всем растениям без исключения в той или иной степени должны быть присущи процессы жизнедеятельности, в результате которых они продуцируют бактерицидные, противогрибковые и протистоцидные вещества, являющиеся важным элементом их защитных сил.

Высшие растения в процессе эволюции выработали способность продуцировать вещества, предохраняющие их от сапротрофных и патогенных грибов.

Как показывают различные исследования, антибиотическими свойствами обладают альдегиды, органические кислоты, такие, как уксусная, лимонная, молочная, малоновая, виннокаменная кислоты, алкалоиды, гликозиды, флавоноиды, терпеноиды, антоцианы, эфирные масла, а также различные фенольные соединения.

В результате предварительных исследований данной литературы нами составлен список из 147 видов растений, характеризующихся антибиотическими свойствами и рекомендуемых для борьбы с бактериозами и микозами (растений или человека). В Беларуси встречается 89 видов из данного списка, из них в экспериментах по выявлению фунгицидной или фунгистатической активности были использованы водные экстракты 28 видов растений из различных семейств: *Saponaria officinalis*, *Chelidonium majus*, *Silene vulgaris*, *Ranunculus acris*, *Potentilla anserina*, *Betonica officinalis*, *Prunella vulgaris*, *Artemisia vulgaris*, *Artemisia absinthium*, *Artemisia campestris*, *Picea abies*, *Pinus silvestris*, *Linaria vulgaris*, *Helichrysum arenaria*, *Calendula officinalis*, *Mentha piperita*, *Thymus serpyllum*, *Sorbus aucuparia*, *Aronia mitschurinii*, *Quercus robur*, *Cucurbita pepo*, *Ribes nigrum*, *Amelanchier spicata*, *Betula pendula*, *Populus nigra*, *Thuja occidentales*, *Pion sp.*, *Gladiolus sp.*

Антимикотическую активность определяли по отношению к спорам повсеместно встречающихся фитопатогенных грибов *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, выращенных на картофельном агаре. Споры грибов инкубировали на предметных стёклах в чашках Петри в капле отвара или водопроводной воды (контроль), учитывая процент проросших спор в динамике в течение 24 ч. Выборка составляла 300 спор.

Проявлением фунгистатического действия считали частичное угнетение развития гриба; фунгицидным – полное подавление спор и роста мицелия, которое сопровождается их регрессивными изменениями.

Ингибирующее действие на прорастание спор *Fusarium oxysporum*, вызывающего прикорневые гнили и увядание многих растений, оказали экстракты *Picea abies*, *Potentilla anserina*, *Prunella vulgaris*, *Saponaria officinalis*, *Silene vulgaris*, *Chelidonium majus*; на прорастание спор *Botrytis cinerea*, широко известного полифага, вызывающего гниль сочных органов растений, – экстракты *Potentilla anserina*, *Ranunculus acris*, *Prunella vulgaris*, *Betonica officinalis*; на прорастание спор *Alternaria alternata*, также широко распространенного эврисубстратного гриба – экстракты *Ribes nigrum*, *Amelanchier spicata*, *Betula pendula*, *Populus nigra*. Особый интерес, на наш взгляд, представляют результаты относительно *B. cinerea* и *A. alternata*, поскольку эти микромицеты адаптированы к широкому кругу факторов среды, а борьба с ними затруднена. Полученные данные позволяют надеяться на успех в использовании природных механизмов для экологически сбалансированной защиты растений от патогенов.

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS AURANTIACA* В-162 ПО ОТНОШЕНИЮ К ВОЗБУДИТЕЛЮ БОТРИТИОЗА ПАСЛЕНОВЫХ КУЛЬТУР

Стадниченко М. А., Веремеенко Е. Г.

Белорусский государственный университет

Минск

Современные методы защиты растений предусматривают ряд мероприятий для снижения вредоносности фитопатогенов, но не всегда эти методы защиты эффективны по отношению к широко специализированным паразитам, которые обладают высокой экологической пластичностью. Значительные потери урожая культуры томата, а также перца и баклажана, вызывает неспециализированный патоген *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. Гриб способен в течение всего вегетационного периода поражать различные органы растений за счет постоянного формирования конидиального спороношения, как в условиях закрытого, так и открытого грунта. Возбудитель серой гнили, или ботритиоза, характеризуется быстрой адаптивной способностью к изменяющимся факторам среды, что создает трудности для применения защитных мероприятий.

Одним из перспективных методов защиты сельскохозяйственных культур является создание экологически безопасных для окружающей среды биопрепаратов. В настоящее время широко исследуются не только биологические агенты, как антагонисты, но и продукты их микробиологического синтеза (биологически активные вещества). Многие внеклеточные метаболиты способны проявлять антагонистические свойства по отношению к патогенной микобиоте.

В рамках наших исследований проводилось изучение влияния продуктов жизнедеятельности бактерий *Pseudomonas aurantiaca* В-162 на прорастание конидий 15 моноспоровых изолятов *B. cinerea*, выделенных из пораженных плодов, стеблей и листьев растений семейства Solanaceae. Бактерии *P. aurantiaca* способны продуцировать антибиотики феназинового ряда, которые являются высокоактивными в отношении целого ряда бактерий и грибов. Объектами служили 2 штамма бактерий: дикий тип и мутант 255, который характеризуется повышенным уровнем синтеза феназинов. Метаболиты бактерий получали путем погруженного культивирования в жидкой питательной среде с последующим осаждением клеток. Изоляты гриба культивировали на картофельно-глюкозной среде до образования конидиального спороношения. Споры патогена проращивали в культуральных фильтратах бактерий в течение суток. В качестве контроля служили вода и жидкая питательная среда.

Результаты исследований показали, что метаболиты *P. aurantiaca* подавляли прорастание конидий в среднем на 23,8-85,3% относительно контроля. Предполагалось, что повышение феназинов среди метаболитов *P. aurantiaca* будет способствовать более выраженным антифунгальным свойствам, однако изоляты возбудителя серой гнили оказались более чувствительны к культуральным фильтратам бактерий дикого типа. Полученные данные позволяют предположить, что антиботритиозный эффект бактерий обусловлен не только синтезом феназиновых соединений, но и другими продуктами жизнедеятельности. Вместе с тем, следует отметить, что споры различных изолятов гриба *B. cinerea* характеризовались неодинаковой чувствительностью по отношению к метаболитам бактерий. В ходе исследований отмечены изоляты высокочувствительные и относительно слабочувствительные, что даст возможность более глубоко понять природу антимикотического влияния мутантных бактерий. Таким образом, метаболиты бактерий *P. aurantiaca* проявляют антифунгальную активность по отношению к *B. cinerea*, что может быть использовано в разработке приемов защиты пасленовых культур против ботритиоза.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ *Trichoderma asperellum* GJS 03-35 ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ФУЗАРИОЗА КОЛОСА ПШЕНИЦЫ *F. graminearum* В ВЕГЕТАЦИОННОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ОБРАБОТКИ.

Старшов А.А., Коломбет Л.В.

ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

НИЦ токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов ФМБА

Оболенск – Серпухов

Фузариозы колоса зерновых культур, вызываемые грибами рода *Fusarium*, являются одной из актуальных проблем зернового производства. Кроме прямых потерь урожая (до 20% и более) фузариозы загрязняют зернопродукцию высокостабильными фузариотоксинами (ФТ), такими как дезоксиниваленол (ДОН) и его ацетилпроизводные (3-АсДОН, 15- АсДОН), зеараленон, Т-2 и др. В числе наиболее распространенных возбудителей фузариоза колоса зерновых *F. graminearum*, и *F. culmorum*. Традиционных химические фунгициды в борьбе с фузариозом колоса не всегда высокоэффективны и практически не препятствуют накоплению ФТ в урожае. Поэтому продолжаются поиски эффективных средств и новых приемов защиты зерновых культур от этого фитопатогена. Ранее нами был разработан препарат на основе мицелия штамма *Trichoderma viride* Pers ex S.F.Gray, который обладает гиперпаразитической активностью по отношению к широкому спектру фитопатогенов в том числе к *F. graminearum* и *F. culmorum* (Kolombet L. 1999, Коломбет с соавт., 2001, Kolombet et al., 2003). По уточненной классификации этот штамм относится к виду *Trichoderma asperellum* Samuels et al. (в Коллекции Лаборатории Ботаники и систематики, Белтсвилль, ему присвоен индекс GJS 03-35) (Samuels et al., 1999, Kolombet et al., 2004). Испытание препарата на основе биомассы гриба *T. asperellum* проводили в условиях вегетационного эксперимента на искусственном инфекционном фоне. Цель настоящего исследования заключалась в оценке эффективности защиты яровой пшеницы (сорт Иволга) от ФК препаратом на основе гриба *T. asperellum* путем предпосевной обработки семян и обработки по вегетации в фазу колошения-цветения. Оценивались как отдельное, так и совместно-последовательное применение предпосевной обработки и опрыскивания вегетирующих растений.

Предпосевную обработку семян проводили с нормой расхода 0,5 кг/т семян. Опрыскивание по вегетации проводили 0,1% раствором препарата *T. asperellum* в фазе колошения-цветения. В этой же фазе развития растений создавали инфекционный фон опрыскиванием вегетирующих растений суспензией *F. graminearum* (титр $3,75 \times 10^5$ КОЕ/мл). Для улучшения адгезивных свойств во все суспензии был добавлен Твин - 80 (0,4%).

В ходе проведения эксперимента было установлено, что предпосевная обработка семян яровой пшеницы достоверно снижала развитие болезни. Наилучшие результаты по снижению развитию болезни были получены при сочетании предпосевной обработке семян, с последующей обработкой по вегетации в фазе колошения-цветения. Этот же вариант показал значительную прибавку массы 1000 зерен пшеницы. Оценка качества полученного зерна по содержанию микотоксинов определила, что в данных вариантах содержание ДОН в зерне снижалось в 6-10 раз. Кроме ДОН другие микотоксины отсутствовали.

Через два месяца после уборки урожая оценили влияние различных способов обработки на распространенность и интенсивность развития фузариоза в апробационных снопах. В растениях, зараженных *F. graminearum* продолжалось накопление инфекции, тогда как в варианте с двойной обработкой (предпосевная и по вегетации) защитный эффект был

достоверно выражен. Таким образом, в вегетационном эксперименте на яровой пшенице сорта Иволга было показано, что как предпосевная обработка семян пшеницы биомассой культуры *T. asperellum* (0,5 кг/т), так и опрыскивание растений в фазе колошения-цветения 0,1% раствором биомассы культуры *T. asperellum* снижали интенсивность развития и распространенность заболевания. Сочетание предпосевной обработки и опрыскивания вегетирующих растений значительно усиливало защитный эффект против фузариоза колоса и может быть рекомендовано для дальнейших опытно-производственных испытаний.

НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ПРИ КАНДИДОЗЕ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ И ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА ДС-2

Тремасов Ю.М., Матросова Л.Е., Ахметов Ф.Г.

ФГУ «ФЦТРБ – ВНИВИ»

Казань

Развитие животноводства и повышение продуктивности животных на сельскохозяйственных предприятиях, зависит от различных факторов, среди которых большое значение имеют различные заболевания, приносящие существенный экономический ущерб. Среди болезней большое место занимают эндометриты. В этой связи актуальным являются разработка эффективных препаратов для профилактики и лечения этих болезней.

В ФГУ «ФЦТРБ - ВНИВИ», на основе серосодержащих соединений и иммуномодуляторов разработано средство для лечения эндометритов животных – ДС-2 (эндометрин 2). Препарат проявляет высокую фунгицидную и фунгистатическую активность в отношении грибов рода *Candida*.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния ДС-2 на некоторые показатели неспецифической резистентности овец, больных кандидозом.

Опыты проведены на овцах массой 40 - 45 кг, разделенных по принципу аналогов на 2 группы (n=3). Овцам первой группы внутриматочно однократно вводили ДС-2 в лечебной дозе, равной 0,2 мл/кг массы тела; вторая группа животных служила контролем. До введения препарата и на 5, 10, 15, 20 и 30 сутки общепринятыми методами проводили исследование крови на содержание лейкоцитов, общего белка и его фракций, фагоцитарную активность нейтрофилов, активность лизоцима.

На 15 и 20 сутки после введения овцам ДС-2 отмечалось повышение количества общего белка на 8 и 12 % соответственно. Количество альбуминов снижалось на 5 и 18 % на 10 и 15-е сутки. Изменения в концентрации α -глобулинов носили перемежающийся характер. Так, через сутки после введения препарата содержание α -глобулинов увеличивалось на 22 %, через трое суток - уменьшалось на 40 % ($P \leq 0,001$), на 10, 15 и 20-е сутки количество их увеличивалось на 10, 25 и 20 % ($P \leq 0,001$) соответственно.

Содержание β -глобулинов было повышено на 35, 32 и 35 % ($P \leq 0,001$) на 5, 10 и 15 сут. после введения ДС-2. Концентрация γ -глобулинов также повышалась на 28, 40 и 28 % ($P \leq 0,001$) через 5, 10 и 15 сут. после применения препарата.

При применении ДС-2 общее количество лейкоцитов варьировало на уровне фоновых величин. Фагоцитарная активность увеличивалась через 10, 15 и 20 сут., на 10, 15 и 22 %, фагоцитарный индекс - на 27, 20 и 28 %. Фагоцитарное число и фагоцитарная емкость лейкоцитов через сутки повышались на 50 и 30 % ($P \leq 0,001$), через 5 сут. - 30 и 32 % ($P \leq 0,001$), через 10 сут. - 20 и 27 % ($P \leq 0,001$), через 20 сут. — 25 и 35 % ($P \leq 0,001$) соответственно. После введения препарата через 5 суток активность лизоцима повышалась на 24 % ($P \leq 0,01$), на 10 и 20 сутки активность ферментов превышала фоновый уровень на 10 и 12 % соответственно.

У контрольных животных на протяжении всего периода исследований отмечалось повышенное количество лейкоцитов, снижение количества общего белка, белковых фракций, показателей неспецифической резистентности.

Иммуностимулирующее действие ДС-2 при кандидозе овец характеризуется повышением фагоцитарной активности нейтрофилов, лизоцимной активности и других показателей неспецифической резистентности животных.

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ПРОТИВОГРИБКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ХИМИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ АНТИБИОТИКОВ-МАКРОЛИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ МОДИФИКАЦИЕЙ НИСТАТИНА

Тренин А.С., Зотчев С.Б., Олсуфьева Е.Н., Тевяшова А.Н., Соловьева С.Е., Принцевская С.С., Галатенко О.А., Преображенская М.Н.

НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф.Гаузе РАМН

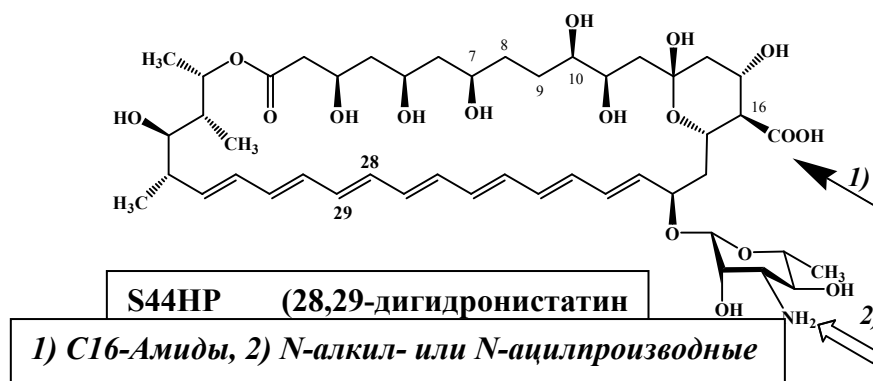
Отдел биотехнологии, Норвежский университет науки и технологии

Москва – Трондхейм, Норвегия.

В целях создания новых более эффективных препаратов, обладающих выраженным фунгицидным действием, проведена химическая трансформация известного противогрибкового полиенового антибиотика амфотерицина В, а также ряда его генно-инженерных аналогов (S44HP и других).

Изменения, вносимые в молекулы полиенов химическим путем, не затрагивали характерной для этой группы препаратов системы сопряженных двойных связей, участвующей во взаимодействии указанных антибиотиков с их основной мишенью – молекулами эргостерола в мембране грибковых возбудителей. Все химические модификации касались наружных участков макролидного кольца и приводили к созданию новых активных амидов, ряда моно- и ди-замещенных производных.

Изучение



противогрибковой активности новых оригинальных антибиотиков проводилось в экспериментах *in vitro* в отношении ряда культур дрожжей (*Candida albicans*, *Cryptococcus humicolus*) и несовершенных грибов (*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*). Полученные результаты свидетельствуют о том, что многие новые соединения не уступают, а по отдельным показателям (растворимость, токсичность) даже несколько превосходят применяемый в настоящее время в клинике амфотерицин В.

Данное исследование было поддержано фирмой Biosergen AS, Норвегия, а также Норвежским Советом по науке.

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БИОЦИДОВ НА МИКРОМИЦЕТЫ, ПОВРЕЖДАЮЩИЕ БУМАГУ

Трепова Е.С., Великова Т.Д.

Федеральный центр консервации библиотечных фондов

Российская национальная библиотека

Санкт-Петербург

Исследованы восемь препаратов, обладающих высоким биоцидным действием на рост микромицетов, предусмотренных для испытания бумаги на грибостойкость. Данные биоциды выбраны на основании предварительных исследований из 32 препаратов, исследование свойств которых показало отсутствие их негативного влияния на основные свойства бумаги. Биоцидный эффект на рост грибов исследовался на бумаге двух видов — газетной и из 100 %-й сульфатной целлюлозы (СФА). В качестве тест-культур выбрали пять наиболее активных микромицетов, выделенных из книгохранилищ библиотек: *Aspergillus niger* Tiegh. var *niger*, *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, *P. funiculosum* Thom., *P. purpurogenum* Stoll, *Trichoderma viride* Pers. Биоцидные препараты представлены различными химическими соединениями: полигексаметиленгуанидином (Фосфопаг), производными изотиозола (Санатекс, Rocima 243 и Анти-В), нециклическими ацеталями, алифатическими азотными и гетероциклическими серо-азотными соединениями (Rocima GT), метилметакрилатом и бутилметакрилатом с добавлением трибутоловаметакрилата оловоорганических полимеров (АБП-40). Бумагу обрабатывали растворами препаратов в концентрации от 0,1 до 5,0 %, кроме Фонгифлюида (100 %). Действие биоцидов считали эффективным, если на бумаге, помещенной на среду Чапека с глюкозой, не было роста в течение 14 суток.

Самыми устойчивыми к действию всех испытанных препаратов в зависимости от вида бумаги были *A. niger* (на газетной бумаге) и *P. aurantiogriseum* (на СФА), частота встречаемости которых в хранилищах библиотек очень высокая. Наибольшую чувствительность к данным биоцидам соответственно на бумаге двух видов проявили *P. funiculosum* и *P. purpurogenum*.

Эффективными на газетной бумаге оказались препарат на основе гуанидина: не ингибировали только рост *A. niger*. Единственный препарат, который защищал газетную бумагу от всех микромицетов – Санатекс, а на бумаге, обработанной АБП-40, наоборот, способны расти все пять видов микромицетов.

Не выявлено зависимости между эффективностью препаратов и устойчивостью микромицетов. Так, выявленная ранее высокая сопротивляемость *A. niger* различным биоцидам, что обусловило использование его в качестве тест-культуры, не проявилась на СФА в присутствии АБП-40.

ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST FUNGAL PATHOGENS OF THE STORED AGRICULTURAL PRODUCTS

Trenozhnikova L., Abdulina S., Rakhimova E., Woodward D

Institute of Microbiology and Virology

Institute of Botany and Phytointroduction,

Almaty, Kazakhstan

Currently, the creation of ecologically safe and natural means for the storage of agricultural products is one of the most perspective trends. Antifungal properties of 43 plant-derived essential oils were studied to determine their efficiency against pathogens during the storage period. The antifungal effects of essential oils were studied in a series of *in vitro* experiments. The activities of oils were evaluated using paper disc agar diffusion and broth dilution methods. Five essential oils showed high fungicidal activity against studied phytopathogens. The oils of *Mentha piperita* and *Artemisia glabella* that were grown in Kazakhstan were the most effective ones. In 1% concentration of these essential oils fully suppressed the growth of mycelia and the spore germination of *Penicillium expansum*, *P.ciclopium*, *P.puberulum*, *P.clavigerum*, *Fusarium solani*, *F.oxysporum*, *F.heterosporium*, *Aspergillus niger*, *Alternaria circinans*, *Cladosporium cladosporoides*, *Rhizopus nigricans*. *Mentha piperita* oil in 0,1% concentration fully inhibited spore germination of *Aspergillus niger*, *Rhizopus nigricans* and *Fusarium solani*. This essential oil in 0,01% concentration 3,9 times inhibited radial growth of *Rhizopus nigricans* colonies. Morphological changes were noted when phytopathogenic fungi were treated with essential oils. They included inhibition of conidiogenous activity and variations in hypha diameter. The studied essential oils are chemically safe for humans in contrary to synthetic fungicides. They are recommended as perspective fungicides for preservation of agricultural products during storage period.