



ИННОВАЦИИ В БИОТЕХНОЛОГИЯХ

МАТЕРИАЛЫ КРУГЛОГО СТОЛА

2024

5-7 ИЮНЯ, г. МИНСК

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Отделение биологических наук
ГНПО «Химический синтез и биотехнологии»

ЕВРАЗИЙСКАЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ
ПЛАТФОРМА «ЕвразияБИО»

ИННОВАЦИИ В БИОТЕХНОЛОГИЯХ

Материалы круглого стола, посвященного
80-летию освобождения Беларуси
от немецко-фашистских захватчиков

Минск, 5–7 июня 2024 г.

Минск
«Беларуская навука»
2024

УДК 60:001.895(082)

ББК 30.16я43

И66

Редакционная коллегия:

доктор биологических наук, профессор, академик *Э. И. Коломиец* (главный редактор),
кандидат биологических наук, доцент *Н. В. Сверчкова* (заместитель главного редактора),
кандидат биологических наук, доцент *М. Н. Мандрик-Литвинкович*,
кандидат сельскохозяйственных наук *В. Н. Купцов*,
кандидат биологических наук *Т. А. Пилипчук*,
Е. Ю. Шмыга

И66 **Иновации** в биотехнологиях : материалы круглого стола, посвященно-
го 80-летию освобождения Беларуси от немецко-фашистских захватчиков
(Минск, 5–7 июня 2024 г.) / редкол.: Э. И. Коломиец (гл. ред.) [и др.]. – Минск :
Беларуская навука, 2024. – 79 с.
ISBN 978-985-08-3200-9.

В сборнике представлены материалы ведущих зарубежных и белорусских ученых, а также представителей частного бизнеса об инновациях в области микробиологии и создания новых видов биотехнологической продукции для промышленности, здравоохранения, сельского хозяйства и охраны окружающей среды.

Представляет интерес для ученых-микробиологов, биотехнологов, химиков, медиков, работников здравоохранения и агропромышленного комплекса, студентов профильных вузов.

УДК 60:001.895(06)

ББК 30.600.6я43

ISBN 978-985-08-3200-9

© ГНПО «Химический синтез
и биотехнологии», 2024

© Оформление. РУП «Издательский дом
«Беларуская навука», 2024

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Коломиец Э. И., Сверчкова Н. В., Скриба Н. Н.</i> Национальная академия наук Беларуси – драйвер развития биотехнологической отрасли республики	5
<i>Кильчевский А. В., Макарина-Кибак Л. Э., Морозик П. М., Гузенко Е. В.</i> Развитие геномики в Национальной академии наук Беларуси	11
<i>Го Тяньхао, Ракецкая О. А., Коломиец Э. И.</i> Перспективы развития китайско-белорусского сотрудничества в сфере биотехнологий.....	15
<i>Симирский В. В., Будевич А. В.</i> Технологическая платформа создания комбинированных радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП) на основе альфа- и бета-излучающих изотопов и лактоферрина.....	20
<i>Зинченко А. И., Казаков Р. В., Казловский И. С., Винтер М. А., Щеколова А. С.</i> Создание кандидатной мРНК-вакцины против омикронного варианта SARS-CoV-2	23
<i>Гончаров А. Е., Князева Е. В.</i> Биомедицинские клеточные продукты – высокотехнологичный тренд в медицине.....	27
<i>Жаворонок С. В., Задора И. С., Давыдов В. В., Симирский В. В., Щербань А. И., Шука Н. В., Мытько Ю. А., Анисько Л. А., Рогачева Т. А., Алаторцева Г. И., Лухверчик Л. Н., Нестеренко Л. Н., Зверев В. В.</i> Иммуноферментные тест-системы для детекции антител к вирусу гепатита Е в Республике Беларусь.....	31
<i>Мандрик-Литвинкович М. Н., Коломиец Э. И.</i> Регуляция микробиома почвы и растений как основа совершенствования фитозащитных мероприятий	35
<i>Зиганьшин А. А., Щукин В. Б.</i> Влияние препарата «Полибакт» на микробиологический состав почвы при использовании его в технологии возделывания ячменя.....	40
<i>Габдрахманова А. В.</i> Роль энтомофагов при защите сельскохозяйственных культур.....	43
<i>Архипченко И. А., Орлова О. В.</i> Биотехнологические подходы к переработке бытовых отходов мегаполисов.....	47
<i>Пилипчук Т. А., Охремчук А. Э., Валентович Л. Н., Коломиец Э. И.</i> Бактериофаги фитопатогенных бактерий: молекулярно-генетическая характеристика и применение	51

<i>Сверчкова Н. В., Коломиец Э. И.</i> Основы создания инновационных пробиотических препаратов для кормопроизводства с использованием бактерий рода <i>Bacillus</i>	55
<i>Никанова Д. А., Колодина Е. Н., Довыденкова М. В., Артемьева О. А.</i> Выделение грибов рода <i>Rhodotorula</i> из желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных и изучение их антагонистической активности	60
<i>Купцов В. Н., Левченко Д. Д., Мандрик-Литвинкович М. Н., Степанова Т. Л., Коломиец Э. И., Гао Сюевен.</i> Отбор стрессоустойчивых штаммов бактерий рода <i>Bacillus</i> с целью повышения адаптивного потенциала агентов биологического контроля болезней растений	64
<i>Проскурнина И. А., Коломиец Э. И.</i> Штамм бактерий <i>Bacillus velezensis</i> БИМ В-497 Д – основа ветеринарного пробиотического препарата «Ветоспорин».....	68
<i>Шмыга Е. Ю., Гирилович Н. И., Мандрик-Литвинкович М. Н., Коломиец Э. И., Шешко П. С.</i> Препарат микробный «Биопродуктин» как биоактиватор мульчирующего субстрата для яблоневого сада интенсивного типа.....	72
<i>Степанова Т. Л., Мандрик-Литвинкович М. Н., Купцов В. Н., Павловский Н. Б., Коломиец Э. И.</i> Микробный препарат «ХелсБеррин» для защиты ягод голубики высокорослой от комплекса грибных фитопатогенов.....	76
ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ	79

Национальная академия наук Беларуси – драйвер развития биотехнологической отрасли республики

Коломиец Э. И., Сверчкова Н. В., Скриба Н. Н.

ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь

Расширение масштабов вовлечения биотехнологии в развитие народно-хозяйственного комплекса является закономерным проявлением эволюции всей социально-экономической системы Беларуси, ориентированной в условиях глобализации на поиск собственных конкурентных преимуществ и укрепление позиций на международных рынках высокотехнологичной продукции. Понимание значимости и перспективности освоения биотехнологических новаций разными секторами материального производства и социальной сферы нашло отражение в одобренной на правительственном уровне Национальной стратегии устойчивого развития Республики Беларусь до 2035 г. [1]. В текущем пятилетии Указом Президента биотехнологии отнесены к числу приоритетных направлений научной, научно-технической и инновационной деятельности [2].

Реальный вклад в расширение сферы участия биотехнологии в социально-экономическом развитии страны вносит инновационная активность профильных научно-производственных объединений и центров, основанных на кластерных принципах организации деятельности и ставших, по сути, своеобразными точками роста отечественной биоиндустрии [3]. Растет численность резидентов биотехнологического профиля в составе субъектов инновационной инфраструктуры, прежде всего Парка высоких технологий и Китайско-Белорусского индустриального парка «Великий камень», которые имеют специальный правовой режим, развитую инфраструктуру, благоприятные условия деятельности, включая льготы по налогообложению, таможенным платежам, аренде помещений, оформлению и осуществлению внешне-экономических операций и пр.

Согласно протоколу поручений Главы государства от 14 февраля 2018 г. № 4, данных во время пленарного заседания II Съезда ученых Республики Беларусь, научное сопровождение развития биотехнологической отрасли возложено на Национальную академию наук Беларуси, которая в соответствии с принятой Стратегией «Наука и технологии: 2018–2040» последовательно проводит комплексную работу по поддержке и стимулированию актуальных научных исследований в данной области, организации на базе получаемых разработок наукоемких высокотехнологичных производств [4]. К настоящему времени в составе НАН Беларуси насчитывается около 20 инновационных структур, нацеленных на реализацию полного цикла получения востребованной эконо-

микой биотехнологической продукции. Лидирующие позиции в их числе занимает государственное научно-производственное объединение «Химический синтез и биотехнологии» (далее – Объединение), которое функционирует как крупный кластер и координирует деятельность 7 профильных организаций: Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Института генетики и цитологии НАН Беларуси, Института микробиологии НАН Беларуси, Института биоорганической химии НАН Беларуси, РПУП «Академфарм», УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии НАН Беларуси», РУП «Бобруйский завод биотехнологий».

Важнейшими задачами Объединения являются создание и внедрение новых наукоемких видов продукции, реализация государственной политики в области науки и инноваций, мониторинг развития биотехнологической отрасли, по результатам которого ежегодно представляются доклады Главе государства. Так, по оценке Объединения, в 2023 г. общий объем выпуска биотехнологической продукции и услуг в Республике Беларусь составил 734,1 млн руб. (117,1 % к аналогичному показателю 2022 г.), в том числе по направлениям: пищевая промышленность – 254,7 млн руб. (104,1 %), сельское хозяйство – 417,2 млн руб. (131,6 %), медицинские биотехнологии, биофармацевтическая промышленность – 60,9 млн руб. (94,1 %), охрана окружающей среды, жилищно-коммунальное и лесное хозяйство – 0,38 млн руб. (95,0 %), биоэнергетика (биогаз для собственных нужд) – 0,97 млн руб. (785,0 %). Экспорт превысил 73 млн долл. США (134,4 %).

Объединение вносит предложения по формированию целевых государственных научных и научно-технических программ, курирует их выполнение, организует внедрение в производство новых прогрессивных конкурентоспособных разработок, пользующихся спросом на внутреннем и внешнем рынках, способствует укреплению международных контактов путем размещения информации об участниках Объединения на разработанном веб-сайте *biophat.by* с расширенным функционалом – интернет-магазин, актуальная информация о научных разработках, новых видах продукции, что в целом повышает эффективность ее коммерциализации.

В 2023 г. организациями Объединения произведено биотехнологической продукции и оказано услуг на сумму 36,6 млн руб. (109,2 % к 2022 г.), объем экспорта составил 1,57 млн долл. США. В ассортименте выпускаемых позиций сельскохозяйственного назначения значительный удельный вес занимают экологически безопасные микробные удобрения, биологические средства защиты растений, ростовые факторы для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур, биоконсерванты кормов, пробиотические препараты, биоактивные кормовые добавки, ферментные препараты. Особое внимание в микробиологической науке уделяется секвенированию и редактированию геномов микроорганизмов с целью создания высокоактивных конкурентоспособных штаммов-продуцентов, развитию биоинформатики, метагеномным исследованиям микробных сообществ.

Использование микробных препаратов открывает перспективы снижения пестицидной нагрузки на агробиоценозы, уменьшает зависимость сельскохозяйственного производства от импорта ферментных препаратов, позволяет обеспечить отечественный рынок новыми бактериальными композициями с пробиотической активностью – альтернативой антибиотикам.

На основе геномных технологий создаются принципиально новые и улучшенные генотипы растений, животных и микроорганизмов, совершенствуются селекционный процесс и методы ведения сельского хозяйства. Разработка и внедрение в селекционный процесс экспресс-методов ДНК-диагностики генов, улучшающих качество сельскохозяйственной продукции, позволяет сохранить конкурентоспособность белорусских сортов по отношению к сортам иностранной селекции.

В области биофармацевтики и биомедицины продукция представлена противопухолевыми фармпрепаратами, наборами для иммуноферментного и радиоиммунного медицинского микроанализа, экспресс-тестами, наборами и реагентами для молекулярной диагностики, препаратом глюкозооксидазы для производства датчиков для экспресс-анализа глюкозы в крови, стволовыми клетками, используемыми в регенеративной медицине, моющими средствами с дезинфицирующим эффектом, содержащими пробиотический компонент. Оказываются услуги по ДНК-диагностике, проводятся исследования генов, наследственно-ассоциированных с риском возникновения социально значимых заболеваний – венозных тромбозов, диабета 2-го типа, остеопороза, нарушения нормального физиологического течения беременности и др.

Учитывая важность деятельности Объединения, в 2022 г. по решению Бюро Президиума НАН Беларуси в его состав была включена научная структура «Отдел биотехнологии средств биологического контроля», ранее функционировавшая в Институте микробиологии НАН Беларуси. Благодаря расширению спектра проводимых исследований Объединение было аккредитовано на статус научной организации. В последние годы им разработана линейка инновационной биотехнологической продукции различного назначения:

определитель грибных и бактериальных возбудителей болезней сельскохозяйственных растений на основе ДНК-типирования, позволяющий контролировать состав патогенного комплекса агроэкосистем;

биопрепарат «БациФагКомпозит» для комплексной защиты огурца и томата от болезней грибной и бактериальной этиологии в условиях малообъемной гидропоники, основой которого является композиция бактерий-антагонистов и бактериофагов. Его применение обеспечило биологическую эффективность против комплекса болезней на огурце – 50–65 %, на томате защищенного грунта – 48–66 %. Разработка является пионерной как в республике, так и в мире;

микробный препарат «Биопруд» для регуляции гидрохимического режима и улучшения естественной кормовой базы рыбоводных прудов, позволяющий осуществлять эффективный контроль патогенных микроорганизмов в водном

биоценозе, а также повышающий содержание биогенных элементов в водной среде за счет деструкции труднодоступных соединений донных отложений. Использование препарата повышает естественную рыбопродуктивность прудов на 40–60 %, обеспечивает снижение затрат комбикормов на 30 %, сокращение расходов минеральных азотно-фосфорных удобрений по сравнению с нормативами на 60 %;

пробиотическая кормовая добавка «Биодигестин-С» для нормализации микробиоты рубца и улучшения перевариваемости кормов крупного рогатого скота разработана с использованием штаммов бактерий рода *Bacillus* с высокой ферментативной и антимикробной активностями, выделенными из микробиома рубца жвачных животных. Ее применение в рационах высокоудойных лактирующих коров снижает заболеваемость ацидозом на 11–12 %, увеличивает перевариваемость кормов на 5 %, молочную продуктивность на 6–7 %;

пробиотический препарат «Биоклин» – компонент чистящего и дезинфицирующего средства «БиоклинСэф» для объектов здравоохранения, промышленной, коммунально-бытовой сферы, способствующий снижению химической нагрузки на окружающую среду. Эффективность средства обусловлена синергетическим действием традиционных активно действующих химических веществ и пробиотических бактерий, которые продуцируют широкий спектр антимикробных соединений, ферментов, поверхностно-активных веществ.

В связи с общей направленностью государственной политики на развитие в республике «зеленой» экономики и необходимостью реализации комплекса мер по биоремедиации и рациональному использованию естественных экологических систем, предотвращению процесса деградации земель [5], на базе Объединения создана отраслевая лаборатория молекулярной диагностики и регуляции почвенных и водных микробиоценозов, в задачи которой входит проведение научно-исследовательских и опытно-технологических работ в области восстановления микробиоценозов техногенных экосистем, в том числе деградированных почв городского и сельскохозяйственного назначения, водоемов и рыбоводных прудов, объектов биоповреждений.

С целью биоремедиации деградированных почв осуществляется изучение состава основных эколого-трофических групп микроорганизмов почв, молекулярная диагностика возбудителей заболеваний растений, разработка и производство новых видов биологических средств защиты растений и комплексных микробных препаратов для восстановления плодородия почв. В частности, для защиты зеленых насаждений, овощных и плодово-ягодных культур созданы и широко применяются «Бетапротектин», «Бактосол», «Экогрин», «Мультифаг», «Мультифаг-С», «Фрутин», «Экосад», «БацИФагКомпозит», «Бактвавен», а для снижения инфекционного фона и негативного влияния техногенных загрязнений на почву и растения, обогащения почвы доступными

для растений азотом и фосфором предложены комплексные микробные препараты «Агроревитол», «Биопродуктин», «INMI-Биостим».

Важное значение для улучшения санитарных и гидробиологических показателей природных и искусственных водоемов, в том числе городских водных систем, имеет исследовательская деятельность Объединения в части молекулярной диагностики микробиоты водных объектов и разработки рекомендаций по их оздоровлению с использованием микробных препаратов «Бiovир», «Биопруд», «Эмилиин», «Бакто-Хелс».

Принимая во внимание действующие в республике требования и нормативы по обеспечению благоприятных санитарно-эпидемиологических и гигиенических условий жизнедеятельности населения, специалистами Объединения разрабатывается система мер по осуществлению контроля за уровнем содержания плесневых грибов в помещениях. Она включает проведение обследований с целью микробиологической и молекулярно-генетической диагностики агентов плесневого поражения, выявления причин возникновения очагов биоповреждений, обоснования способов борьбы с ними.

Постоянный научный поиск в интересах отечественного народнохозяйственного комплекса Объединение динамично сочетает с развитием международной деятельности, основными векторами которой является сотрудничество с российскими и китайскими партнерами по поставкам произведенной продукции и оказанию услуг исследовательского характера. В настоящее время активно проводятся совместные исследования в рамках международных контрактов с компанией «Шаньдун Би-Лан Биотехнолоджи» (г. Тайань, КНР), ООО «Компания Чжунбай Биоинжиниринг» (КНР), НПО «Агро Мен-тор» и ООО «АгроБиоТехнологии» (Российская Федерация) и др. Для решения актуальных задач по развитию «зеленой» экономики и диверсификации экспорта на базе Объединения создана совместная белорусско-китайская биотехнологическая лаборатория.

В целом предлагаемые рынку продукция и услуги Объединения характеризуются высокой степенью новизны, соответствуют мировому уровню развития биологической науки, вносят значительный вклад в биологизацию экономики. Более того, наличие серьезных научных заделов и опытных разработок формирует основу для дальнейшего существенного расширения масштабов использования биотехнологии в массовом производстве продукции с новыми свойствами, востребованной как отраслями реального сектора (промышленные и агробиотехнологии, биоэнергетика), так и социальной сферой (здравоохранение, охрана окружающей среды).

Стратегическую значимость для дальнейшего укрепления инновационного потенциала биотехнологии имеет активная государственная политика, направленная на повышение инвестиционной привлекательности и ускорение коммерциализации биотехнологических разработок, стимулирование деятельности профильных стартапов и внутреннего спроса на вновь осваиваемую

биопродукцию. Опережающему развитию исследовательской базы биоиндустрии будет способствовать устранение барьеров в области таможенного и технического регулирования, содействие посредством комплекса экономических преференций модернизации оборудования и улучшению технологической инфраструктуры, поступательный переход на доказавшие свою эффективность технологии управления научно-производственным потенциалом отрасли при обеспечении высокого качества подготовки специалистов, востребованных разными ее сегментами, на платформе многоуровневого, интегрированного с наукой и бизнесом опережающего образования.

Список использованных источников

1. Национальная стратегия устойчивого развития Республики Беларусь на период до 2035 года [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://economy.gov.by/uploads/files/ObsugdaemNPA/NSUR-2035-1.pdf>. – Дата доступа: 06.07.2023.
2. О приоритетных направлениях научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы: Указ Президента Респ. Беларусь, 07 мая 2020 г., № 156 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=P32000156&p1=1&p5=0>. – Дата доступа: 06.02.2024.
3. Коломиец, Э. И. Состояние и стратегические задачи развития биотехнологической отрасли Республики Беларусь / Э. И. Коломиец, Н. Н. Скриба // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр. – Минск : Беларусь. наука, 2023. – Т. 15. – С. 6–20.
4. Стратегия «Наука и технологии: 2018–2040»: Постановление Президиума Национальной академии наук Беларуси, 26 февраля 2018 г., № 17 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://nasb.gov.by/congress2/strategy_2018-2040.pdf. – Дата доступа: 17.04.2024.
5. О Национальном плане действий по развитию «зеленой» экономики в Республике Беларусь на 2021–2025 годы : постановление Совета Министров Республики Беларусь, 10 дек. 2021 г., № 710 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100710&p1=1>. – Дата доступа: 15.05.2024.

Развитие геномики в Национальной академии наук Беларуси

Кильчевский А. В.^{1,2}, Макарина-Кибак Л. Э.², Морозик П. М.², Гузенко Е. В.²

¹*Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь*

²*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Геномные биотехнологии – новое современное направление, получившее интенсивное развитие благодаря совершенствованию подходов к изучению структуры и функций геномов различных живых организмов, а также методов медицинской диагностики, синтетической биологии, редактирования генов и биоинформатики. Прорывные биотехнологии, базирующиеся на знаниях о функционировании генетического аппарата клетки, открывают колоссальные возможности при их применении в различных сферах – медицине, сельском хозяйстве, охране окружающей среды, криминалистике, спорте, промышленной микробиологии.

В Беларуси прикладные исследования, направленные на разработку геномных биотехнологий, динамично развиваются в последние десятилетия. Этому в значительной степени способствовало признание биотехнологии приоритетным направлением научной деятельности и формирование ряда соответствующих государственных программ. Были усилены существовавшие ранее и созданы новые научные школы, приобретено современное оборудование, привлечены существенные кадровые, финансовые ресурсы. В Национальной академии наук Беларуси в данной области работает целый ряд учреждений: Институт генетики и цитологии, Институт микробиологии, Институт биофизики и клеточной инженерии, Институт биоорганической химии, Институт леса, НПЦ по биоресурсам, НПЦ по картофелеводству и плодоовощеводству, НПЦ по земледелию, НПЦ по животноводству и др. Большинство реализуемых проектов осуществляется в сотрудничестве с учреждениями Минздрава, Минсельхозпрода, Минприроды, Минлесхоза, Минобразования, Минспорта и другими ведомствами. Результатом реализации государственных программ стали геномные биотехнологии V и VI технологических укладов. Основная поставленная задача – достигнуть прорывных научных разработок, способных конкурировать на мировом уровне.

В интересах здравоохранения в НАН Беларуси осуществляются исследования, направленные на изучение генетических механизмов развития заболеваний с целью прогнозирования риска их возникновения или ранней ДНК-диагностики, генетических основ индивидуальной чувствительности к лекарственным препаратам для повышения эффективности терапии и снижения негативных последствий, выявление других генетически обусловленных индивидуальных особенностей человека.

Работа ведется по широкому спектру заболеваний: сердечно-сосудистых, эндокринных, костно-мышечных, аутоиммунных, онкологических и др. Для понимания роли отдельных вариантов генов и их комплексов в предрасположенности, диагностике и оценке прогноза течения социально значимых заболеваний применяется технология высокопроизводительного секвенирования полного или клинического экзона. Так, проведение широкогеномных исследований для разработки технологии прогнозирования осложнений у недоношенных детей позволило для каждого пациента смоделировать генные сети, задействованные в формировании осложнений, и определить полиморфные аллели генов, ассоциированных с высоким риском предрасположенности к ним.

В области онкогенетики с целью поиска диагностических и прогностических маркеров рака легкого осуществлялось таргетное секвенирование промоторных областей протоонкогенов и генов-онкосупрессоров. Определены наиболее клинически значимые мутации, ассоциированные с выживаемостью пациентов.

В области фармакогенетики разработаны, апробированы и внедрены молекулярно-генетические методики оценки устойчивости/чувствительности к целому ряду лекарственных препаратов, что позволяет существенно повысить эффективность терапии.

Благодаря дизайну собственных таргетных панелей для секвенирования генных сетей, вовлеченных в патогенез конкретных заболеваний, существенно снижена себестоимость исследований, повышена их доступность и расширен перечень патологий. Благодаря этому установлен спектр мутаций, характерных для белорусских пациентов с целым рядом наследственных патологий, в том числе редких (орфанных) заболеваний. Зачастую выявляемые мутации ранее не встречались в других популяциях.

Проведены исследования по изучению роли микробиома в реализации особенностей генома долгожителей Беларуси. Установлен спектр микроорганизмов, а также варианты генов, характерные для долгожителей. Данные о качественном составе микробиома кишечника долгожителей используются для разработки кисломолочной продукции, способствующей профилактике ряда заболеваний.

В области спорта разработаны технологии ДНК-паспортизации по комплексу генов, оказывающих существенное влияние на физические качества, психологическое состояние (стрессоустойчивость), пищевое поведение, риск возникновения профпатологии, получения травм, адаптацию к гипоксии, способность к восстановлению после физических нагрузок.

Работы в области сельского хозяйства направлены на изучение структуры, организации и функционирования геномов растений и животных, поиск генетических детерминант хозяйственно ценных признаков, разработку и внедрение методов маркер-сопутствующего отбора в селекцию. В основном они ориентированы на дальнейшее применение в селекционной практике при создании сортов растений и улучшении пород животных.

В организациях НАН Беларуси активно проводятся изыскания в области растениеводства, изучаются гены, детерминирующие формирование продуктивности, качества, устойчивости к абиотическим и биотическим стрессовым факторам у целого ряда сельскохозяйственных культур. На основе полученных данных разработаны наборы ДНК-маркеров для маркер-опосредованной селекции, которые совместно с селекционерами успешно применяются на практике.

Большое внимание уделяется генам, определяющим формирование устойчивости растений к абиотическим стрессовым факторам: пониженным и повышенным температурам, засухе, засолению и многим другим. Генетика морозостойкости изучается на пшенице, тритикале и рапсе. Ведутся исследования по выявлению маркеров устойчивости к различным заболеваниям сельскохозяйственных растений, а также в области трансгенеза и проблем биобезопасности. В НАН Беларуси выстроен полный цикл для работ по генетической инженерии растений, в том числе с применением CRISPR-технологий для модификации генома картофеля для повышения устойчивости к фитопатогенам.

Изыскания в области животноводства направлены на изучение аллелопондов пород, отбор генетически лучших особей по хозяйственно ценным признакам, элиминацию наследственных дефектов и контроль происхождения и чистопородности сельскохозяйственных животных. В НАН Беларуси осуществляется поиск генетических детерминант хозяйственно ценных признаков, таких как молочная и мясная продуктивность, содержание жира и белка в молоке, многоплодие. Проводятся работы по генетической идентификации рыб, начаты исследования по генетике аборигенных видов животных (медоносной пчелы и полесской лошади). Благодаря разработанным методам ДНК-диагностики наследственных заболеваний крупного рогатого скота, с 2015 г. в 1,8–6,5 раза снизилось число носителей опасных мутаций по ряду заболеваний, а некоторые мутации полностью элиминированы.

В промышленной микробиологии широко используются геномные биотехнологии для секвенирования и аннотирования геномов ряда грибов, бактерий и вирусов. С помощью техники рекомбинантных ДНК сконструирована линейка бактериальных штаммов-суперпродуцентов ферментов различной субстратной специфичности, с активностью в десятки и сотни раз превосходящей обычные продуценты.

Создана технология синтеза искусственных генов, стоимость которых, точность и скорость получения конкурентоспособны на мировом рынке.

Геномные биотехнологии применяются и в области сохранения биоразнообразия – для определения видовой принадлежности методом ДНК-штрихкодирования редких охраняемых растений, дикорастущих лекарственных растений, которые в дальнейшем депонируются в Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов. Начата разработка технологии метабаркодинга, которая позволит анализировать растительные смеси.

В области охраны окружающей среды выполнена молекулярно-генетическая идентификация и популяционная оценка инвазивных видов животных, подтвержден факт первой регистрации на территории Беларуси шакала азиатского. Проведен генетический анализ популяции лошадей Пржевальского, обитающей в белорусской части зоны отчуждения ЧАЭС на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника.

В области лесного хозяйства по результатам секвенирования определены ДНК-маркеры для генетической диагностики вершинного короёда с целью установления источника происхождения очагов и оценки миграционной активности вредителя. Идентифицированы R-гены сосны обыкновенной и ели европейской, обеспечивающие повышенную резистентность к инфекционным фитозаболеваниям, и установлена их структурная организация. Методами секвенирования выявлена структурно-функциональная организация хлоропластного генома липы мелколистной, изучена ее географическая структура, по ядерным ДНК-маркерам проведена паспортизация.

В интересах криминалистики разработаны и апробированы в криминалистических лабораториях технологии определения наиболее вероятных параметров внешности (цвет глаз и волос), возраста, а также психоэмоционального статуса неизвестного индивида по его ДНК.

В ряде организаций НАН Беларуси созданы инновационные структуры для внедрения геномных технологий в практику, а также генетические банки для сохранения биологического материала растений, животных, микроорганизмов и человека.

Рынок геномных биотехнологий в настоящее время один из самых быстрорастущих в мире, а сам факт использования последних достижений геномики является маркером технологического развития страны. На сегодняшний день лишь немногие государства могут эффективно разрабатывать и внедрять собственные геномные технологии, поскольку сложность и стоимость исследований и разработок продолжают расти, а их применение все чаще требует междисциплинарного участия. НАН Беларуси будет активно наращивать собственный научный и технологический потенциал по этому направлению в интересах страны.

Перспективы развития китайско-белорусского сотрудничества в сфере биотехнологий

Го Тяньхао¹, Ракецкая О. А.¹, Коломиец Э. И.²

¹ООО «Биотехнологический научный центр»,
Китайско-Белорусский индустриальный парк «Великий камень», Беларусь

²ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь

Дипломатические отношения между Республикой Беларусь и Китайской Народной Республикой установились 32 года назад, и на протяжении этого времени между странами наблюдается динамический характер научно-технического сотрудничества по широкому спектру направлений, включая биотехнологии.

Взаимная готовность развивать производственную кооперацию, стимулировать создание на территории двух стран новых совместных предприятий в области биотехнологий и иных сферах была закреплена в сентябре 2022 г. принятием главами Беларуси и Китая Совместной декларации всепогодного и всестороннего стратегического партнерства, что свидетельствовало об установлении наивысшего в истории уровня отношений [1].

В марте 2023 г. в ходе государственного визита Президента Беларуси А. Г. Лукашенко в Китай главы двух стран по итогам переговоров приняли Совместное заявление об основных принципах развития упомянутого партнерства в новую эпоху. Приоритетными направлениями сотрудничества определены расширение взаимных прямых инвестиций, создание совместных высокотехнологичных инновационных производств, развитие совместного бизнеса между субъектами хозяйствования двух стран, поощрение предпринимательской инициативы [2]. Совокупный экономический эффект от белорусско-китайских договоренностей, достигнутых и формализованных в ходе данного визита, оценен более чем в 3,5 млрд долл. США [3].

Укреплению связей способствует также Программа белорусско-китайского научно-технического сотрудничества на 2023–2024 гг., разработанная Государственным комитетом по науке и технологиям Республики Беларусь и Министерством науки и технологий КНР. В перечне ее мероприятий – выполнение совместных проектов, расширение совместных исследований и разработок ученых Беларуси, Китая и других стран на базе инновационного центра коммерциализации научно-технических разработок, организация научно-образовательных лабораторий и центров в рамках инициативы «Один пояс – один путь», проведение белорусско-китайских форумов и др. В целом реализация мероприятий программы обеспечивает выработку новых форм взаимодействия в перспективных областях, включая биотехнологии.

О том, что они являются стратегическим направлением развития экономики Беларуси и Китая, свидетельствует их включение в Перечень приоритетных направлений научной, научно-технической и инновационной деятельности Республики Беларусь на 2021–2025 гг. [4] и основные направления Плана 14-й пятилетки национального экономического и социального развития Китайской Народной Республики и долгосрочных целей на период до 2035 г. [5].

Разработка новых биотехнологий, внедрение «зеленых» подходов в производственный сектор, инвестирование проектов высокотехнологической направленности входят в состав наиболее значимых векторов обоюдных интересов двух стран [6], направленных на реализацию целей устойчивого социально-экономического развития, важнейшие из которых – наращивание потенциала биотехнологического сектора экономики; внедрение инноваций в производственные процессы, организация высокотехнологичных производств; экологизация сельского хозяйства, водных объектов, производства; сохранение биологического разнообразия.

В Китае биотехнология рассматривается как одна из областей научно-технического прогресса, государственные инвестиции на исследования и разработки в ней за 2008–2020 гг. составили свыше 3,8 млрд долл. США. Ежегодно количество создаваемых биотехнологических компаний растет на 10 %. Коммерциализация исследований в данной области осуществляется Китайской технологической биржей CTECH, на площадку которой ежегодно поступают предложения из более чем 170 университетов и научно-исследовательских институтов КНР. Годовой объем торговли технологиями только на этой площадке превышает 34 млрд китайских юаней (что эквивалентно 4,4 млрд евро). По данным рейтинга CWTS Leiden, в 2020 г. Китай занял 3-е место по количеству цитируемых публикаций в сфере здравоохранения и промышленных биотехнологий. В настоящее время Китайская академия наук (CAS) занимает 1-е место в Nature Index, опережая Гарвардский университет (США) и Общество Макса Планка (Германия) [7]. Китай быстро становится мировым лидером в области геномики, исследований стволовых клеток и точной медицины. Процветанию биотехнологических компаний в Китае способствуют высокая численность населения, а также государственная поддержка.

В Беларуси научные исследования и разработки в области биотехнологий осуществляются в основном в рамках государственных программ различного уровня, заказчиками которых выступают Национальная академия наук Беларуси и Министерство здравоохранения: ГП «Наукоемкие технологии и техника» на 2021–2025 гг., ГНТП «Перспективные химические и биологические технологии», 2021–2025 гг., ГПНИ «Биотехнологии-2», 2021–2025 гг. Общий запланированный пятилетний объем государственных инвестиций на реализацию проектов составляет около 137 млн руб. По данным ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», функционирующего в системе НАН Беларуси в качестве крупного кластера в сфере био- и химических технологий и осу-

шествующего систематический мониторинг развития биотехнологической отрасли, объем производства соответствующей продукции в 2021 г. составлял 393 млн руб., в 2022 г. – 626 млн руб., а в 2023 г. – 734,1 млн руб. Наиболее весомый вклад в эти показатели вносит Белорусская национальная биотехнологическая корпорация [8].

Стратегическим объектом инициативы «Один пояс – один путь» на территории Беларуси выступает особая экономическая зона со специальным правовым режимом – Китайско-белорусский индустриальный парк «Великий Камень», созданный на территории Минской обл. Указом Президента Республики Беларусь от 05.06.2012 № 253. Для резидентов парка установлен особый порядок налогового и иного регулирования, регистрации субъектов хозяйствования, использования земель и других природных ресурсов, с применением на его территории процедуры свободной таможенной зоны [9].

К основным направлениям деятельности парка отнесены научно-исследовательские, опытно-конструкторские и опытно-технологические работы в сфере биотехнологий, создание и развитие соответствующих производств, применение искусственного интеллекта. Главные его задачи – содействие социально-экономическому развитию регионов и повышению экспортного потенциала Беларуси, создание новых рабочих мест.

На сегодняшний день в индустриальном парке зарегистрировано 9 резидентов биотехнологического профиля, деятельность которых направлена на выпуск кормовых добавок на основе гуминовых веществ и пробиотиков, биоактивных органических и органоминеральных удобрений, исследования и разработку пептидов, создание и производство лабораторных реагентов и расходных материалов для молекулярной биологии и генетики, продукции в сфере молекулярной биологии, реагентов для выполнения исследований методом ПЦР, изделий медицинского назначения для операционных блоков, компонентов для фармацевтических продуктов и др.

В 2024 г. начата реализация перспективного совместного белорусско-китайского инвестиционного стартап-проекта по разработке высокоэффективных микробных препаратов, предназначенных для восстановления биологического баланса водных экосистем и оздоровления аквакультуры в Китае и Беларуси. Запланировано привлечение инвестиций в объеме около 705 тыс. долл. США. Инициаторами проекта выступают ООО «Биотехнологический научный центр» (белорусский резидент индустриального парка с китайскими инвестициями), ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» и ООО «Китайско-белорусская (Циндао) Биоинжиниринговая компания».

В настоящее время на мировом рынке аквакультуры доминирует Китай, на долю которого приходится почти 3/4 объема производства рыбы. Среднегодовой прирост за 2017–2022 гг. составил около 4 %.

Выполнение проекта даст возможность на основе объединения научных и технических ресурсов обеих стран решить актуальные проблемы прудового

рыбоводства для обеспечения продовольственной, биологической и экологической безопасности. В частности, будет создан фундамент для совершенствования рыбохозяйственной деятельности – разработаны алгоритмы выявления микроорганизмов с целевыми биологическими свойствами для оздоровления аквакультуры, повышения естественной кормовой базы, улучшения качества комбикормов, очистки рыбоводных прудов от биогенных загрязнений. Это позволит занять лидирующие позиции в производстве и реализации экологически безопасных полифункциональных микробных препаратов нового поколения, востребованных рыбоводческой отраслью.

С целью реализации совместных проектов, научных и образовательных мероприятий, внедрения результатов научно-исследовательских работ ООО «Биотехнологический научный центр» выступило инициатором организации на базе ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» совместной белорусско-китайской биотехнологической лаборатории (открыта 02.02.2024 г.).

Для отработки технологий планируется создать экспериментальный участок с современной материально-технической базой, обеспечивающей возможность получения различных товарных форм микробных препаратов, включая сухие, имеющие длительный срок хранения и ориентированные на экспорт, в том числе в Китай. Масштабирование разработок будет производиться на ГП «Бобруйский завод биотехнологий» в Беларуси, а также на производственных предприятиях Китая.

В перспективе планируется выполнение совместных НИОКР по созданию препаратов для овощеводства на основе фагов патогенных бактерий, способных направленно уничтожать возбудителей инфекций, не затрагивая при этом полезные бактерии; биоактивных добавок в корма для домашних животных с последующим внедрением в Беларуси и Китае.

Конкурентоспособность разработанных биотехнологий для сельского хозяйства будет апробироваться Научно-исследовательским институтом пестицидов Академии наук провинции Шаньдун, а производство – осуществляться ООО «Китайско-белорусская (Циндао) Биоинжиниринговая компания».

Также одно из актуальных и востребованных направлений совместной работы – подготовка высококвалифицированных специалистов в сфере биотехнологий.

На основании приведенных данных можно заключить, что в настоящее время наблюдается стремительное развитие биотехнологий, которые затрагивают практически все сферы экономики Беларуси и Китая. Грамотная политика стран – партнеров в данной области будет способствовать дальнейшему увеличению объемов выпуска, расширению ассортимента и рынков сбыта инновационной биотехнологической продукции.

Список использованных источников

1. Совместная декларация Республики Беларусь и Китайской Народной Республики об установлении отношений всепогодного и всестороннего стратегического партнерства от 15.09.2022 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://china.mfa.gov.by/kcfinder/upload/china/files/embassy/declaration.pdf>. – Дата доступа: 20.05.2024.
2. Совместное заявление Китайской Народной Республики и Республики Беларусь о дальнейшем развитии отношений всепогодного и всестороннего стратегического партнерства между двумя странами в новую эпоху [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.mfa.gov.cn/rus/wjdt/gb/202303/t20230302_11033905.html. – Дата доступа: 21.05.2024.
3. Мокрецкий, А. Ч. О «всепогодных и всесторонних отношениях стратегического партнерства» КНР и Республики Беларусь / А. Ч. Мокрецкий // Китай в мировой и региональной политике. История и современность. – 2023. – Вып. 28. – С. 166–184.
4. О приоритетных направлениях научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы: Указ Президента Респ. Беларусь, 07 мая 2020 г., № 156 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=P32000156&p1=1&p5=0>. – Дата доступа: 25.05.2024.
5. План 14-й пятилетки национального экономического и социального развития Китайской Народной Республики и долгосрочные цели на период до 2035 года [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://cset.georgetown.edu/publication/china-14th-five-year-plan>. – Дата доступа: 25.05.2024.
6. План совместного развития Республики Беларусь и Китайской Народной Республики на основе сопряжения стратегических программ двух стран на средне- и долгосрочный периоды [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://sov.minsk.gov.by/docs/sotrudnichestvo-s-knr/plan_sovmestnogo_razvitiya.pdf. – Дата доступа: 24.05.2024.
7. Европейские страны стремительно теряют позиции на рынке биотехнологий [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gxpnews.net/2023/09/evropejskie-strany-stremitelnoteryayut-poziczii-na-rynke-biotehnologij>. – Дата доступа: 20.05.2024.
8. Производство биотехнологической продукции в Беларуси растет [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.belta.by/society/view/proizvodstvo-biotehnologicheskoy-produktsii-v-belarusi-rastet-569740-2023>. – Дата доступа: 26.05.2024.
9. О Китайско-Белорусском индустриальном парке: Указ Президента Республики Беларусь, 5 июня 2012 г., № 235 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://president.gov.by/ru/documents/ukaz-253-ot-5-ijunja-2012-g-1492>. – Дата доступа: 24.05.2024.

Технологическая платформа создания комбинированных радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП) на основе альфа- и бета-излучающих изотопов и лактоферрина

Симирский В. В.¹, Будевич А. В.²

¹УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

²РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», Минская область, Жодино, Беларусь

Новые комбинированные препараты, о которых пойдет речь в данной статье, можно с уверенностью отнести к разряду таргетных. Их особенность заключается в том, что за счет адресной доставки источника альфа- или бета-излучения в заранее заданную точку организма общее его облучение уменьшается в десятки раз, а эффективность воздействия на опухолевую зону или отдельную клеточную структуру возрастает в сотни раз. Адресная доставка позволяет в наикратчайшие сроки от момента введения препарата создать необходимую локальную терапевтическую дозу РФЛП. Она осуществляется за счет конъюгированных соединений различных радиоактивных изотопов с органическими молекулами, например моноклональными антителами, имеющими специфически чувствительные участки к искомой цели в молекулярной структуре, выполняющими функции поиска и обнаружения, а также транспортные в отношении целевого объекта.

Эта комбинация радиоизотопа и органической молекулы, имея повышенную аффинность к рецепторам видоизмененных мембран клеток, связывается с ними, а входящий в состав комбинации радиоактивный элемент, доставленный и локализованный в искомой точке за счет альфа- либо бета-распада, разрушает видоизмененную опухолевую ткань или клеточную структуру. В качестве примера альфа-излучающего изотопа можно назвать РФЛП на основе Ra²²³, при этом генерируется мощнейший поток ядер гелия, локализованный в очень ограниченном пространстве и обладающий колоссальной разрушительной силой. Это свойство альфа-излучения используется для разрушения, например, метастазирующей опухоли, локализованной в костной ткани. А к бета-излучающим изотопам можно отнести РФЛП на основе Lu¹⁷⁷, генерирующий поток электронов, у которого проникающая способность или длина пробега в человеческом организме в десятки раз выше, чем у альфа-излучения, а высвобождаемая энергия, сопровождающая радиоактивный распад, намного меньше по сравнению с ним, то есть бета-излучение представляет собой более мягкую форму воздействия на опухолевые очаги.

Препараты на основе бета-излучающих изотопов чаще всего используют для избирательного, таргетного облучения не только малых участков опухолей, но и отдельно взятого органа в целом. Например, варианты на основе Lu¹⁷⁷ используют для лечения рака предстательной железы.

Поскольку мощность излучения, сконцентрированная в небольшом объеме, весьма значительна, и особенно это относится к альфа-излучению, то продуктов искусственно сгенерированного апоптоза появляется достаточно много, и возникает острая необходимость помочь и без того ослабленному организму избавиться от остатков разрушенной ткани.

Для решения этой сопутствующей проблемы мы использовали уникальные свойства лактоферрина человека – ключевого бактерицидного белка женского молока, обеспечивающего защиту новорожденного ребенка от инфекций. Он обладает противомикробным, противовирусным, противогрибковым и другими свойствами, подтвержденными многочисленными исследованиями. Лактоферрин способен поражать антибиотикоустойчивую микрофлору без формирования генетической адаптации к нему микроорганизмов и не подавлять жизнедеятельность нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта. При совместном применении лактоферрина и антибиотиков наблюдается усиление действия последних. Кроме того, он стимулирует рост бифидобактерий, поставляя необходимые для их жизнедеятельности ионы железа, а также обладает иммуномодулирующей, антиоксидантной и противовоспалительной активностью. Установлено, что этот белок и его производные (лактоферрицины) сами по себе подавляют развитие опухолей и метастазов у экспериментальных животных.

Была решена и еще одна проблема – наличие в исходном молочном сырье составляющих глюкозы. Избавиться от ее производных было необходимо для того, чтобы придать данной биологически активной добавке (далее – БАД) свойство универсальности и пригодности для употребления людьми, не способными к усвоению глюкозы, например больными с заболеваниями поджелудочной железы, сахарным диабетом и др. Действие лактоферриновой БАД сводится к купированию интоксикаций, вызванных действием ионизирующих излучений.

Целью исследований была разработка наиболее технологичного и безотходного способа переработки молока трансгенных коз, содержащих от 1 до 4 г/л лактоферрина человека, в кисломолочный продукт – БАД, удобный для использования больными, зачастую не способными к самостоятельному приему пищи и, как правило, обремененными целым букетом сопутствующих заболеваний.

Поставленная задача решилась путем создания кисломолочного продукта на основе цельного козьего молока с повышенным содержанием лактоферрина и бактериальных заквасок различных видов: *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus paracasei*.

В результате было выпущено 6 лабораторных партий кисломолочного лактоферринового продукта с использованием 5 наименований заквасок, как индивидуальных, приготовленных на основе одного вида бактерий, так и в микст-состоянии. Подготовлены бета-излучающие РФЛП на основе Lu^{177} . Проводятся доклинические испытания комбинированных радиофармацевтических лекарственных препаратов. Разрабатываются методики расчета необходимого количества лактоферриновой БАД на одну единицу поглощенного альфа- или бета-радиоактивного излучения организмом человека. В перспективе планируется поставлять лечебным учреждениям онкологического профиля комбинированные РФЛП, содержащие радиоактивную составляющую с «транспортной» молекулой, и лактоферриновую БАД в оптимизированном соотношении РФЛП/БАД.

Создание кандидатной мРНК-вакцины против омикронного варианта SARS-CoV-2

Зинченко А. И., Казаков Р. В., Казловский И. С., Винтер М. А.,
Щеколова А. С.

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Вакцины на основе матричной рибонуклеиновой кислоты (далее – мРНК) представляют собой относительно новый класс, продемонстрировавший большие перспективы относительно иммунотерапии широкого спектра инфекционных и онкологических заболеваний. За последние годы такие вакцины против SARS-CoV-2 не только внесли огромный вклад в борьбу с этой инфекцией, но и спровоцировали бум исследований, направленных на создание подобных вариантов против самых различных патогенов и рака [1, 2].

По сравнению с обычными противовирусными и противоопухолевыми, мРНК-вакцины имеют значительные преимущества, включая эффективную выработку защитного иммунного ответа, относительно невысокий уровень побочных эффектов и более низкую стоимость разработки и производства. При этом возможность более быстрого их изготовления имеет особо важное значение для обеспечения своевременного контроля за распространением различных инфекционных заболеваний и многих типов рака.

Важно также, что мРНК-варианты не производятся с использованием живых или инактивированных патогенов, и это в значительной степени снижает риск нежелательных иммунных реакций. Кроме того, по сравнению с ДНК-вакцинами, мРНК не проникает в ядро и транслируется сразу в цитоплазме. Эта особенность позволяет избежать риска интеграции чужеродного гена в геном хозяина. Следовательно, отсутствует потенциальный риск заражения вирусными или инсерционным мутагенеза. Кроме того, мРНК *in vivo* сравнительно быстро деградирует, что снова в значительной степени гарантирует относительную безопасность этого типа вакцин. Неслучайно результаты многих ранних клинических испытаний показывают, что они вызывают надежный иммунный ответ и хорошо переносятся здоровыми людьми.

Детальное изучение механизма их действия показало, что после введения вакцина попадает в клетку посредством эндоцитоза, она экспрессирует антигены в цитоплазме. Затем эти антигены эффективно процессируются в пептиды и загружаются на молекулы МНС-I. С другой стороны, белки, экспрессируемые мРНК, также могут активировать путь МНС-II или напрямую доставлять антиген из цитоплазмы в лизосому. Следовательно, они могут одновременно стимулировать как клеточные, так и гуморальные иммунные реакции.

Важно отметить, что в методическом арсенале современных исследователей имеется простая процедура *in vitro*, при помощи которой осуществляется матрично-направленный синтез молекул РНК любой последовательности, от коротких олигорибонуклеотидов до полимеров в несколько тысяч оснований. Это не только дает возможность избежать заражения микробами или проблем качества и безопасности при культивировании клеток, но также в значительной степени повышает эффективность самого процесса, ускоряя последующую очистку, позволяя быстро создавать экономически эффективное производство.

С другой стороны, текущие достижения в области доставки различных субстанций в иммунные клетки-мишени дают возможность успешно иммобилизовать мРНК на векторные структуры, например на наночастицы, что обеспечивает быстрое поглощение и экспрессию мРНК в цитоплазме [3].

Помимо наноструктурирования, то есть иммобилизации свободной мРНК на стабильные наночастицы, дальнейшее улучшение РНК-вакцинации может быть достигнуто с применением так называемой самореплицирующейся РНК.

Целью представленного исследования явилось создание кандидатной мРНК-вакцины против омикронного варианта SARS-CoV-2.

На начальном этапе работы, используя базы данных GenBank, нами был проведен биоинформационный анализ, в результате которого определены основные регуляторные элементы, необходимые для корректной экспрессии генов в клетках эукариот: 5'-НТР, сигнальный пептид, 3'-НТР и полиТ-хвост. Объединив все эти составляющие и внедрив их в вектор рЕТ-42а(+), используя программное обеспечение «SnapGene», мы получили генетическую конструкцию (рис. 1), которая была затем химически синтезирована коммерческой фирмой «Eurofins Scientific» (Франция).

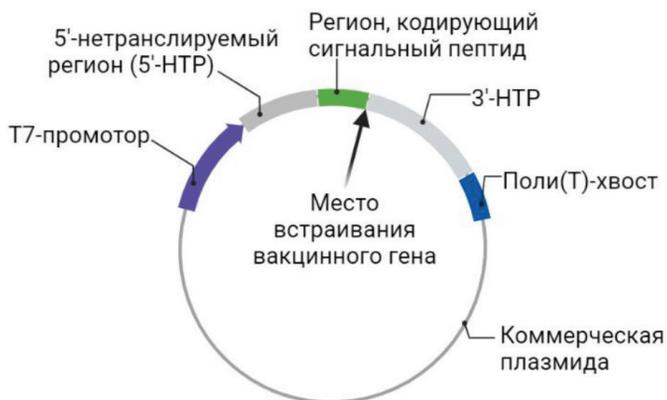


Рис. 1. Схема генетической конструкции, необходимой для получения мРНК-вакцины

Такая плазмида представляет собой универсальную генетическую конструкцию, которую можно использовать для экстренного создания мРНК-вак-

цины против любого белкового антигена [4], в том числе еще неизвестных возбудителей инфекционных заболеваний.

Далее для создания мРНК-вакцины против конкретного антигена – рецептор-связывающего домена (RBD) S-белка SARS-CoV-2 – нами были выполнены следующие процедуры (рис. 2):

с помощью генно-инженерной техники в универсальную генетическую конструкцию встроили целевой иммуноген и ею трансформировали клетки *Escherichia coli* XL1-Blue;

после культивирования бактерии из ее клеток выделили плазмиду, из которой с помощью ПЦР получили ДНК-матрицу;

применив РНК-полимеразу фага Т7, синтезировали *in vitro* РНК-прекурсор кандидатной мРНК-вакцины против омикронного варианта SARS-CoV-2, которая содержит кэп; 5'-НТР (5'-нетранслируемый участок); иммуноген; 3'-НТР (3'-нетранслируемый участок), а также поли(А)-хвост.

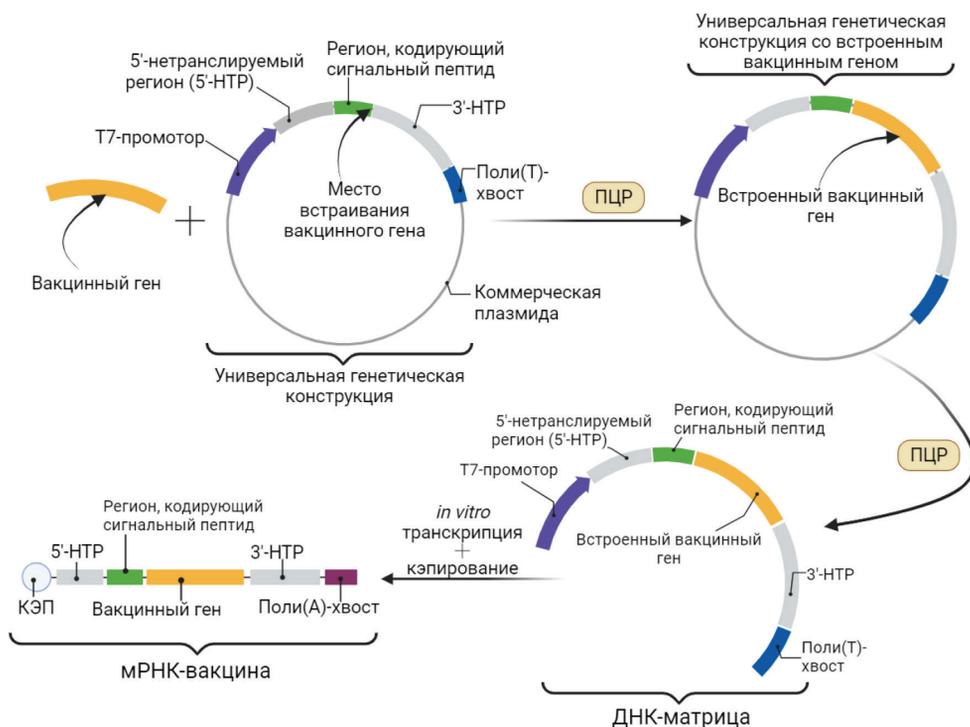


Рис. 2. Схема получения прекурсора кандидатной мРНК-вакцины против омикронного варианта SARS-CoV-2

По нашему мнению, данные результаты могут лечь в основу создания простой и относительно недорогой технологии получения РНК-прекурсоров мРНК-вакцин против самых различных антигенов белковой природы.

Известно, что к немногочисленным недостаткам мРНК-вакцин относятся нестабильность структуры и необходимость хранения при низких (от $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$) температурах [5].

С целью решения этой проблемы, а также доставки полученных молекул мРНК к иммунным клеткам-мишеням в организме человека нами впервые синтезированы наноразмерные (порядка 300 нм) комплексы этой мРНК с органическим (природный биополимер хитозан) и неорганическим (Mg, Al-слоистый двойной гидроксид) носителями. Установлено, что степень связывания мРНК с ними составляет 45–85 %. Показано также, что мРНК способна пролонгированно высвобождаться из изученных нанокомплексов в окружающую среду (натрий-фосфатный буфер, pH = 7,4).

В целом полученные результаты свидетельствуют о потенциальной возможности использования нанокомплексов мРНК с хитозаном и Mg, Al-слоистым двойным гидроксидом в качестве мРНК-вакцины против омикронного штамма SARS-CoV-2.

Список использованных источников

1. Effectiveness of the 2023–2024 Formulation of the Coronavirus Disease 2019 mRNA Vaccine / N. K. Shrestha [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2024. – Art. ciae132. Doi: 10.1093/cid/ciae132.
2. mRNA vaccine platforms to prevent bacterial infections / C. Bergstrom [et al.] // *Trends in Molecular Medicine*. – 2024. – Art. S1471-4914(24)00038-8. Doi: 10.1016/j.molmed.2024.02.013.
3. RNA combined with nanoformulation to advance therapeutic technologies / E. S. Lima [et al.] // *Pharmaceuticals*. – 2023. – Vol. 16, № 12. – Art. 1634. Doi: 10.3390/ph16121634.
4. Development of mRNA manufacturing for vaccines and therapeutics: mRNA platform requirements and development of a scalable production process to support early phase clinical trials / J. Whitley [et al.] // *Translation Research*. – 2022. – Vol. 242. – P. 38–55. Doi: 10.1016/j.trsl.2021.11.009.
5. Nanomaterials for mRNA-based therapeutics: Challenges and opportunities / D. F. Li [et al.] // *Bioengineering and Translational Medicine*. – 2023. – Vol. 8, № 3. – Art. e10492. Doi: 10.1002/btm2.10492.

Биомедицинские клеточные продукты – высокотехнологичный тренд в медицине

Гончаров А. Е., Князева Е. В.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В последние десятилетия мировой рынок биотехнологической продукции переживает значительный рост, в том числе благодаря расширению применения биотехнологий в новаторских методах лечения, таких как клеточная и генная терапия, персонализированная медицина, а также в производстве инновационных биомедицинских клеточных продуктов (далее – БМКП) и иммунологических лекарственных препаратов.

БМКП, основанные на использовании стволовых и преддифференцированных клеток из различных источников, специализированных клеток человека аутологичного и аллогенного происхождения – перспективные средства лечения и медицинской профилактики заболеваний. По прогнозам различных экспертов, объем мирового рынка клеточных продуктов будет постоянно расти и может достигнуть 25 млрд долл. США к 2032 г. Это можно объяснить значительными научными достижениями в области молекулярной и клеточной биологии, иммунологии и биотехнологии, расширением наименований используемых БМКП, а также областей медицины, в которых они задействованы. По данным FDA (U.S. Food and Drug Administration), к 2023 г. лицензированы более 30 различных методов клеточной и генной терапии, для использования одобрены более 30 соответствующих продуктов, и их число продолжает расти.

Применение клеточных технологий в практической медицине также связано с растущей распространенностью хронических заболеваний и потребностью в диагностических тестах, обладающих высокой клинической значимостью, персонифицированных методах лечения и новых препаратах для терапии и профилактики.

Сотрудниками Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси исследования в области клеточных технологий проводятся более 20 лет. Совместно с представителями учреждений Минздрава накоплен обширный положительный опыт в области разработки БМКП и их клинических испытаний, в рамках которых оценивались их переносимость, безопасность и эффективность.

Это позволило сформировать в Институте комплексный подход для успешного внедрения БМКП, который включает:

научную базу для разработки инновационных БМКП и методов лечения с их использованием. Исследования проводятся в рамках государственных программ, сопровождающих развитие биотехнологического сектора экономики;

практико-ориентированную платформу для производства, контроля качества и криохранения клеточных продуктов. В Институте функционирует участок по изготовлению востребованных в практической медицине БМКП для лечения онкозаболеваний. Он позволил не только масштабировать производство, но и снизить стоимость существующих БМКП для пациентов, а также выпускать новые, оригинальные препараты. На стадии завершения работа по созданию участка по производству и криохранению БМКП на основе клеток аллогенного происхождения (фибробласты дермы, мезенхимальные стволовые клетки), а также таких их производных, как внеклеточные везикулы;

клиническую базу, на которой внедрены и успешно используются разработанные биомедицинские продукты и методы терапии. В Институте функционирует клиническое подразделение – Отделение клеточной терапии, где на платной основе оказываются медицинские услуги для физических и юридических лиц Республики Беларусь, стран ближнего и дальнего зарубежья. Уникальные технологии производства и применения БМКП повышают эффективность существующих способов лечения и медицинской профилактики рецидивов болезни, увеличивают продолжительность жизни пациентов, снижают затраты на лечение, уменьшают сроки госпитализации, минимизируют потери от недоиспользования трудовых ресурсов. За последние несколько лет оказаны медицинские услуги, в том числе с применением БМКП, более 1300 пациентам (среди них – 127 иностранным гражданам).

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси первый в стране, в 2014 г., зарегистрировал БМКП. К концу 2023 г. в республике было зарегистрировано 16 БМКП, из них 7 разработано Институтом: тканевой эквивалент кожи человека, культура фибробластов дермы человека, клетки стволовые мезенхимальные, клетки дендритные моноцитарные, клетки мезенхимальные стволовые пулированные, клетки мезенхимальные стволовые, индуцированные к дифференцировке в остеогенном направлении, клетки эпителиальные стволовые лимба роговицы человека. Утверждено более 70 инструкций по применению методов клеточной терапии, что свидетельствует о ее востребованности и перспективности.

Институт продолжает работу по реализации комплексного «проекта будущего» (в соответствии с планом мероприятий, утвержденным заместителем Премьер-министра Республики Беларусь И. В. Петришенко), направленного на разработку и организацию производства инновационных БМКП для лечения социально значимых заболеваний. Совместно с учреждениями Минздрава были разработаны 9 инновационных БМКП на основе стволовых и специализированных клеток (рисунок), успешно завершены клинические испытания методов терапии с их использованием для лечения пациентов с онкологическими, аутоиммунными, аллергическими и дегенеративными заболеваниями.

Предложено лечение на основе:
толерогенных дендритных клеток – сахарного диабета 1-го типа;
стволовых и прогениторных клеток волосяного фолликула – аллопеции;
цитокин-индуцированных киллерных клеток – рака почки и мочевого пузыря;

стволовых клеток обонятельной выстилки с улучшенными иммуномодулирующими свойствами – аллергического ринита и хронического полипозного риносинусита;

донорских паратироцитов – послеоперационного гипопаратиреоза;

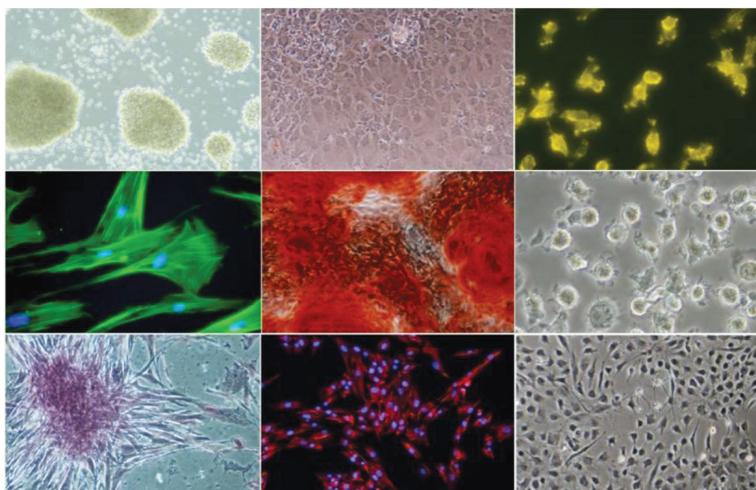
T-регуляторных клеток – системного склероза;

мезенхимальных стволовых клеток, способных к эндометриально-децидуальной дифференцировке – невынашивания беременности;

клеток пигментного эпителия сетчатки глаза – дегенеративных заболеваний сетчатки;

мезенхимальных стволовых клеток, обогащенных внеклеточными везикулами – сегментарных дефектов костной ткани.

Разработано 10 инструкций по применению, в которых изложены методы лечения заболеваний.



БМКП, разработанные в Институте биофизики и клеточной инженерии
НАН Беларуси

Биомедицинские клеточные продукты, создаваемые Институтом, нашли свое применение в онкологии, эндокринологии, ревматологии, пульмонологии, неврологии, травматологии, стоматологии, офтальмологии, оториноларингологии, урологии, хирургии. Области применения будут расширяться, поскольку подобная терапия зачастую остается единственным шансом продлить жизнь пациента и улучшить ее качество.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси планирует и в дальнейшем развивать клеточные технологии, основываясь на сотрудничестве с врачами-клиницистами, что будет способствовать разработке инновационных биомедицинских продуктов, в том числе с применением методов генетической модификации клеток человека с использованием лентивирусных и аденовирусных векторов, технологии CRISPR/Cas9 для тканевой и органной инженерии.

БМКП – экспортоориентированные конкурентоспособные продукты на международном рынке, обеспечивающие импортозамещение и экономическую независимость в сфере здравоохранения, они имеют социально-определяющий положительный эффект для здоровья населения.

Иммуноферментные тест-системы для детекции антител к вирусу гепатита Е в Республике Беларусь

Жаворонок С. В.¹, Задора И. С.^{1,2}, Давыдов В. В.¹, Симицкий В. В.²,
Щербань А. И.², Щука Н. В.², Мытько Ю. А.², Анисько Л. А.^{1,3},
Рогачева Т. А.^{1,3}, Алаторцева Г. И.⁴, Лухверчик Л. Н.⁴, Нестеренко Л. Н.⁴,
Зверев В. В.^{4,5}

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

²УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

³Городская клиническая инфекционная больница, Минск, Беларусь

⁴Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия

⁵Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Вирус гепатита Е (далее – ВГЕ) представляет значимую проблему для здравоохранения, и совершенствование его лабораторной диагностики неоспоримо важно. Распространение его штаммов эволюционирует. Генетически этот вирус неоднороден, из 8 идентифицированных генотипов первые четыре (ВГЕ 1–4) чаще всего вызывают инфекции у людей [1, 2]. Согласно данным ВОЗ, в мире ежегодно происходит 20 млн случаев инфицирования гепатитом Е, из которых 3,3 млн сопровождаются клиническими симптомами. В 2015 г. от ВГЕ умерли приблизительно 44 тыс. человек, что составляет 3,3 % совокупной смертности от вирусного гепатита [3]. По информации проведенного систематического метаанализа, 1/8 мирового населения, что соответствует более чем 900 млн человек, когда-либо сталкивалась с ВГЕ-инфекцией [4]. Могут встречаться случаи ко-инфицирования с другими вирусными гепатитами (В, С), при этом ВГЕ можно выявить только с помощью лабораторных тестов, что осложняется отсутствием эпидемиологической настороженности, так как он часто протекает в скрытой субклинической форме.

Основной лабораторный показатель инфицирования – выявление в сыворотке крови специфических антител методом иммуноферментного анализа (далее – ИФА). Из-за трудностей, связанных с культивированием ВГЕ, известные к настоящему времени диагностические тест-системы основаны главным образом на использовании рекомбинантных антигенов. Тем не менее большинство разработанных к настоящему времени тест-систем для диагностики гепатита Е методом ИФА основано на определении антител к ВГЕ 1-го и 2-го генотипов, являющихся строгими антропонозами.

Цель данной работы – разработать технологию изготовления иммуноферментных тест-систем для выявления антител IgG и IgM-классов к вирусу гепатита Е в сыворотке (плазме) крови человека.

Объектом исследований являлись рекомбинантные антигены – аналог белка ORF2 145,1 кДа, участок с 404 по 660 а. о. [5, 6] и ORF3 128,4 кДа – полноразмерный белковый продукт ORF3, С-концевой фрагмент [5, 7] ВГЕ 3-го генотипа (ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Россия). Использование полипептидов 3-го генотипа основано на эпидемиологических данных о его циркуляции на территории стран СНГ [8] и Республики Беларусь [9].

Для определения оптимума концентраций с целью создания иммуносорбентов антигены наносились на поверхности 96-луночных разборных полистирольных планшетов («Хема», Россия) в различных комбинациях, в смеси и по отдельности, по 110 мкл в каждую лунку. После инкубации под защитной пленкой в течение 16–18 ч при температуре +2...+8 °С лунки промывали 5 раз и для стабилизации иммобилизованных антигенов проводили обработку твердофазного носителя постпокрывающим раствором, включающим инертный белок, дисахарид, ингибитор протеиназ и бактериостатик, в течение 16–18 ч при температуре +2...+8 °С. После окончания инкубации раствор удаляли из всех лунок аспирацией, затем планшеты высушивали в течение 16–18 ч при температуре +20...+25 °С в ламинарном шкафу на листе фильтровальной бумаги вверх дном под углом. Сенсибилизированные планшеты помещали в фольгированную индивидуальную упаковку и хранили в холодильнике при температуре +2...+8 °С.

Биологическим материалом для лабораторного тестирования экспериментальных партий наборов ИФА для определения анти-ВГЕ IgM и анти-ВГЕ IgG являлись образцы сыворотки и плазмы крови, полученные от доноров, пациентов отделений городских клинических инфекционных больниц, лиц с хроническими вирусными гепатитами КДК, а также из других учреждений здравоохранения г. Минска (3 ГКБ, 5 ГКБ, РНПЦ ПиФ и др.).

Образцы сывороток пациентов из контрольной и основной групп исследования были протестированы на экспериментальной партии тест-системы «ИФА-набор: серия ИФА-ВГЕ-IgM-Э001» в параллели с референсной тест-системой «ДС-ИФА-АНТИ-HEV-M» (НПО «Диагностические системы», Россия). Положительными считались образцы со значениями оптической плотности, равными или превышающими ОП критическое. Отрицательными – со значениями, не превышающими его.

В пробах крови контрольной группы для качественного определения антител класса М ($N = 38$) оптическая плотность не превышала критического значения в 97,4 % случаев (37 проб). В опытной группе пациентов ($N = 7$) в 100 % случаев определена оптическая плотность, превышающая референтное значение. Результаты тестирования проб при использовании экспериментальной партии ИФА тест-систем «ИФА-набор: серия ИФА-ВГЕ-IgM-Э001» для определения антител класса М к ВГЕ сопоставимы с результатами, полученными при исследовании проб референс-набором «ДС-ИФА-АНТИ-HEV-M».

Образцы сывороток пациентов из контрольной и основной групп также были протестированы на экспериментальной партии тест-системы «ИФА-набор: серия ИФА-ВГЕ-IgG-Э001» в параллели с референсной тест-системой «ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G» (НПО «Диагностические системы»). В пробах крови контрольной группы для качественного определения антител класса G к вирусу гепатита E ($N = 40$) оптическая плотность не превышала критического значения в 100 % случаев. В опытной группе ($N = 22$) в 100 % случаев определена оптическая плотность, превышающая референтное значение. У остальных групп пациентов с установленным наличием HBsAg (16 проб), ВИЧ-инфекцией (39 проб), антител к вирусу гепатита C (58 проб), ВПГ 1-го и 2-го типов (32 пробы), ЦМВ (28 проб), а также с гемолизом (26 проб) и гиперлипидемией (10 проб) показано отсутствие перекрестной неспецифичности. Таким образом, результаты тестирования проб при использовании экспериментальной партии ИФА тест-систем «ИФА-набор: серия ИФА-ВГЕ IgG-Э001» для определения антител класса G к ВГЕ сопоставимы с результатами, полученными при исследовании проб референс-набором «ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G».

Также были проведены лабораторные испытания тест-систем с применением сыворотки крови пациента с установленным 1-м генотипом инфекции [10]. В результате были определены анти-ВГЕ IgM и IgG в высоких концентрациях, что показывает преимущества разработанных тест-систем и возможность их использования для сывороток крови людей с 1-м и 3-м генотипами вируса.

Таким образом, лабораторные испытания экспериментальных партий тест-систем ИФА для определения антител классов M и G к ВГЕ прошли успешно, с высокими показателями аналитической специфичности и чувствительности. Утверждены инструкция по применению набора реагентов для определения антител класса IgG к вирусу гепатита E в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа «ИФА-анти-ВГЕ-IgG человека», ТУ ВУ 100 185 093.094-2023, а также инструкция по применению набора реагентов для определения антител класса IgM к вирусу гепатита E в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа «ИФА-анти-ВГЕ-IgM человека», ТУ ВУ 100 185 093.093-2023.

Работа выполнялась в рамках нескольких научных проектов, в том числе международных: НИОКР научно-исследовательской части Белорусского государственного медицинского университета задания 7 «Создание тест-систем для диагностики гепатита E человека и испытание их диагностической эффективности на клиническом материале из эндемичных и неэндемичных регионов на территории Республики Беларусь» (срок выполнения 04.12.2015–31.12.2020 г., госрегистрация № 20 160 008 от 18.01.2016 г.) Межгосударственной программы инновационного сотрудничества государств – участников СНГ на период до 2020 г. «Создание тест-систем для серологической диагностики гепатита E и испытание их диагностической эффективности на клиническом материале из эндемичных и неэндемичных регионов», а также НИОКР «Разра-

ботать медико-технические требования к иммуноферментным тест-системам для определения антител классов IgG и IgM к вирусу гепатита E у человека. Создать контрольные панели сывороток крови человека, содержащих антитела к вирусу гепатита E», выполняемой в рамках мероприятия 13 «Разработать технологию промышленного изготовления тест-систем для выявления антител IgG и IgM-классов к вирусу гепатита E у человека и животных с использованием иммуноферментного метода анализа и организовать их производство» подпрограммы 5 «Химические продукты и молекулярные технологии» ГП «Научеёмкие технологии и техника» на 2021–2025 гг.

Список использованных источников

1. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005 / D. B. Rein [et al.] // *Hepatology*. – 2012. – Vol. 55 (4). – P. 988–97. Doi: 10.1002/hep.25505. PMID: 22121109.
2. Codon Usage of Hepatitis E Viruses: A Comprehensive Analysis / B. Li [et al.] // *Front Microbiol.* – 2022. – Vol.13:938651. Doi: 10.3389/fmicb.2022.938651.
3. Hepatitis E: fact sheet [Electronic resource] / World Health Organization, 2023. – Mode of access: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/en/>. – Date of access: 20.10.2023.
4. The global epidemiology of hepatitis E virus infection: a systematic review and meta-analysis / P. Li [et al.] // *Liver Int.* – 2020. – Vol. 40 (7). – P. 1516–1528.
5. Рекомбинантный белок, содержащий антигенно-значимые фрагменты белков вируса гепатита E, используемый в тест-системах для серодиагностики гепатита E (варианты) : пат. RU 2711907 C2 / Г. И. Алаторцева, А. В. Сидоров, Л. Н. Нестеренко [и др.]. – Оpubл. 23.01.2020.
6. Разработка рекомбинантного белка капсида вируса гепатита E третьего генотипа: клонирование, экспрессия, очистка, оценка антигенных свойств / Г. И. Алаторцева [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2019. – 96(1). – С. 10–17. Doi: 10.36233/0372-9311-2019-1-10-17.
7. Получение рекомбинантного белка ORF3 вируса гепатита E 3 генотипа и оценка его антигенных свойств / Г. И. Алаторцева [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2018. – 95(5). – С. 46–53. Doi: 10.36233/0372-9311-2018-5-46-53.
8. Оценка серопревалентности вируса гепатита E 1 и 3 генотипов в регионах с разной эндемичностью методом линейного иммуноанализа / Г. И. Алаторцева [и др.] // *Гепатология и гастроэнтерология*. – 2022. – № 2. – С. 142.
9. Интенсивность эпидемического и эпизоотического процессов инфекции, вызванной вирусом гепатита E, на территории Республики Беларусь / С. В. Жаворонок [и др.] // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. – 2019. – Т. 8, № 1. – С. 11–22. Doi: 10.24411/2305-3496-2019-11001.
10. Молекулярно-эпидемиологическое исследование случаев острого гепатита E в Беларуси / В. В. Давыдов [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2022. – № 6. – С. 625–636.

Регуляция микробиома почвы и растений как основа совершенствования фитозащитных мероприятий

Мандрик-Литвинкович М. Н., Коломиец Э. И.

ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь

Интенсивное использование пестицидов и агрохимикатов приводит к снижению плодородия почв и дестабилизации фитосанитарного состояния сельскохозяйственных угодий, при этом изменяется структура и нарушается равновесие в сообществах патогенных и полезных микроорганизмов, в результате чего количество вредоносных видов достигает экономически опасного уровня [1]. Так, к настоящему времени мировые площади деградированных и кондуктивных (благоприятных для развития фитопатогенов) почв превысили 1,2 млрд га, а прямые убытки от почвоутомления, фитотоксичности почвы и вредоносности почвенных фитопатогенов составляют около 25 % потерь мирового урожая [2].

В Республике Беларусь значительная часть земель также находится в неудовлетворительном состоянии, а 30 % сельскохозяйственных угодий требует охраны, улучшения состояния и повышения биологической активности [3]. Согласно Указу Президента от 9 ноября 2010 г. № 575 «Об утверждении Концепции национальной безопасности Республики Беларусь» деградация земель, лесов и природных комплексов, а также радиоактивное, химическое и биологическое загрязнение почв, земель признаны одними из основных угроз национальной безопасности [4]. Актуальность вопросов деградации земель отмечена и в Национальной стратегии устойчивого социально-экономического развития Республики Беларусь на период до 2030 г., одобренной Президиумом Совета Министров Республики Беларусь 10 февраля 2015 г.

Учитывая важность всестороннего изучения вышеизложенных проблем и поиска механизмов их регулирования, в 2023 г. в ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» по согласованию с Национальной академией наук Беларуси и Министерством сельского хозяйства и продовольствия создана отраслевая лаборатория молекулярной диагностики и регуляции почвенных и водных микробоценозов. Одно из направлений ее деятельности – диагностика и восстановление нарушенных микробоценозов почв городского и сельскохозяйственного назначения с целью сохранения ландшафтов и повышения продуктивности сельскохозяйственных культур. Планом научно-исследовательских работ на 2023–2025 гг., выполняемых отраслевой лабораторией, предусмотрена реализация ряда проектов государственных программ различного уровня, а также договоров с организациями Беларуси (ООО «ПрофитГарден», ООО «Знакомый вкус», ЗАО «Агрокомбинат Несвижский», РУАП «Гроднен-

ская овощная фабрика», РУП «Опытная научная станция по сахарной свекле», филиалом «Тепличный» Витебскэнерго, УП «АзотСервис», ОАО «Тепличный комбинат Берестье», ООО «Белпродукт», ЧП «ЧервеньАГРО», ООО «Мосты ЭкоПродукт», КФХ «Ягодное лукошко» и др.), России («АгроМентор») и КНР («Шандунь Билан Биотехнолоджи Компании Лимитед», ООО «Экологические технологии Циндао Руисде»), совместная деятельность с которыми согласована на срок не менее 3 лет.

В результате проведенных исследований показано, что для разработки экологически безопасных и экономически рациональных стратегий защитных мероприятий необходимо проведение эффективной системы мониторинга возбудителей заболеваний сельскохозяйственных культур. В этой связи интерес вызывает видоспецифическая ПЦР-диагностика, при помощи которой возможно в кратчайшие сроки на ранних стадиях развития болезни провести точную детекцию и идентификацию фитопатогенов [5]. Так, экспериментальным путем установлено, что при незначительных внешних проявлениях поражения ПЦР-анализ позволил выявить в образцах огурца возбудителей угловатой бактериальной пятнистости листьев, серой гнили, сухой и бурой оливковой пятнистости и фузариозного увядания; в образцах томата – бактериальной пятнистости и бурой пятнистости листьев; в образцах пекинской капусты – слизистого бактериоза, альтернариоза, кладоспориоза и фузариоза. Своевременное обнаружение фитопатогенных микроорганизмов дало возможность подобрать эффективное средство защиты, обеспечивающее снижение их распространения и сохранение полученного урожая.

Оптимизация получения сельскохозяйственной продукции и сохранение почвенного плодородия во многом зависит от направленного регулирования почвенного микробиома. В этой связи актуальна разработка системы мониторинга состава микробиоценоза плодородных и деградированных почв. Так, нами в рамках научных и хозяйственных договоров проанализировано более 50 образцов почв, установлена связь между способами их обработки, показана разница между микробиоценозами до и после внесения микробных препаратов. Проводятся работы по выявлению доминантных индикаторных штаммов, что позволит более эффективно осуществлять мероприятия по восстановлению агробиоценозов и повышению урожайности выращиваемых сельскохозяйственных культур.

Получены положительные результаты по восстановлению почвенного микробиома с использованием комплексных микробных препаратов при выращивании зерновых, зернобобовых, плодовых и овощных культур в Беларуси и Китае.

Неизменное выращивание овощей в грунтовых теплицах приводит к упрощению состава микробиоценоза почвы и накоплению специфических фитопатогенов. Оздоровить почву или снизить развитие заболеваний растений в таких условиях возможно путем внесения полезных микроорганизмов, которые

могут регулировать численность возбудителей заболеваний, а также создавать положительный баланс между полезными и патогенными микроорганизмами. К примеру, применение комплексного микробного препарата INMI-Phitostim при выращивании томата на фоне ограниченного использования химических пестицидов и сниженного на 30 % количества минеральных удобрений способствует созданию благоприятных условий для формирования сбалансированного состава микробного ценоза (более чем в два раза увеличилось количество актиномицетов, целлюлолитических, аммонийокисляющих и денитрифицирующих бактерий), обеспечивающего активную биотрансформацию органического вещества почвы, и, как следствие, высокую биологическую активность почвы и повышение урожая томата на 21,1–45,2 % по сравнению с контрольным вариантом. При этом средняя масса плодов томата в опытном варианте превышает на 15,3 % контрольный показатель, улучшаются их качественные характеристики – в частности, содержание витамина С и ликопина возрастает на 45,1 % и 29,7 % соответственно.

Изменение микробоценоза почвы наблюдается при высокой концентрации зерновых в севооборотах (более 50 %), что приводит к накоплению возбудителей фузариозной, офиооблезной, гельминтоспориозной и ризоктониозной корневых гнилей. В таких условиях достаточно остро встает проблема сохранения почвенного плодородия, так как ежегодные потери гумуса под зерновыми в зависимости от гранулометрического состава почвы и урожайности достигают 0,7–1,2 т/га. Для решения данной проблемы на основе высокоактивных штаммов бактерий рода *Bacillus* с антимикробной, азотфиксирующей, фосфатмобилизующей, целлюлолитической и ростстимулирующей активностями создан препарат микробный «Биопродуктин». Его внесение осенью, перед заделкой растительных остатков в почву, и по вегетации весной позволяет получить достоверную прибавку урожайности зерна на 4,2–6,1 ц/га, при этом наблюдается увеличение содержания клейковины в зерне тритикале с 17,3 % до 20,4 % и количества продуктивных стеблей на 19 шт/м². Его биологическая эффективность против снежной плесени составляет 10–15 %, корневых гнилей – 26–56 %, мучнистой росы – 40–50 %. Применение препарата приводит к увеличению в почве численности аммонифицирующих микроорганизмов на 11,0–13,0 %, азотфиксирующих – на 11,9–17,8 %, фосфатмобилизующих – на 11,0–14,8 % и целлюлолитических – на 11,8–26,1 %. Использование «Биопродуктина» для обработки мульчированных приствольных полос карликового сада интенсивного типа позволяет восстановить состав почвенного микробиома и повысить урожайность на 24,5–45,3 ц/га.

Кроме того, изменение микробоценоза почвы наблюдается при активном применении в сельском хозяйстве гербицидов, что также требует своевременной корректировки. Нами показано, что внесение микробного препарата «Агроревитол» снижает на 7,0–27,2 % остаточные количества гербицидов группы сульфонилмочевины и имидазолинонов в почве, повышает на 35–45 %

всхожесть семян в условиях гербицидного стресса, увеличивает в 2,2–2,4 раза количество амилолитических, азотфиксирующих и фосфатмобилизующих микроорганизмов в почве. Прибавка урожая зерновых и зернобобовых культур достигает 2,7–7,4 ц/га.

С целью снижения засоренности газонных трав одуванчиком в республике активно применяется гербицид «Магнум» (9,0 г/га). Использование микробного препарата «ИНМИ-Биостим» (4,0 л/га) в баковой смеси со сниженной вдвое концентрацией гербицида (4,0 г/га) позволяет эффективно подавить развитие одуванчика, контролировать численность фитопатогенного гриба *Fusarium* sp., повысить ростовые и декоративные характеристики газонных трав (площадь листовой поверхности растений увеличивается на 7,1 %, содержание хлорофилла – на 8,0 %, накопление биомассы – на 12,5 %).

Повышение численности микроорганизмов функционально значимых групп почвы и снижение количества почвенных фитопатогенов положительно сказывается на всхожести семян и развитии растений, в то же время важным является поддержание необходимого значения полезных микроорганизмов, обеспечивающих защиту растений в процессе всего периода вегетации. С этой целью нами разработан ряд биопрепаратов для защиты зеленых насаждений, овощных, зерновых и плодово-ягодных культур («Бетапротектин», «Бактосол», «Вегетатин», «Экогрин», «Мультифаг», «Мультифаг-С», «Фрутин», «Экосад», «Бактавен», «Бактавен-С»), обеспечивающих снижение инфекционного фона и повышение стрессоустойчивости растений к абиотическим и биотическим факторам. Средняя эффективность применения биопрепаратов составляет: на зерновых культурах – 40–59 %; плодово-ягодных – 46–78 %; овощных – 49–80 %. Прирост урожайности сельскохозяйственных культур увеличивается на 2–7 ц/га, улучшаются качественные характеристики готовой продукции. Особое внимание хотелось бы уделить биопрепаратам «Экосад», «EcoReach» и «ХелсБеррин», способным снижать в 2–10 раз численность фитопатогенных грибов на плодах яблони, персика и голубики и тем самым увеличивать срок хранения экологически чистой плодово-ягодной продукции.

Таким образом, быстрая диагностика и грамотная регуляция микробиома почвы и растений может быть использована при разработке новых устойчивых систем возделывания сельскохозяйственных культур с целью минимизации пестицидной нагрузки, поддержания почвенного плодородия и функционирования агробиоценозов в целом.

Список использованных источников

1. Коваленков, В. Г. Антропогенные факторы и фитосанитарная дестабилизация // В. Г. Коваленков // Защита и карантин растений. – 2015. – № 9 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/antropogennye-factory-i-fitosanitarnaya-destabilizatsiya>. – Дата доступа: 29.05.2024.

2. Семенов, А. М. Здоровье почвенной экосистемы: от фундаментальной постановки к практическим решениям / А. М. Семенов, А. П. Глинушкин, М. С. Соколов // Известия ТСХА. 2019. № 1 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/zdorovie-rochvennoy-ekosistemy-ot-fundamentalnoy-postanovki-k-prakticheskim-resheniyam> – Дата доступа: 29.05.2024.

3. Смыкович, Л. И. Кадастр и мониторинг земель : краткий курс лекций. В 2 ч. Ч. 2. Мониторинг земель / Л. И. Смыкович. – Минск : БГУ, 2023 – 47 с.

4. Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2010 г., № 276, 1/12 080

5. ПЦР-диагностика грибов – возбудителей болезней огурца и томата / А. А. Барейко [и др.] // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. науч. тр. / НАН Беларуси, Ин-т микробиологии ; редкол.: Э. И. Коломиец (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2019. – Т. 11. – С. 200–215.

Влияние препарата «Полибакт» на микробиологический состав почвы при использовании его в технологии возделывания ячменя

Зиганьшин А. А.¹, Щукин В. Б.²

¹ООО «Агро Партнеры»,
Краснодар, Россия

²Оренбургский государственный аграрный университет, Оренбург, Россия

В течение 2021–2023 гг. в ООО «Важское» Вельского р-на Архангельской обл. были проведены полевые опыты по применению препарата «Полибакт» в технологии возделывания ячменя и оценка его влияния на микробоценоз почвы. Микробный препарат вносили в почву с помощью форсунок, установленных на рыхлителе, на глубину 5–15 см. Ежегодно весной (20–25 мая) и осенью (10–15 сентября) отбирали пробы почв на закрепленных точках и определяли наличие фитопатогенных микромицетов и основных эколого-трофических групп микроорганизмов с применением ПЦР и микробиологического анализа.

Был проведен ПЦР-анализ с использованием видоспецифичных праймеров к фитопатогенным грибам *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. (включая *Fusarium oxysporum*), *Cladosporium cladosporioides*, *Botrytis cinerea* и *Sclerotinia sclerotiorum*. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты ПЦР-диагностики почвенных образцов при возделывании ячменя с использованием препарата «Полибакт»

Опыт	Фитопатогенные грибы	
	Выявлено	Не выявлено
Поле «нулевая технология» – под ячмень (2022)	<i>Fusarium</i> sp. (исключая <i>Fusarium oxysporum</i>), <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Alternaria</i> sp.	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>
Поле – ячмень (2023)	<i>Cladosporium cladosporioides</i> в незначительных количествах	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Alternaria</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., включая <i>Fusarium oxysporum</i>

Согласно полученным данным установлено, что в 2023 г. применение препарата «Полибакт» способствовало улучшению фитосанитарного состояния почвы. Ее анализ после уборки ячменя показал, что ранее обнаруживаемые микроорганизмы, относящиеся к родам *Alternaria* sp. и *Fusarium* sp., вызывающие ряд заболеваний, таких как альтернариоз и фузариоз ячменя, не были

выявлены. Лишь в незначительных количествах обнаружен фитопатогенный микромицет *Cladosporium cladosporioides*.

Для оценки влияния применяемой технологии возделывания ячменя на микробоценоз почвы было определено количество микроорганизмов основных эколого-трофических групп. Так, численность аммонификаторов за годы исследований варьировала от $8,6 \cdot 10^6$ до $1,7 \cdot 10^7$ КОЕ/г а. с. п., олигонитрофилов – $1,5 \cdot 10^7$ – $1,8 \cdot 10^7$ КОЕ/г а. с. п., фосфатмобилизаторов – $9,3 \cdot 10^6$ – $1,6 \cdot 10^7$ КОЕ/г а. с. п., целлюлозоразрушающих микроорганизмов – $2,9 \cdot 10^5$ – $9,4 \cdot 10^6$ КОЕ/г а. с. п., потребляющих минеральный азот – $8,0 \cdot 10^5$ – $6,8 \cdot 10^6$ КОЕ/г а. с. п., микромицетов – $1,1 \cdot 10^4$ – $5,3 \cdot 10^4$ КОЕ/г а. с. п. (табл. 2).

Таблица 2. Содержание групп микроорганизмов в почве

Анализируемая группа микроорганизмов	Количество микроорганизмов, КОЕ/г абсолютно сухой почвы	
	Поле «нулевая технология» под ячмень (2022)	Поле – ячмень (2023)
Спорообразующие	$5,6 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^6$
Аммонификаторы	$1,7 \cdot 10^7$	$8,6 \cdot 10^6$
Олигонитрофилы, в том числе азотфиксаторы	$1,5 \cdot 10^7$	$1,8 \cdot 10^7$
Фосфатмобилизаторы	$1,6 \cdot 10^7$	$9,3 \cdot 10^6$
Целлюлолитики	$2,9 \cdot 10^5$	$9,4 \cdot 10^6$
Микроорганизмы, потребляющие минеральный азот	$6,8 \cdot 10^6$	$8,0 \cdot 10^5$ (в том числе актиномицеты)
Актиномицеты	$1,8 \cdot 10^6$	–
Микромицеты	$5,3 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$
Нитрификаторы	$1,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^3$

То, что численность аммонификаторов превышала количество микроорганизмов, потребляющих минеральный азот, может свидетельствовать о преобладании процессов минерализации азотсодержащего органического вещества в почве. По шкале, предложенной Д. Г. Звягинцевым (1978), была проведена оценка степени обогащенности почвы данного поля микроорганизмами (табл. 3).

Таблица 3. Шкала для оценки степени обогащенности почв микроорганизмами

Степень обогащенности почв	Количество микроорганизмов на среде			
	МПА		Эшби, Чапека, КАА	
	млн/г	млн/см ²	млн/г	млн/см ²
Очень бедная	Менее 1	Менее 25	Менее 2	Менее 50
Бедная	1–2	25–50	2–4	50–100
Средняя обогащенность	2–5	50–125	4–10	100–250
Богатая	5–10	125–250	10–20	250–500
Очень богатая	Более 10	Более 250	Более 20	Более 500

В соответствии со шкалой по степени обогащенности аммонификаторами (среда МПА), азотфиксаторами (среда Эшби) и олигонитрофилами она относится к богатой; микроорганизмами, потребляющими минеральный азот (среды КАА) – к средней; микромицетами (среда Чапека) – очень бедной.

Таким образом, на основании проведенных исследований отмечена целесообразность использования микробного препарата «Полибакт» для улучшения фитосанитарного состояния почвы и повышения численности отдельных эколого-трофических групп.

Роль энтомофагов при защите сельскохозяйственных культур

Габдрахманова А. В.

Филиал ФГБУ «Россельхозцентр», Республика Татарстан

Ассортимент пестицидов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, очень широк. В 2023 г. в РФ было использовано 63,56 тыс. т этих препаратов, из них 62,59 тыс. т, или 98,47 % от общего объема, – химические средства защиты растений [1]. Биологические варианты составляют незначительную часть. В то же время известно, что бессистемное внесение пестицидов нарушает экологическое равновесие в агросистемах и во многих случаях приводит к появлению более агрессивных и вирулентных рас патогенов, а также к развитию резистентности у вредителей и сорняков [2], а увлечение химическими инсектицидами вызвало массовую гибель пчел во многих регионах России.

Одно из решений данных проблем – разработка и внедрение биологических средств защиты растений, которые, согласно определению Международной организации по биологическому контролю, предполагают применение живых организмов, продуктов их жизнедеятельности или их аналогов для предотвращения или снижения ущерба и потерь, наносимых растениям вредными организмами. К агентам биологической защиты растений относятся хищники, паразиты и энтомопатогены против вредителей; антагонистические микроорганизмы, их метаболиты и индукторы устойчивости против болезней; растительоядные животные и фитопатогенные микроорганизмы против сорных растений [3].

Энтомофаги в природе выступают регулятором численности других насекомых, их использование для защиты сельскохозяйственных культур в открытом грунте – экологически безопасный способ контроля вредителей. Трихограмма *Trichogramma* – наиболее действенный энтомофаг, взятый на вооружение во всем мире. Биологическая эффективность паразита-яйцеда достигает 90 % при своевременном выпуске. Против гусениц чешуекрылых выступает их паразит – габробракон *Habrobracon*. Комплексное действие этих двух энтомофагов дает возможность бороться против таких вредителей, как капустная моль *Plutella maculipennis* Curt, белянка *Pieridae*, хлопковая совка *Helicoverpa armigera* и т. д. без химических инсектицидов. Против тли *Aphidoidea* задействуется златоглазка *Chrysopidae*, у которой хищниками являются личинки.

ООО «Семена» Самарской обл. с 2019 г. работает по системе природного земледелия, в том числе применяя энтомофаги, произведенные в филиале ФГБУ «Россельхозцентр» (Республика Татарстан) и другими организациями.

Рассмотрим комплексные методы защиты сельскохозяйственных культур, внедренные в данном хозяйстве.

Для защиты горчицы при начале массового лета крестоцветной моли (наличие в феромонных ловушках 10 шт. и более) и других чешуекрылых вредителей крестоцветных проводится внедрение биоагента яйцеда трихограммы в пупариях *Trichogramma principium*, *T. evanescens* (в зависимости от температуры окружающей среды) в норме 2–4 г/га (160 000–320 000 особей/га). Второе внедрение трихограммы осуществляется через 4–7 дней (в зависимости от температурного режима) после первого, в норме 2–6 г/га (160 000–480 000 особей/га), рассчитываемой от количества вредителя. Процедура проводится сплошным способом с помощью малой авиации или беспилотными летательными аппаратами. Двух внедрений достаточно для начала цикла развития насекомого, но при сильном увеличении популяции вредителей может понадобиться и третье.

По гусеницам крестоцветной моли и других чешуекрылых вредителей крестоцветных 2–4-го возраста применяется биоагент – наездник габробракон *Habrobracon hebetor* имаго через 7–10 дней после первого внедрения трихограммы, в норме 300 особей/га (для начального сдерживания), последующие процедуры проводятся с интервалом 7–10 дней после первой в норме 300–500 особей/га, 2 или 3 раза в зависимости от количества вредителя. При высоком заселении посевов горчицы гусеницами чешуекрылых количество габробракона *Habrobracon hebetor* увеличивают до 1500 особей/га. Его внедрение осуществляется максимально быстро с момента получения насекомых. объезжая периметр поля, делается остановка в рассчитанных точках (в зависимости от площади поля) и выпускаются насекомые в необходимом количестве. Ширина поля не должна превышать 500 м [2].

По гороху против тли, трипса, при появлении тлей-расселительниц внедряются готовые к откладке яиц имаго златоглазки *Chrysopa carnea* в норме 250–400 особей/га. Их вносят, делая проход по середине поля (не более 300 м до края), выставив контейнеры через 300 м, организовав поилки и кормушки для насекомых [2]. Также против гороховой плодожорки применяется полезное насекомое трихограмма *Trichogramma* из расчета 3–4 г/га (240 000–320 000 особей/га).

При использовании биологических средств защиты на всех полях данного хозяйства возросло количество природных энтомофагов, что сокращает число обработок энтомопатогенными препаратами и на тех культурах, где не применяются энтомофаги. По данной методике (система природного земледелия) разработан патент № 2807997 (дата регистрации 21.11.2023 г.) [2]. Введенная в практику в ООО «Семена», методика дает получение стабильного урожая без потери качества зерна (табл. 1, 2).

Таблица 1. Качество зерна мягкой пшеницы в 2022 г.

Наименование показателей	Ед. изм	Фактические значения						
		513/22	512/22	517/22	515/22	516/22	514/22	518/22
Протокол								
Массовая доля белка в пересчете на сухое вещество	%	13,5	13,4	13,2	13,8	13,9	13,1	14,1
Количество клейковины	%	25,6	25,9	24,8	27,1	27,2	25,6	27,8
Качество клейковины	Ед. ИДК	78	78	79	78	81	79	79
Число падения	с.	93	253	149	276	305	181	89
Стекловидность	%	50	48	50	48	47	50	50
Натура	г/л	798	795	802	786	789	791	807
Влажность	%	11,6	10,5	11,4	11,5	11,9	11,3	11,8

Таблица 2. Качество зерна мягкой пшеницы в 2023 г.

Наименование показателей	Ед. Изм	Фактические значения								
		585/23	589/23	590/23	593/23	587/23	591/23	592/23	588/23	586/23
Протокол										
Массовая доля белка в пересчете на сухое вещество	%	10,2	14,5	14,3	14,2	13,5	13,7	13,4	12,9	12,0
Количество клейковины	%	20,1	29,5	29,5	29,2	27,6	27,4	27,0	25,8	24,8
Качество клейковины	Ед. ИДК	87	84	83	81	76	81	77	76	82
Число падения	с.	158	178	251	162	189	239	182	236	189
Стекловидность	%	42	50	50	50	50	50	50	50	47
Натура	г/л	761	831	826	813	822	833	804	824	782
Влажность	%	12	10,6	10,6	10,4	12,5	10,9	12,6	11,6	12,8

Используя энтомофаги против вредителей-хозяев, можно защищать определенные сельскохозяйственные культуры без применения химических инсектицидов, тем самым улучшая экологическое состояние, а также сохраняя флору и фауну. Однако нужно помнить, что при выпуске энтомофагов необходимо учитывать экономический порог вредоносности вредителя и не упустить первый выпуск биоагентов, так как несвоевременная процедура снижает эффективность метода.

Список использованных источников

1. Говоров, Д. Н. Применение пестицидов. Год 2023-й / Д. Н. Говоров, А. В. Живых, А. А. Шабельникова // Защита растений и карантин. – 2024. – № 4. – С. 9–10.
2. Способ возделывания сельскохозяйственных культур : пат. RU 2807997 / В. Г. Фокин, Д. Н. Кандыба, Т. А. Кандыба, Г. Н. Дорохов. – Оpubл. 21.11.2023.
3. Штерншис, М. В. Биологическая защита растений: учебник для ВО / М. В. Штерншис, И. В. Андреева, О. Г. Томилова. – 4-е изд., стер. – СПб : Лань, 2020. – 332 с.

Биотехнологические подходы к переработке бытовых отходов мегаполисов

Архипченко И. А., Орлова О. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

Одно из перспективных направлений переработки твердых коммунальных отходов (далее – ТКО) – биоферментация органической фракции с получением компостов [1], которая дает возможность сократить объем ТКО, сделав это, в отличие от сжигания, экологически безопасным способом, не связанным со значительными выбросами в окружающую среду. В компостах из муниципальных отходов содержатся все элементы, необходимые для роста и развития растений, полезная микробиота и вещества, повышающие плодородие почвы. Тем не менее данные субстраты не обладают высокими потребительскими свойствами, поэтому требуются как предварительная сортировка ТКО, так и введение активных микробных сообществ [1, 2]. Переработка органических отходов, в том числе и муниципальных, путем компостирования становится основным способом в Европе.

Нами проведены эксперименты по получению из органической части ТКО почвогрунтов, пригодных для использования в городском хозяйстве, на Санкт-Петербургском опытно-экспериментальном заводе по механизированной переработке бытовых отходов (пос. Янино).

К технологии переработки ТКО в биобарабанах добавили этапы дробления, дозревания и смешивания. На дробление поступала масса, прошедшая стадию компостирования и грохочения, одновременно в камеру подавалась ферментирующая добавка, способствующая наращиванию биомассы – микробная ассоциация «Омуг», выращенная на помете [3].

Компост, получаемый биокомпостированием ТКО в биобарабанах, имеет ограниченный рынок сбыта: в основном он используется как инертный слой при складировании ТКО на полигонах. Одна из причин – нетоварный вид. Свежий субстрат представляет собой рыхлую сыпучую массу серого цвета плотностью 0,5 г/м³ со специфическим запахом. Его свойства можно изменить, используя ферментирующую добавку «Омуг». После введения добавки содержание органического вещества увеличилось с 32,2 до 44,2 %, возросло валовое содержание азота, фосфора и калия, уменьшилось соотношение C/N (табл. 1). Значение pH практически не изменилось. Такой компост при наличии незначительного количества тяжелых металлов можно использовать в качестве органоминерального удобрения.

Раздробленный материал поступал на площадку для дозревания в течение 1–1,5 мес. Затем он подавался в смеситель горизонтального типа, где смешивался

вался с торфом и минеральными добавками, обеспечивающими сбалансированное соотношение концентраций азота, фосфора и калия. Были приготовлены опытные партии почвогрунтов, получивших название «Малахит», для использования в озеленении города (для цветов и газонов) и в лесном хозяйстве (для хвойных пород) (табл. 2).

Таблица 1. Свойства компостов из ТКО (по абсолютно сухому веществу)

Параметр	Без добавки	С добавкой «Омуг»
Влажность, %	26,8	38,0
pH _{KCl}	6,78	6,86
Зольность, %	67,8	55,8
Содержание подвижных форм, мг/100г		
N-NH ₄	4,4	51,6
P _{подв.}	23,7	30,5
Содержание элемента, %		
C _{общ.}	16,1	22,1
N _{общ.}	0,7	1,2
P _{общ.}	0,34	0,51
K _{общ.}	0,45	0,68
C/N	23,0	18,4

Таблица 2. Свойства почвогрунтов на основе компоста из ТКО (при естественной влажности компоста)

Параметр	Для хвойных пород	Для цветочных культур и газонов
pH _{KCl}	4,9	7,0
Содержание органического вещества, %	69,4	52,1
Содержание N _{общ.} , %	1,15	1,22
C/N	28,0	20,0
Содержание подвижных форм, мг/100 г		
N-NH ₄	66,4	144,25
P _{подв.}	76,5	77,6
K _{подв.}	34,1	63,6

Для проверки фитотоксичности на этих грунтах посеяли семена пекинской капусты. Компост из ТКО без добавок, несмотря на период дозревания, имел неблагоприятные для прорастания семян свойства: они не взошли. На грунтах с добавкой «Омуг», независимо от их рецептуры, фитотоксического эффекта не наблюдалось. Кроме того, численность микроорганизмов в них оказалась в 10 раз выше, чем в исходном варианте компоста, и разнообразие их больше: 5–6 типов вместо 2–3. Таким образом, после введения ферментирующей добавки в исходный муниципальный компост степень его разложения повышается, что расширяет спектр практического использования, общее микробное число

повышается в 2,7 раза, а количество грибов снижается в 18 раз, что позволяет подтвердить зрелость и более высокую ценность полученного продукта. В результате додрабливания массы, смешивания ее с торфом и минеральными удобрениями улучшается потребительский вид почвогрунтов и их физические свойства, обеспечивается сбалансированное содержание питательных элементов и снижается концентрация тяжелых металлов.

Нами показано, что грунт «Малахит» можно применять для подкормки партерного газона и подавления развития мохового покрова в дозе 50 т/га. Он эффективно стимулирует рост травостоя, обеспечивает интенсивный зеленый цвет газона и в осенний период подавляет рост мха.

Наиболее целесообразно использование почвогрунтов из органической фракции ТК0 для выращивания посадочного материала древесно-кустарниковых и хвойных культур с закрытой корневой системой. Потребность в таком субстрате в теплицах в Ленинградской области составляет примерно 75 т/год. Производство постоянно растет.

Большой проблемой при выращивании сеянцев хвойных пород в теплицах является полегание. Это заболевание, вызываемое комплексом несовершенных грибов (*Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Rhizoctonia* spp. и др.), поражает гипокотиль всходов, наносит значительный ущерб посевам. При проведении микологического анализа пораженных сеянцев в нашем опыте в 92 % случаев было обнаружено плодоношение грибов р. *Fusarium*. При посеве ели на «Малахите» полегание практически отсутствовало: 0,8–3,6 % против 15,6–19,1 % в контроле. Эти показатели свидетельствуют, что при использовании предлагаемого грунта обработка семян протравителями не требуется.

В посевах сосны на «Малахите» также наблюдалось значительное снижение полегания. Гибель растений колебалась в пределах 11,9–15,9 % против 24,1–35,1 % в контроле. Несмотря на значительное снижение потерь, необходимость в протравителях в данном случае не отпадает.

При применении грунта «Малахит» отмечено замедленное развитие мхов. Так, через месяц после посева стандартный субстрат на основе верхового торфа уже на 90 % покрыт мхами, в то время как «Малахит» – только на 5 %. Анализируя развитие всходов сосны и ели на новом грунте в сравнении со стандартным, можно заключить, что для выращивания ели «Малахит» имеет большие преимущества: практически отсутствует полегание и не требуется применение протравителей, существенно замедлено развитие мохового покрова. При выращивании сосны есть как преимущества (значительно подавляется полегание, замедлено развитие мохового покрова), так и недостатки (незначительно снижается всхожесть). В целом почвогрунт «Малахит», полученный из органической фракции ТК0, можно рекомендовать для выращивания посадочного материала сосны и ели в условиях закрытого грунта.

Таким образом, утилизация ТК0, особенно в крупных городах и мегаполисах, путем получения компостов и использование последних в качестве почво-

грунтов и удобрений имеет особую актуальность для сохранения окружающей среды. Бизнес-план производственной линии по переработке 20 тыс. т ТКО показал, что общая сумма капитальных вложений, необходимая для организации комплекса по переработке биоотходов, составляет 46 млн руб., а годовые эксплуатационные расходы – 18,9 млн руб. Расчеты свидетельствуют о достаточно высокой экономической эффективности работы предприятия. Годовой чистый доход предполагается около 13 млн руб. Расчетная прибыль обеспечивает рентабельность производства на уровне 90 %. Ориентировочный расчет общего экономического эффекта, который включает экономию средств на содержание городских свалок, показал, что он будет равняться, с учетом экологического фактора (сокращение площадей свалок, очистка воздуха и т. д.), 144,2 руб. за 1 м³ перерабатываемых отходов. Таким образом, годовая экономия может составить 2,4 млн руб.

Список использованных источников

1. Choi, H. M. European activities on composting of disposable products / H. M. Choi // *J. Environ. Sci. Health, Part A: Environ. Sci. Engin. Toxic Hazardous Control*. – 1996. – Vol. 31, № 4. – P. 825–843.
2. Применение микробных удобрений для интенсификации процесса ферментации муниципальных отходов / И. А. Архипченко [и др.] // *Экология и промышленность России*. – 2000. – № 7. – С. 16–19.
3. Использование птичьего помета для получения микробных удобрений с полифункциональными свойствами / В. И. Фисинин [и др.] // *Докл. Россельхозакадемии*. – 1999. – № 2. – С. 32–34.

Бактериофаги фитопатогенных бактерий: молекулярно-генетическая характеристика и применение

Пилипчук Т. А.¹, Охремчук А. Э.², Валентович Л. Н.², Коломиец Э. И.¹

¹ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь

²Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Использование бактериофагов – вирусов, которые заражают и разрушают бактерии, в том числе устойчивые к антибиотикам, – актуальное направление в биотехнологиях в связи с развивающейся угрозой антибиотикорезистентности. Их основное преимущество в том, что они могут специфично связываться с бактериями определенного вида или рода, что позволяет им не затрагивать нормальную микробиоту организма. Несмотря на то, что наибольшее количество исследований посвящено медицинским аспектам применения бактериофагов, есть данные об их использовании в качестве средств защиты от бактериозов в растениеводстве, например, в борьбе с фитопатогенными бактериями *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* и *Ralstonia solanacearum* на томатах, *Pseudomonas syringae* на огурце, *Xanthomonas malvacearum* на хлопке, *Dickeya solani* на картофеле и *Erwinia amylovora* на плодовых растениях. Однако только единичные научные исследования привели к разработке фаговых препаратов для защиты растений от бактериозов: «Пентафаг С» (Украина), «Агрифаг», «Агрифаг СММ» и «Биолайз» (США). Все эти средства отличаются специфичностью и высокой эффективностью. Так, «Пентафаг С» обладает профилактическим и лечебным действием против болезней овощных культур, вызванных бактериями *Pseudomonas syringae*; «Агрифаг», «Агрифаг СММ» – бактериями *Xanthomonas axonopodis*, *Xanthomonas campestris* и *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*; «Биолайз» – бактериями родов *Pectobacterium* и *Dickeya*.

Что касается нашей страны, то на сегодняшний день в Государственном реестре средств защиты растений и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь, зарегистрировано два фаговых препарата – «Мультифаг» и «Мультифаг-С», разработанных нами для защиты овощных культур от бактериозов. Так, биопрепарат «Мультифаг» – эффективное средство для борьбы с бактериозами на культуре огурца, вызванными бактериями *Pseudomonas syringae*. Он позволяет снизить развитие угловатой бактериальной пятнистости огурца до 50–56 % и дополнительно получить 16 % экологически чистой овощной продукции. Препарат «Мультифаг-С» предназначен для контроля возбудителей черной бактериальной пятнистости (*Xanthomonas campestris*), некроза сердцевины стебля (*Pseudomonas corrugata*) и мокрой гнили (*Dickeya dadantii*) томата. Биологическая эффективность препарата против комплекса возбудителей бактериозов томата составляет 59–69 %, обеспечивая прибавку урожая на 29–33 %.

Для понимания механизмов взаимодействия фага с бактерией, а также для выявления разнообразия бактериофагов, связанного с рекомбинационными процессами, происходящими с вирусами в бактериальных клетках, необходимо изучение молекулярно-генетических особенностей их геномов, позволяющее выявить наличие генов, ответственных за литические свойства фагов. Эти данные представляют особую важность для оценки перспективности их использования в качестве биологических средств защиты растений от бактериозов.

В результате секвенирования трех фагов препарата «Мультифаг» (*Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д, *Pseudomonas phage* БИМ BV-46 Д и *Pseudomonas phage* БИМ BV-61 Д) определены и депонированы в ГенБанк Национального центра биотехнологической информации США их полные нуклеотидные последовательности (под регистрационными номерами MT09 430, MT09 431, KP02 626 соответственно). На основании детального анализа геномов установлен таксономический статус бактериофагов: *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д отнесен к роду *Bifseptivirus* семейства *Autographiviridae*, а *Pseudomonas phage* БИМ BV-46 Д и *Pseudomonas phage* БИМ BV-61 Д – к разным видам рода *Pifdecavirus*, подсемейства *Studiervirinae*, семейства *Autographiviridae* [1–3].

Полногеномное секвенирование бактериофага *Dickeya phage* БИМ BV-99 Д – компонента биопрепарата «Мультифаг-С» – позволило установить его принадлежность к роду *Ghunavirus*, подсемейства *Studiervirinae*, семейства *Autographiviridae*. Нуклеотидная последовательность *Dickeya phage* БИМ BV-99 Д также депонирована в ГенБанк под регистрационным номером PP566124.

В геномах исследуемых фагов установлено наличие генов, ответственных за их литические свойства, и отсутствие генов лизогенности, что позволяет получать быстрый эффект от применения таких препаратов и подтверждает их перспективность в качестве биологических средств защиты растений от бактериозов.

Белки, определяющие литические свойства фагов (холин и эндолизин), играют основную роль в лизисе бактерий-хозяев при выходе зрелых вирусных частиц из клетки на завершающем этапе «жизненного» цикла фага. Холин способствует образованию пор в поверхностных клеточных структурах, а эндолизин – разрушению клеточной стенки [4]. Помимо генов, определяющих литические белки, в геномах фагов присутствуют гены, кодирующие синтез лизоцима, способствующего проникновению фага в бактериальную клетку на начальных этапах фаговой инфекции. Все вышеуказанные белки характерны для хвостатых фагов, в том числе и для изученных нами *Pseudomonas phage* БИМ BV-46 Д, *Pseudomonas phage* БИМ BV-61 Д и *Dickeya phage* БИМ BV-99 Д.

Согласно литературным данным, гены фагов можно разделить на детерминирующие синтез ранних и поздних белков. Ранние белки синтезируются

фагом в первые минуты его проникновения в бактериальную клетку с целью переориентации ее синтетического аппарата на нужды производства вирусного потомства. После того как синтезировалось достаточное количество копий фагового генома, начинается транскрипция поздних генов, которые кодируют белки, необходимые для сборки фаговых частиц [4]. Интересно отметить, что анализ детерминант и синтезируемых ими белков, определяющих синтез ранних белков *Pseudomonas phage* БИМ BV-61 Д, позволили выявить их сходство с таковыми *Pseudomonas phage* Phi-S1 (JX173 487), а детерминанты, определяющие синтез поздних белков, имели сходство с ними у *Pseudomonas phage* phiIBB-PF7A (GU583 987).

Известно, что фибриллярные белки отростка фагов являются рецептор-связывающими и играют ключевую роль в способности вирусов прикрепляться к поверхности бактериальной клетки, а также влияют на круг их бактериальных хозяев [4]. Выявлено, что, согласно результатам сравнения аминокислотных последовательностей, фибриллярные белки отростка *Pseudomonas phage* БИМ BV-61 Д имели наибольшее сходство с белками хвостовых отростков *Pseudomonas phage* phiIBB-PF7A (схожесть 85,64 % при 100 %-м покрытии) и *Pseudomonas phage* Phi-S1 (схожесть 66,07 % при 56 %-м покрытии), эффективно лизирующих фитопатогенные бактерии рода *Pseudomonas*. Так, *Pseudomonas phage* phiIBB-PF7A, согласно литературным данным, лизировал только бактерии *P. fluorescens*, в то время как *Pseudomonas phage* Phi-S1 проявлял литическую активность в отношении широкого спектра бактерий (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. aeruginosa*, *P. fragii*, *P. taetrolens*, *P. convexa*, *P. mucidolens*, *P. ovalis*, *P. synxantha*) [5, 6].

Учитывая, что бактериофаг *Pseudomonas phage* БИМ BV-61 Д проявляет литическую активность в отношении широкого спектра бактерий (*P. syringae*, *P. zaeae*, *P. fluorescens*, *P. frederiksborgensis*, *P. putida*), а также имеет нуклеотидную последовательность, которая проявляет сходство с последовательностями двух фагов, то можно предположить, что такой гибридный фаг мог возникнуть в результате рекомбинации между *Pseudomonas phage* phiIBB-PF7A и *Pseudomonas phage* Phi-S1 в бактериях *P. fluorescens*, поскольку оба они могут размножаться в клетках микроорганизмов данной таксономической группы.

Большое разнообразие адсорбционных аппаратов фагов и входящих в них белков создает огромные возможности комбинаторной изменчивости, в том числе за счет рекомбинаций между весьма далекими вирусными геномами. Это позволяет рассчитывать, что на аналогичных принципах можно создать эффективные искусственные системы управления хозяйской специфичностью бактериофагов для разработки средств фаговой терапии нового поколения [4].

Таким образом, исследованные нами бактериофаги перспективны для разработки на их основе биологических средств защиты растений в силу следующих выявленных особенностей:

высокоспецифичного действия на бактериальные патогены;

наличия генов, ответственных за литические свойства фагов, и отсутствия генов, ответственных за их лизогенные свойства, что подтверждает перспективность их использования в качестве биологических средств защиты растений от бактериозов;

разнообразия адсорбционных аппаратов фагов и входящих в них белков, что обеспечивает возможность создания искусственных систем управления специфичностью бактериофагов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. The bacteriophage Pf-10 – a component of the biopesticide «Multiphage» used to control agricultural crop diseases caused by *Pseudomonas syringae* / O. A. Kazantseva [et al.] // *Viruses*. – 2022, 14 (1). – 42. Doi: <https://doi.org/10.3390/v14010042>.
2. Пилипчук, Т. А. Особенности молекулярно-генетической организации *Pseudomonas* phage БИМ BV-45 Д / Т. А. Пилипчук [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. навук.* – 2022. – Т. 67, № 2. – С. 190–196. Doi: <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-190-196>.
3. Genome characterization of *Pseudomonas* phages BIM BV-45 and BIM BV-46 – the components of biopesticide Multiphage to control bacterial diseases of vegetable crops / Т. А. Pilipchuk [et al.] // PLAMIC2 020 «Plants and Microbes: the Future of Biotechnology»: Second International Scientific Conference: abstract book. – Saratov, 5–9 October 2020. – P. 197.
4. Летаров, А. В. Современные концепции биологии бактериофагов / А. В. Летаров. – М. : ТД ДеЛи, 2019. – 384 с.
5. Complete genome sequence of the lytic *Pseudomonas fluorescens* phage phiIBB-PF7A / S. Sillankorva [et al.] // *Virology J.* – 2011. – Vol. 8, № 1. – P. 142–147.
6. Sillankorva, S. Genome sequence of the broad-host-range *Pseudomonas* phage Phi-S1 / S. Sillankorva, A. M. Kropinski, J. Azeredo // *J. of Virology.* – 2012. – Vol. 86, № 18. – P. 10239.

Основы создания инновационных пробиотических препаратов для кормопроизводства с использованием бактерий рода *Bacillus*

Сверчкова Н. В., Коломиец Э. И.

ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь

Развитие отечественного животноводства в значительной степени определяется состоянием кормовой базы, и особенно качеством кормов. Экономические исследования и практический опыт показывают, что именно от этого показателя зависит успех производства животноводческой продукции. Рацион кормов должен быть сбалансированным и обеспечивать эффективный рост и развитие животного за возможно короткий промежуток времени. Важнейшая задача кормопроизводства – создание и применение в практике таких смесей, которые бы максимально усваивались организмом животного для обеспечения его жизненных функций и обладали профилактическими свойствами. Возможность увеличения продуктивности животных на основе более полного усвоения питательных веществ кормов может быть реализована путем использования новых биологически активных пробиотических препаратов – живых микробных добавок, улучшающих кишечный микробный баланс, обменные и иммунные процессы. В отличие от антибиотиков, пробиотики безопасны, нетоксичны, не накапливаются в организме, не вызывают резистентности у патогенной микробиоты. Их применение – важнейший элемент перехода к получению экологически чистой животноводческой продукции.

Пробиотики – актуальное и бурно развивающееся направление биотехнологических исследований. Мировой рынок продуктов и препаратов на их основе в 2020 г. оценивался в сумму около 50 млрд долл. США, а к 2027 г., по прогнозам аналитиков, он увеличится до 80 млрд долл. США. Спрос на пробиотические препараты особенно возрос с введением в странах Европейского союза в 2006 г. запрета на использование антибиотиков в качестве кормовых добавок и планируемым ограничением их применения в рамках единого таможенного пространства России, Беларуси, Казахстана.

Ассортимент мирового рынка препаратов пробиотического действия для животноводства достаточно широк, его формируют биотехнологические компании стран Евросоюза, Америки, России.

По данным Минсельхозпрода Республики Беларусь, общая потребность в подобных препаратах для использования в качестве лечебно-профилактических средств составляет порядка 50 млн доз в год (50 т), для кормопроизводства – свыше 1000 т в год (для обогащения более 4 млн т комбикормов для КРС, свиней, птицы, рыб) и удовлетворяется, в основном, за счет импорта.

Обеспечение нашей страны пробиотиками требует разработки широкого спектра препаратов с высокой антимикробной, противовирусной, иммуностимулирующей, антиоксидантной активностью. Их применение в промышленном животноводстве позволит обеспечить отрасль отечественными эффективными средствами профилактики и лечения заболеваний, улучшить эпизоотическую ситуацию в хозяйствах Беларуси на всех этапах выращивания животных, птицы, рыбы и получать качественную, экологически чистую товарную продукцию, конкурентоспособную на внешних рынках.

Все это обусловило цель исследований, направленных на создание импортозамещающих биотехнологий получения и применения пробиотических кормовых добавок.

Известно, что одним из самых важных этапов в разработке пробиотических препаратов для ветеринарии и кормопроизводства является поиск активного продуцента. Чтобы быть включенными в группу пробиотиков, микроорганизмы должны обладать высокой антагонистической активностью к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов; выживать при пассировании через желудочный тракт, что предполагает их резистентность к кислоте и желчи; стабилизировать кишечную микробиоту; не оказывать ингибирующего влияния на нормальную микробиоту; не иметь признаков патогенности в отношении макроорганизма даже при введении в больших дозах; быстро размножаться, колонизируя кишечный тракт.

Указанным критериям в полной мере соответствуют спорообразующие бактерии рода *Bacillus*, обладающие рядом преимуществ перед другими представителями экзогенной микробиоты: подавляющее большинство представителей рода безвредны для макроорганизма даже в высоких концентрациях, способны повышать неспецифическую резистентность организма хозяина, проявляют антагонистическую активность к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, обладают высокой ферментативной активностью, характеризуются устойчивостью к литическим ферментам и высокой жизнеспособностью в желудочно-кишечном тракте, отличаются технологичностью в производстве, стабильностью при хранении, экологической безопасностью.

На сегодняшний день особый интерес в качестве основы пробиотических препаратов для животноводства представляют высокоактивные штаммы спорообразующих бактерий рода *Bacillus*, выделенные из микробиома рубца жвачных животных. Используемые бактерии-продуценты функционально адаптированы к условиям пищеварительного тракта, могут оказывать многоплановое воздействие на физиологию, метаболизм и здоровье организма хозяина, способствуют нормализации рубцового пищеварения и повышению перевариваемости питательных веществ рационов мелкого и крупного рогатого скота.

В ходе широкого скрининга отобраны наиболее активные штаммы спорообразующих бактерий с высокой антагонистической активностью к пато-

генным и условно-патогенным микроорганизмам pp. *Escherichia*, *Proteus*, *Pasterella*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Staphylococcus* – возбудителям болезней сельскохозяйственных животных и птиц, и к pp. *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Sphingobacterium* – возбудителям болезней прудовых и ценных видов рыб; а также штаммы бактерий, обладающие высокими целлюлазной, протеазной, ксиланазной, амилазной активностями.

Проведена оценка пробиотических свойств штаммов бактерий *B. velezensis* БИМ В-454, *B. velezensis* БИМ В-497, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-713, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1510, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1513, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-844, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-845, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 – антагонистов патогенов сельскохозяйственных животных, птиц и рыб. Установлено, что культуры *B. velezensis* БИМ В-454, *B. velezensis* БИМ В-497, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-713, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1510 обладают широким спектром антагонистической активности к возбудителям болезней сельскохозяйственных животных и птиц; штаммы *B. amyloliquefaciens* БИМ В-844, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-355, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 – к возбудителям болезней прудовых и ценных видов рыб. Штаммы-антагонисты не ингибируют роста представителей нормальной кишечной микробиоты; принадлежат к экзогенной транзиторной (самоэлиминирующейся) микробиоте, о чем свидетельствует индекс адгезивности менее 1; устойчивы к кислотному стрессу (рН от 2 до 10), желчи (от 0,3 до 10 %); проявляют устойчивость к ампициллину (300 мкг/мл), стрептомицину (20 мкг/мл), хлорамфениколу (10 мкг/мл); не содержат плазмид, несущих гены антибиотикорезистентности, не являются патогенными, токсигенными, аллергенными и могут использоваться в микробиологическом производстве.

По совокупности исследованных свойств отобранные штаммы бактерий-антагонистов сравнимы или превосходят лучшие зарубежные аналоги и могут служить основой новых высокоактивных пробиотических препаратов для кормопроизводства и ветеринарии, в том числе с использованием ассоциации микроорганизмов с взаимодополняющими свойствами (по антагонистической и ферментативной активности).

В Беларуси в ходе реализации Государственной научно-технической программы «Промышленные биотехнологии», Межгосударственной целевой программы Евразийского экономического сообщества «Инновационные биотехнологии», подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии-2020» Государственной программы «Наукоемкие технологии и техника» выполнен большой объем работ по замещению импортируемых пробиотических препаратов и кормовых добавок разработками отечественного производства. В период с 2012 по 2023 г. на основе спорообразующих культур создан и коммерциализирован ряд оригинальных технологий (12) получения пробиотиков кормового и ветеринарного назначения с антимикробной, ферментативной, иммуностимулирующей, антиоксидантной активностями, среди которых следующие кормовые добавки:

«Споробакт®», «Споробакт-К» – для повышения биологической доступности кормов, коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта свиней, птицы, молодняка КРС. Пробиотики обладают антимикробной и ферментативной (протеолитической, целлюлолитической, ксиланазной) активностями, способствуют повышению качества и усвояемости кормов, снижению их обсемененности патогенной и условно-патогенной микробиотой;

«Биодигестин» – для нормализации рубцового пищеварения, профилактики ацидозов высокопродуктивных коров. Основу препарата составляет штамм бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1513 с комплексной ферментативной активностью, выделенный из микробиома рубца лося. В качестве компонента с антимикробной активностью использован штамм *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1510, выделенный из подстилки животноводческого комплекса и обеспечивающий эффективный контроль условно-патогенной микробиоты крупного рогатого скота. Использование «Биодигестина-С» в рационах высокоудойных коров обеспечивает снижение заболеваемости ацидозом на 11–12 %, увеличение перевариваемости кормов на 5 %, молочной продуктивности на 6–7 %;

«Бацикорн» – для повышения биологической доступности кормов и иммунорекции молодняка крупного рогатого скота и птицы. Основа препарата: клетки, споры, продукты метаболизма 2 штаммов бактерий *Bacillus velezensis*, крахмалсодержащее сырье (наполнитель). При вводе добавки в рацион молодняка увеличивается биоконверсия корма, снижаются его затраты (на 10,4–14,5 % у телят, 2,5–4,3 % у цыплят-бройлеров) на получение 1 кг прироста живой массы, которая увеличивается на 11,5–16,9 % и 2,1–3,8 % соответственно. Применение добавки усиливает эффективность лечения и профилактики дисбиотических нарушений функционально незрелого пищеварительного тракта, повышает неспецифический иммунитет и уровень иммуноглобулинов сыворотки крови, увеличивает сохранность молодняка;

«Аквабациллин» – для повышения усвояемости трудногидролизуемых ингредиентов комбикорма и контроля патогенной микробиоты при выращивании рыб семейства карповых. Применение этой добавки в составе комбикорма за счет ферментного комплекса пробиотических бактерий увеличивает усвояемость трудногидролизуемых компонентов комбикорма, восполняет дефицит ферментных систем рыб. Переваримость сырого протеина комбикорма для сеголетков карпа увеличивается на 27,1 %, для двухлетков – на 19,4 %. В теле разновозрастного карпа повышается содержание сухого вещества в среднем на 1,9 % по сравнению с контрольной группой, белка – на 0,9 %, жира – на 7,8 %. Безопасна для теплокровных животных и рыб. Позволяет получить экологически чистую продукцию;

«Проксиферон» – препарат иммуномодулирующего, антибактериального и противовирусного действия, основу которого составляют бактерии *Bacillus subtilis* БИМ В-454 Д с высокой антагонистической и ферментативной актив-

ностями, *Pantoea agglomerans* 1 Ecertz, синтезирующие пигменты каротиноидного ряда, белок куриного лейкоцитарного альфа-интерферона, синтезируемый *E. coli* BL 21. «Проксиферон» положительно влияет на продуктивность и гуморальный иммунитет цыплят. Так, среднесуточный прирост в опытной группе увеличился на 12,2 %, яичная продуктивность кур-несушек за 2 цикла применения препарата – на 2 %, содержание каротина в желтках яиц – на 6,3 %. Отмечено повышение бактерицидной активности сыворотки крови подопытных птиц на 9,4 %, что свидетельствует об усилении гуморального звена неспецифического иммунитета.

Разработанные пробиотики зарегистрированы в Республике Беларусь, внесены в реестр ветеринарных препаратов и кормовых добавок, разрешенных к использованию на территории Таможенного союза. Всего в период 2016–2023 гг. произведено и реализовано свыше 17 т жидких и 50,224 т сухих пробиотических препаратов и кормовых добавок на общую сумму около 280 тыс. долл. США, применение которых обеспечило получение высококачественной продукции, свободной от антибиотиков и химиотерапевтических средств.

Выделение грибов рода *Rhodotorula* из желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных и изучение их антагонистической активности

Никанова Д. А., Колодина Е. Н., Довыденкова М. В., Артемьева О. А.

Федеральный исследовательский центр животноводства –
ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Подольск, Россия

Согласно концепции здорового кормления сельскохозяйственных животных, пробиотики не только помогают избежать неблагоприятного воздействия антибиотиков, но и способствуют улучшению состояния кишечника.

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli* и *Listeria monocytogenes* – одни из наиболее важных и распространенных бактерий при клиническом развитии заболеваний сельскохозяйственных животных и человека [1–3]. В связи с широким применением антибиотиков наблюдалась резистентность ко всем β -лактамным антибиотикам – группы, наиболее успешной для лечения [4]. В связи с этим антимикробные пигменты рассматриваются как новая стратегия для лечения инфекций, вызванных резистентными патогенами [5]. Наибольшей способностью к продуцированию пигментов обладают актинобактерии (в том числе родококки) и ряд грибов и дрожжей, в том числе *Rhodotorula* [6, 7].

Как сапрофитный микроорганизм *Rhodotorula* широко распространен в почве, море, организмах животных и растениях. *Rhodotorula* обладает высокой пищевой ценностью и пробиотическим действием [8]. Глюкан и маннан в клеточной стенке *R. mucilaginosa* могут усиливать миграцию и фагоцитоз макрофагов и нейтрофилов, уменьшать воспалительные реакции кишечника, повышать резистентность животных, способствовать размножению полезных бактерий и конкурентно ингибировать колонизацию вредных бактерий [9–11].

Настоящее исследование было направлено на выделение и идентификацию краснопигментированных дрожжей и изучение их антагонистической активности.

Объектами исследований служили изоляты дрожжей, выделенные из желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных.

Дрожжевые грибы культивировали на агаризованной среде YPD (г/л: агар-агар – 20, глюкоза – 20, дрожжевой экстракт – 10 и пептон – 20), pH 6,0, при температуре 28 °C. Морфологию живых клеток изучали методом световой микроскопии, используя микроскоп Nikon ECLIPSE Ci-L (Япония). Предварительная классификация штаммов дрожжей по наличию бластоконидий, псевдогиф или того и другого была подтверждена системой API (bioMérieux, Франция).

Идентификацию штаммов проводили по стадиям: рассев культуры до отдельных колоний на дифференциально-диагностических средах; культиви-

рование в жидкой среде YPD в течение 24 ч для получения биомассы клеток; выделение ДНК (D-Plants Biolabmix, Россия); идентификация штамма по 5,8S-ITS-фрагменту. Секвенирование осуществляли по методу Сенгера, электрофорез продуктов амплификации – в 1 %-м агарозном геле при 60 В. Идентичность нуклеотидных последовательностей анализировали при помощи программы BLASTN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы Unipro UGENE 50.0 [4].

Антибактериальную активность оценивали по изменению оптической плотности суспензии условно-патогенных бактерий (*E. coli* 3912/41, *S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* 766) на микробиологическом анализаторе Multiskan FC (ThermoFisher Scientific Inc., Финляндия). Штаммы дрожжей культивировали в среде YPD в течение 72 ч с аэрацией 100 об/мин при 30 °С. Суспензии бактерий готовили на физиологическом растворе (0,9 % NaCl), по стандартной нефелометрической шкале МакФарланда равном 1 ($\approx 8 \log_{10}$ КОЕ мл⁻¹). Исследования осуществляли в течение 24 ч в 96-луночных планшетах в общем объеме 200 мкл на лунку, смешивая надосадочную жидкость при культивировании дрожжей и суспензию бактерий (OD_{540}).

Полученные результаты были обработаны биометрически с использованием метода дисперсионного анализа (ANOVA) посредством программы STATISTICA, version 13RU, StatSoft, Inc. (www.statsoft.com).

Из 211 выделенных штаммов 49 были отнесены к роду *Rhodotorula*. По морфологическим, культуральным, физиологическим, биохимическим свойствам краснопигментированные дрожжи идентифицированы как штамм *R. mucilaginosa*. С помощью праймеров ITS1 и ITS4 была проведена амплификация 5,8S-ITS-участка, что позволило определить 28 выделенных пигментированных дрожжей как вид *R. mucilaginosa*. Результаты гель-электрофореза показали размер продукта ПЦР примерно 600 п. н. На основании сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей было построено филогенетическое древо. В качестве референтного использовали типовой штамм *R. mucilaginosa* CBS 316. В процессе культивирования этот вид способен вырабатывать каротиноиды и вторичные метаболиты. Антимикробную активность в отношении 3 музейных тест-штаммов условно-патогенных бактерий исследовали спектрофотометрическим методом. Результаты антибактериальной активности неочищенного экстракта показаны на рисунке.

Наилучшая противомикробная активность была отмечена в отношении *S. aureus*. Через 24 ч культивирования в культуральной жидкости 17 штаммов *R. mucilaginosa* оптическая плотность (OD_{540}) тест-штамма *S. aureus* не превышала 1,0 ед., в то время как в контрольном образце этот показатель был равен 1,145 ед. Разница OD_{540} при влиянии неочищенного экстракта *R. mucilaginosa* в отношении тест-штамма *S. aureus* показала, что 11 штаммов полностью подавляют рост *S. aureus* ($p \geq 0,001$). В сравнении с контролем все штаммы

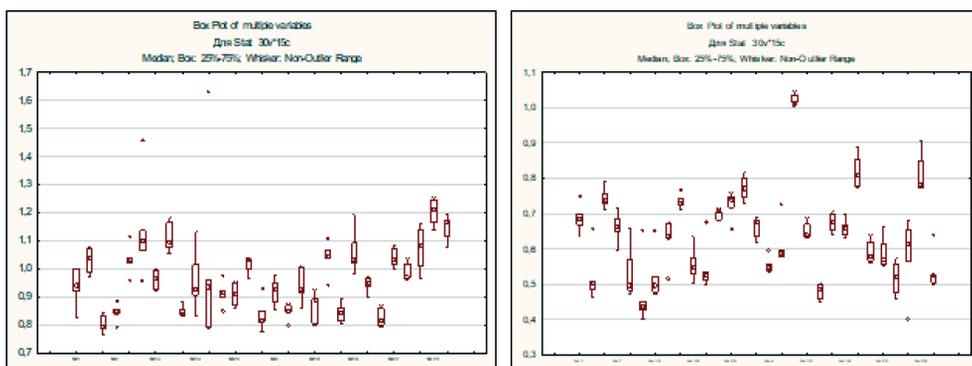


Рисунок. OD₅₄₀ при влиянии неочищенного экстракта дрожжей *Rhodotorula mucilaginosa* в отношении тест-штаммов *S. aureus* ATCC 25923 и *L. monocytogenes* 766

($p \geq 0,05$), кроме 21 и 27, задерживали скорость роста *L. monocytogenes* 766, но не подавляли полностью. Максимальную задержку роста показали штаммы 10 и 14, так, разница OD составила 1,13 и 1,21 ед. ($p \geq 0,001$), штаммы 5, 23 и 25 показали одинаковую разницу OD ($p \geq 0,05$). Менее всего неочищенный экстракт *R. mucilaginosa* повлиял на скорость роста *E. coli*. Всего 17 штаммов задерживали рост тест-штамма. Максимальное действие было отмечено у штамма 15 и 17, разница OD составила 0,139 и 0,158 ед.

Установлена антибактериальная активность культурального фильтрата некоторых штаммов дрожжей *Rhodotorula mucilaginosa* в отношении ряда условно-патогенных тест-штаммов. Штаммы дрожжей *R. mucilaginosa*, обладающие способностью снижать популяцию возбудителя, могут рассматриваться как потенциальные биологические агенты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23–16–00167.

Список использованных источников

1. Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis / V. K. C. Pérez [et al.] // *J. Glob. Antimicrob. Resist.* – 2020. – Vol. 22. – P. 792–802. Doi:10.1016/j.jgar.2020.06.010.
2. Characterization and virulence factors distribution of blaCTX-M and mcr-1 carrying *Escherichia coli* isolates from bovine mastitis / M. Shafiq [et al.] // *J. Appl. Microbiol.* – 2021. – Vol. 131(2). – P. 634–646. Doi: 10.1111/jam.14994.
3. Making Sense of the Biodiversity and Virulence of *Listeria monocytogenes* / O. Disson [et al.] // *Trends Microbiol.* – 2021. – Vol. 29(9) – P. 811–822. Doi:10.1016/j.tim.2021.01.008.
4. Prevalence, Antimicrobial Resistance Pro-files, Virulence and Enterotoxins-Determinant Genes of MRSA Isolated from Subclinical Bovine Mastitis in Egypt / A. M. Algammal [et al.] // *Pathogens.* – 2020. – Vol. 9(5):362. Doi:10.3390/pathogens9050362.
5. Synergistic activity of melittin with mupirocin: A study against methicillin-resistant *S. Aureus* (MRSA) and methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) isolates / R. Hakimi Alni [et al.] // *Saudi J. Biol. Sci.* – 2020. – Vol. 27(10). – P. 2580–2585. Doi: 10.1016/j.sjbs.2020.05.027.

6. Isolation, Identification of Carotenoid-Producing *Rhodotorula* sp. from Marine Environment and Optimization for Carotenoid Production / Y. Zhao [et al.] // *Mar. Drugs*. – 2019. – Vol. 17(3):161. Doi: 10.3390/md17030161.

7. Current perspective of yellowish-orange pigments from microorganisms – a review / C. A. Aruldass [et al.] // *Journal of Cleaner Production Elsevier Ltd.* – 2018. – Vol. 180. – P. 168–182. Doi:10.1016/j.jclepro.2018.01.093.

8. Effects of *Rhodotorula mucilaginosa* on the Immune Function and Gut Microbiota of Mice / Y. Ge [et al.] // *Front. Fungal. Biol.* – 2021. – Vol. 2:705696. Doi: 10.3389/ffunb.2021.705696.

9. Chew, B. P. Carotenoid action on the immune response / B. P. Chew, J. S. Park // *J. Nutr.* – 2004. – Vol. 134(1). – P.257–261. Doi: 10.1093/jn/134.1.257S.

10. Effect of marine red yeast *Rhodospiridium paludigenum* on growth and antioxidant competence of *Litopenaeus vannamei* / Y. Shi-Ping [et al.] // *Aquaculture*. – 2010. – Vol. 309(1–4). – P. 62–65. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.09.032.

11. Effects of *Rhodotorula mucilaginosa* fermentation product on the laying performance, egg quality, jejunal mucosal morphology and intestinal microbiota of hens / J. Sun [et al.] // *Appl. Microbiol.* – 2020. – Vol. 128(1). – P. 54–64. Doi:10.1111/jam.14467.

Отбор стрессоустойчивых штаммов бактерий рода *Bacillus* с целью повышения адаптивного потенциала агентов биологического контроля болезней растений

Купцов В. Н.¹, Левченко Д. Д.¹, Мандрик-Литвинкович М. Н.¹,
Степанова Т. Л.¹, Коломиец Э. И.¹, Гао Сюевен²

¹ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь

²Нанкинский сельскохозяйственный университет, Нанкин, КНР

Основная причина нестабильного эффекта биологического контроля при использовании микробных препаратов на основе бактерий *Bacillus* spp. заключается в слабой устойчивости микроорганизмов к низким температурам, засоленности, защелаченности почв и УФ-излучению с одной стороны, и невысокой активностью продуцируемых антимикробных метаболитов – с другой. Следовательно, селекция бактерий *Bacillus* spp. с высокой стрессоустойчивостью и антимикробной активностью – ключевой фактор повышения эффективности биозащиты растений [1–3]. В данной работе изучены штаммы бацилл, выделенные из образцов грунта, отобранных у подножия солеотвала ОАО «Беларуськалий» (*B. licheniformis* 25, *B. marisflavi* 3, *B. marisflavi* 20), различных регионов Узбекистана (*B. licheniformis* К-3/1, *B. licheniformis* К-3/т), Тибетского нагорья (*B. subtilis* SYST 2, *B. atrophaeus* GBSC 56, *B. simplex* RJGP 41, *B. thuringiensis* GBAC 46), а также *B. mojavensis* БИМ В-1810 Д и *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д из Антарктиды. Проведена оценка полученных штаммов на способность к росту на средах с повышенным содержанием хлорида натрия (7, 12 и 15 %) и гидроксида калия (рН 8–10). Установлено, что все отобранные бактерии обладают способностью к росту при концентрации соли 7 %; штаммы К3/1, К3/т, 3, 20 растут при содержании NaCl 12 %; штамм 20 характеризовался наибольшим показателем солеустойчивости, сохраняя рост на среде с концентрацией соли 15 % (табл. 1).

В ходе скрининга были отобраны штаммы К3/1, К3/т, 3, 25, SYST 2, GBSC 56, RJGP 41, GBAC 46, устойчивые к высокому значению рН (10). Три культуры (К3/1, К3/т, GBSC 56) обладали комплексной устойчивостью к обоим стресс-факторам, проявляя толерантность к соли (7–12 %) и щелочи (рН 8–10).

Отношение к различным температурам проверяли путем посева бактериальных культур на плотные питательные среды с последующим культивированием при разных температурных показателях (табл. 2).

В ходе скрининга отобрано 7 холодостойких штаммов (*B. marisflavi* 3, *B. mojavensis* БИМ В-1810, *B. mojavensis* БИМ В-1268Д, *B. subtilis* SYST 2, *B. atrophaeus* GBSC 56, *B. simplex* RJGP 41, *B. thuringiensis* GBAC 46), проявляющих умеренный рост при +20 °С, три из которых (GBSC 56, RJGP 41, GBAC 46)

Таблица 1. Солеустойчивость и щелочеустойчивость отобранных бактерий

Штамм, происхождение	Рост при различных концентрациях NaCl, %*			Рост при разных значениях pH*		
	7	12	15	8	9	10
К3/1 (Узбекистан)	+	+	–	+	+	+
К3/t (Узбекистан)	+	+	–	+	+	+
3 (Беларусь)	+	+	–	+	+	+
20 (Беларусь)	+	+	+	+	–	–
25 (Беларусь)	+	–	–	+	+	+
SYST 2 (Китай)	+	–	–	+	+	+
GBSC 56 (Китай)	+	–	–	+	+	+
RJGP 41 (Китай)	+	–	–	+	+	+
GBAC 46 (Китай)	+	–	–	+	+	+

*«+» – рост наблюдается, «–» – рост отсутствует

Таблица 2. Рост штаммов рода *Bacillus* при разных температурах*

Штамм	Температурные показатели, °C			
	+5	+10	+20	+55
К3/1	–	–	+	++
К3/t	–	–	+	++
25	–	–	+	+
3	–	+	++	–
БИМ В-1810	–	–	++	–
БИМ В-1268Д	–	+	++	–
SYST 2	–	–	++	–
GBSC 56	–	++	++	–
RJGP 41	+	++	++	–
GBAC 46	–	++	+++	–

*Интенсивность роста: «+» – слабый рост, «++» – умеренный рост, «+++» – хороший рост, «–» – рост отсутствует

сохраняли способность развиваться при +10 °C. Среди термотолерантных бацилл были отобраны штаммы К3/1, К3/t, 25, растущие при температуре +55 °C.

Отбор устойчивых к ультрафиолетовому излучению бактерий проводили путем облучения их жидкой суточной культуры УФ-лампой (длина волны ~254 нм) в течение 30 мин. Характеристика устойчивости бацилл к действию УФ-излучения отражена в табл. 3.

Таблица 3. Показатели роста бацилл после УФ-облучения

Штамм	Титр, КОЕ/мл		Выживаемость клеток, %
	до облучения	после облучения	
3	$(6,9 \pm 0,2) \times 10^8$	$(6,0 \pm 0,3) \times 10^8$	87
20	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^8$	$(2,7 \pm 0,2) \times 10^8$	90
25	$(5,6 \pm 0,2) \times 10^8$	$(2,3 \pm 0,2) \times 10^7$	4,1
К3/1	$(3,3 \pm 0,1) \times 10^8$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^8$	33,3
К3/t	$(6,5 \pm 0,1) \times 10^8$	$(1,0 \pm 0,2) \times 10^8$	15,4

В результате скрининга наибольшей устойчивостью обладали изоляты 3 и 20, характеризующиеся высокой выживаемостью после УФ-облучения (87 и 90 % соответственно).

Проведена оценка антимикробного действия исследуемых штаммов, выращенных в оптимальных и стрессовых условиях (табл. 4).

Таблица 4. Антагонистическая активность бактериальных изолятов, выращенных в оптимальных и стрессовых условиях

Штамм, вариант опыта	Зона задержки роста тест-объекта, мм	
	<i>Fusarium oxysporum</i> БИМ F-565	<i>Pseudomonas syringae</i> 3-3
20, контроль ¹	16±0,6 ²	25±0,5
20, NaCl (12 %)	18±0,5 ²	26±0,4
SYST 2, контроль ¹	20±0,6 ²	22±0,6
SYST 2, NaCl (12 %)	18±0,7 ²	18±0,7
<i>B. mojavensis</i> БИМ В-1810, контроль ¹	23±0,4 ²	30±0,6
<i>B. mojavensis</i> БИМ В-1810, 20 °С	27±0,5 ²	30±0,4
25, контроль ¹	19±0,8 ²	21±0,4
25, рН 9.0	19±0,8 ²	21±0,5
GBAC 46, контроль ¹	0	0
GBAC 46, 20 °С	0	0
RJGP 41, контроль ¹	20±0,4 ³	26±0,5
RJGP 41, NaCl (12 %)	20±0,7 ³	21±0,4
RJGP 41, 20 °С	21±0,4 ²	27±0,6
GBSC 56, контроль ¹	20±0,5 ³	30±0,8
GBSC 56, NaCl (12 %)	15±0,4 ² /20±0,6 ³	30±0,5
GBSC 56, 20 °С	19±0,7 ²	30±0,6
3, контроль ¹	20±0,8 ²	30±0,6
3, 20 °С	18±0,7 ²	30±0,7

Примечание: ¹ – бактерии, выращенные в оптимальных условиях (28 °С, рН 7,0, без добавления соли), ² – зона полного подавления роста мицелия гриба, ³ – зона ослабленного роста мицелия гриба

По результатам исследования установлено, что все отобранные штаммы бацилл, выращенные как в оптимальных, так и стрессовых условиях, способны к ингибированию тест-культур фитопатогенов, бактерий *Pseudomonas syringae* 3-3 и гриба *Fusarium oxysporum* БИМ F-565, образуя зоны задержки роста диаметром 15–30 мм. Выявлено, что присутствие в питательной среде повышенной концентрации соли (12 %) существенно не влияет на показатели антимикробной активности бактерий *B. marisflavi* 20, *B. subtilis* SYST2, *B. simplex* RJGP 41, *B. atrophaeus* GBSC56. Показано, что культивирование бактериальных культур *B. mojavensis* БИМ В-1810, *B. simplex* RJGP 41, *B. atrophaeus* GBSC56 при пониженной температуре (20 °С) приводит к более выраженному антимикробному действию. Для большинства изученных штам-

мов культивирование в условиях повышенного содержания щелочи (рН 9,0) не привело к изменению их антагонистической активности.

Фитозащитное действие отобранных штаммов бактерий изучено в модельных опытах на растениях пшеницы мягкой (*Triticum aestivum*) в сосудах с почвой, искусственно инфицированной возбудителем фузариозной корневой гнили. Установлено, что обработка семян культуральной жидкостью бактерий в концентрации 5 % снижает поражение всходов патогеном в 1,4–2,8 раза. Биологическая эффективность в отношении возбудителя корневой гнили составила для изучаемых штаммов 40–71 %, при этом наибольшим фитозащитным эффектом характеризовался *B. licheniformis* 25.

Таким образом, изученные стрессоустойчивые штаммы бактерий рода *Bacillus* представляют интерес для разработки биопрепаратов нового поколения, проявляющих свои фитозащитные свойства в разнообразных эколого-климатических условиях возделывания сельскохозяйственных культур.

Представленная работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (договор № Б22КИТГ-022).

Список использованных источников

1. Wu, H. Cold adapted *Bacilli* isolated from the Qinghai-Tibetan Plateau are able to promote plant growth in extreme environments / H. Wu // Environmental Microbiology. – 2019. – Vol. 21, № 9. – P. 3505–3526.
2. Tryhubovich, A. Development of biopreparation for plant protection under low temperature conditions using Antarctic psychrotolerant bacterial strains / A. Tryhubovich // 8th Congress of European Microbiologists (FEMS 2019) / Glasgow, 2019. – P. 1256.
3. Aleschenkova, Z. Nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria resistant to technogenic soil salinization / Z. Aleschenkova, N. Naumovich, U. Kuptsou // J. Microb. Biochem. Technol. – 2017. – Vol. 9, № 6. – P. 112.

Штамм бактерий *Bacillus velezensis* БИМ В-497 Д – основа ветеринарного пробиотического препарата «Ветоспорин»

Проскурнина И. А., Коломиец Э. И.

ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь,

По данным ветеринарной статистики, одной из основных проблем крупных скотоводческих хозяйств являются гнойно-некротические поражения дистальных отделов конечностей (язвы в области венчика, мякиша и свода межкопытцевой щели, пододерматиты, ламиниты), обусловленные по большей мере технологическими нарушениями содержания и кормления животных, пониженной резистентностью их организма.

Основным этиологическим фактором возникновения гнойно-некротических заболеваний является факультативная условно-патогенная микробиота кожи, ее производных и слизистых оболочек животных, наиболее часто из представителей которой встречаются *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecium*, *Enterobacter cloacae* [1]. При возникновении соответствующих условий ассоциации перечисленных видов бактерий становятся основными участниками патогенеза гнойно-воспалительных процессов: происходит разрушение соединительных тканей микробными токсинами и нарушение микроциркуляции в них, приводящее к некрозам.

В связи с интенсивным и зачастую нерациональным применением антибиотиков в терапии гнойно-воспалительных заболеваний в этиологической структуре возбудителей отмечаются тенденции роста антибиотикорезистентности грамположительных кокков (*S. aureus*, *S. pyogenes*) и грамотрицательных палочек к различным группам антибиотиков, в частности, к аминогликозидам, макролидам, ципрофлоксацину [2].

В обширном перечне ветеринарных препаратов особое место занимают пробиотические средства на основе бактерий рода *Bacillus*, эффективность которых проявляется в комплексном влиянии на организм: противoinфекционном, иммуномодулирующем, детоксикационном и антиаллергенном действии, репаративной регенерации тканей [3]. Применение пробиотических препаратов не вызывает побочных реакций, не ограничивает сроки забоя животных, положительно влияет на микробиоценоз в животноводческих помещениях и в комплексе с ветеринарно-санитарными мероприятиями дает хороший лечебно-профилактический эффект.

Действенность пробиотических средств на основе бактерий рода *Bacillus* при профилактике и терапии гнойно-некротических заболеваний животных

обусловлена комплексом свойств: способностью синтезировать литические ферменты, очищающие рану от некротизированных тканей и снижающие воспалительные процессы; стимулировать звенья неспецифического иммунитета животных; продуцировать субстанции, нейтрализующие бактериальные токсины и оказывающие противоаллергенное действие.

Учитывая высокий уровень биосинтетической активности бактерий рода *Bacillus* и благодаря их технологическим преимуществам перед другими экзогенными пробиотическими микроорганизмами, представители рассматриваемой группы бактерий признаны подходящим биотехнологическим объектом для создания различных товарных форм пробиотических средств [4].

Необходимый этап разработки микробных препаратов с пробиотическим действием – поиск высокоактивных культур микроорганизмов с комплексом полезных свойств. Штамм спорообразующих бактерий *Bacillus velezensis* БИМ В-497 Д выделен из образца почвы РУСПП «Свинокомплекс Борисовский» и отобран в качестве основы ветеринарного препарата «Ветоспорин», применяемого для лечения и профилактики гнойно-некротических поражений кожных покровов и конечностей сельскохозяйственных животных. При исследовании спектра антимикробного действия штамма установлена его высокая антагонистическая активность в отношении как монокультур условно-патогенных бактерий *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella dublin*, *Micrococcus luteus*, *P. vulgaris*, так и их ассоциаций, содержащихся в экссудатах и раневых тканях пораженных животных с патологией дистальных отделов конечностей.

Важный аспект использования пробиотических культур в ветеринарии – эффективность их действия в отношении полирезистентных возбудителей заболеваний, что позволяет рассматривать препараты на их основе как средства заместительной или дополняющей терапии в комплексе мер. В связи с этим проведена оценка ингибирующего действия исследуемого штамма-антагониста к ряду патогенных культур, выделенных из пораженных органов сельскохозяйственных животных и проявляющих устойчивость к различным классам антибиотиков (таблица).

Полученные данные по оценке чувствительности клинических изолятов к антибиотикам, имеющим медицинское и ветеринарное значение, указывают на полирезистентность некоторых штаммов (*S. aureus* 32, *S. abony* 7) практически ко всем используемым в исследовании антимикробным препаратам. У 7 из 8 исследуемых патогенных штаммов выявлена умеренная устойчивость к 3 и более антибиотикам, чаще к группам пенициллинов и аминогликозидов. Также отмечено, что все тестируемые клинические изоляты условно-патогенных микроорганизмов проявляли устойчивость по крайней мере к 2 из 8 используемых противомикробных средств, что является фактором их патогенности и может значительно снижать эффективность профилактики и лечения вызванных ими заболеваний.

Таблица. Оценка антимикробной активности штамма *B. velezensis* БИМ В-497 Д в отношении полирезистентных патогенных культур

Клинический изолят (источник выделения)	Зона задержки роста патогенной культуры, мм	Устойчивость к антибиотику*							
		<i>Colistin</i>	<i>Amoxicillin</i>	<i>Amoxiclav</i>	<i>Gentamicin</i>	<i>Enrofloxacin</i>	<i>Florfenicol</i>	<i>Doxycycline</i>	<i>Oxytetracyclin</i>
<i>S. aureus</i> 16 (кишечник, печень КРС)	30,0±1,0	–	+	+	+	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> 32 (гнойное отделяемое вымени КРС)	31,3±1,16	–	+	+	+	+	+	+	+
<i>Streptococcus sp.</i> 4 (гнойное отделяемое вымени КРС)	29,7±1,53	–	+	+	–	–	–	–	–
<i>P. vulgaris</i> 5 (кишечник курицы)	28,0±1,0	–	+	–	+	–	+	–	–
<i>P. mirabilis</i> 5 (кишечник курицы)	24,3±1,16	+	–	–	+	–	+	–	–
<i>M. morgani</i> 3 (кишечник курицы)	13,3±0,58	+	+	–	–	–	–	–	+
<i>E. coli</i> 9 (селезенка курицы)	21,7±1,53	–	+	+	–	–	+	–	+
<i>S. abony</i> 7 (кишечник курицы)	17,7±0,58	+	–	+	+	+	+	+	+

*«+» – наличие устойчивости изолята к антибиотику, «–» – отсутствие резистентности. Диапазон тестируемых концентраций антибиотиков составлял 0,016-256 мкг/мл

Значимый результат данного исследования – выявление способности штамма-антагониста *Bacillus velezensis* БИМ В-497 Д эффективно ингибировать развитие всех тестируемых клинических изолятов, обладающих различной степенью устойчивости к антимикробным средствам, что выступает ценным дополнением к терапии заболеваний, вызываемых данными группами микроорганизмов и их ассоциациями.

Важный критерий отбора высокоактивных штаммов пробиотических бактерий – их устойчивость к терапевтическим дозам антибиотиков, используемых в комплексной терапии заболеваний животных. При этом необходимым требованием безопасности применения штаммов в биопрепаратах для человека и животных является чувствительность культур по крайней мере к двум антимикробным средствам, имеющим клиническое применение [5].

По результатам проведенных исследований у выделенного штамма *B. velezensis* БИМ В-497 Д установлена природная устойчивость к ампициллину (МИК 300 мкг/мл) и стрептомицину (МИК 80 мкг/мл), а также незначительная – к доксициклину (МИК 10 мкг/мл) и тетрациклину (МИК 20 мкг/мл). Выявлена чувствительность штамма к терапевтическим дозам ванкомицина, гентамицина, канамицина, эритромицина, клиндамицина, тетрациклина, хлорамфеникола. В результате адаптивной селекции культуры на плотных средах с повышающейся концентрацией антибиотиков резистентность к ампицилли-

ну увеличена до МИК 500 мкг/мл, к стрептомицину – до МИК 120 мкг/мл. Приобретенный признак позволяет прогнозировать высокую выживаемость штамма при совместном применении с антибиотиками, а также может быть использован в качестве селективного маркера, облегчающего контроль за развитием интродуцированной культуры в микробиоценозах.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования штамма *B. velezensis* БИМ В-497 Д в качестве основы пробиотических препаратов для ветеринарии и животноводства и для дальнейшего изучения механизма его пробиотического действия.

Список использованных источников

1. Журба, В. А. Микробиоценоз гнойно-некротических поражений у крупного рогатого скота // Вестник АГАУ. – 2014. – № 4. – С. 110–114.
2. Современные взгляды на патогенез и лечение гнойных ран / О. Э. Луцевич [и др.] // Хирургия. – 2011. – № 5. – С. 72–77.
3. Левахин, В. И. Пробиотики в животноводстве / В. И. Левахин, Ю. А. Ласыгина, А. В. Харламов, Л. Н. Ворошилова // Животноводство и кормопроизводство. – 2013. – № 79. – С. 7–11.
4. Сверчкова, Н. В поисках альтернативы ветеринарным и кормовым антибиотикам / Н. Сверчкова, Э. Коломиец // Наука и инновации. – 2014. – № 8(138). – С. 21–24.
5. Safety assessment of probiotics for human use / M. E. Sanders [et al.] // Gut Microbes. – 2010. – Vol. 1, № 3. – P. 164–85. Doi: 10.4161/gmic.1.3.12127.

Препарат микробный «Биопродуктин» как биоактиватор мульчирующего субстрата для яблоневого сада интенсивного типа

Шмыга Е. Ю.¹, Гирилович Н. И.¹, Мандрик-Литвинкович М. Н.¹,
Коломиец Э. И.¹, Шешко П. С.²

¹ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь

²Гродненский государственный аграрный университет, Гродно, Беларусь

Яблоня – ведущая плодовая культура в зоне умеренного климата, она занимает около 65,9 % всех площадей, отведенных под многолетние плодово-ягодные насаждения Республики Беларусь. Опыт развития мирового плодоводства показывает, что наиболее эффективным промышленным типом сада для яблони является интенсивный сад на карликовых подвоях. Он отличается высокой продуктивностью, связанной с увеличенной плотностью деревьев на гектар, ранним вступлением в плодоношение – уже в год посадки или на следующий год, высокой товарностью получаемой продукции, достигающей 95–98 %. Площадь интенсивных садов в нашей стране постоянно расширяется и в настоящий момент составляет около 16,3 тыс. га.

Вместе с тем общепринятая технология возделывания семечковых садов, включающая систему применения удобрений [1], не учитывает генотипической специфики корневого питания карликовых деревьев, что является причиной снижения их продуктивности и устойчивости к факторам окружающей среды. Проблема заключается в особенностях морфологического строения таких деревьев и в первую очередь их корневых систем, основная масса которых располагается поверхностно, что связано с формированием придаточных корней. Фракция «толстых» корней (более 5 мм), проникающих в глубокие почвенные горизонты, у деревьев на карликовых подвоях в 4 раза меньше по сравнению с высокорослыми садами, а основная масса корней (до 72,6 %) располагается в зоне первого метра от штамба, на глубине 0–20 см, что определяет особенности их питания. По причине неглубокого расположения в почве, у яблони на карликовых подвоях после весеннего отрастания корней на 1–2 декады раньше начинается снижение количества активных корешков, что происходит более интенсивно, чем у высокорослых деревьев; корни карликовых деревьев быстро суберизируются, а образование новых останавливается. Успешная перезимовка и активное развитие растений весной зависит от осеннего развития корней, однако из-за высокой урожайности и скороплодности описываемых садов осенний рост корней у них менее выражен, а максимальная ростовая активность смещается на весенний период. Кроме того, в интенсивных садах с высокой плотностью посадки при раннем вступлении в плодоношение и высоких

регулярных урожаях вынос питательных веществ из почвы также возрастает, что увеличивает потребность во внесении удобрений [2].

Известно, что мульчирование приствольных полос органическими субстратами улучшает физические свойства почвы, обеспечивает защиту деревьев от пересыхания и заморозков, снижает развитие сорной растительности и др. С другой стороны, этот прием может способствовать накоплению в садах патогенных микроорганизмов родов *Phytophthora*, *Pythium*, *Armillaria*, *Nectria*, *Sphaeropsis*, *Cytospora* и др. [3], что приводит к дополнительным обработкам сада пестицидами. Для профилактики инфекций и снижения пестицидной нагрузки перспективна обработка почвы или мульчирующего субстрата микробными препаратами с антифунгальной активностью. С этой целью в Китае, Индонезии, США, Италии, Румынии и других странах используется так называемая биоактивированная мульча, инокулированная полезными микроорганизмами: бактериями *Pseudomonas fluorescens*, ингибирующими развитие *Pseudomonas solanacearum* – возбудителя увядания имбиря; грибами *Gliocladium virens* КА 230-1 и *Trichoderma harzianum* КА 159.2, подавляющими развитие гриба *Phytophthora* на корнях авокадо и др. Доказана высокая эффективность указанных подходов, обеспечивающих увеличение количества здоровых корней имбиря на 31–37 % и снижение развития болезней авокадо на 40–45 %.

В промышленных садах Беларуси биоактивированная мульча не используется, что инициировало проведение исследований в данном направлении. Изучение влияния мульчирования приствольных полос кострой льна на урожайность яблони и микробоценоз почвы проводили в саду карликового типа СПК «Прогресс-Вертелишки» в 2022 и 2023 гг. Биоактиватором выступал препарат микробный «Биопродуктин», который в лабораторных условиях проявлял высокую антифунгальную активность по отношению к коллекционным штаммам возбудителей болезней плодовых культур, а также к вновь выделенным фитопатогенам из образцов почвы и пораженных яблок карликового сада (таблица).

Таблица. Антифунгальная активность препарата микробного «Биопродуктин» по отношению к возбудителям болезней плодовых культур

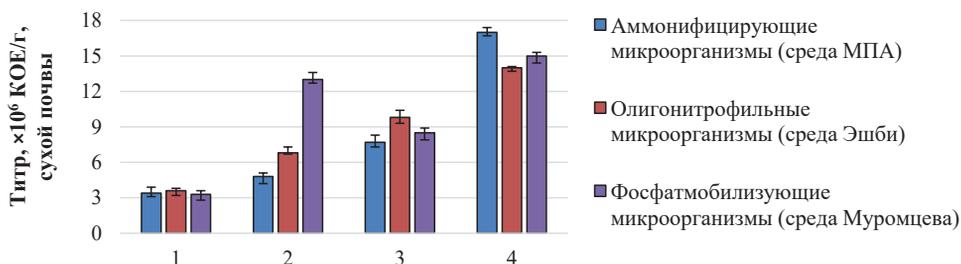
Тест-объект	Диаметр зоны задержки роста фитопатогенного гриба, мм
<i>Colletotrichum acutatum</i> БИМ F-562	20,0±1,1
<i>Monilia fructigena</i> БИМ F-560	22,0±1,5
<i>Phomopsis</i> sp. БИМ F-553	30,0±1,6
<i>Cladosporium cladosporioides</i> БИМ F-593	22,0±1,0
<i>Fusarium avenaceum</i> БИМ F-599	23,0±1,2
<i>Alternaria alternata</i> БИМ F-599	27,0±1,5

Окончание таблицы

Тест-объект	Диаметр зоны задержки роста фитопатогенного гриба, мм
<i>Aureobasidium pullulans</i> A.2	20,0±1,0
<i>Fusarium</i> sp. 3.1	25,0±1,0
<i>Fusicladium</i> sp. 4-4	22,0±1,3
<i>Cytospora</i> sp. C1	21,0±1,1

Примечание: диаметр лунки 9 мм

В результате проведенных испытаний установлено, что двукратное применение препарата в количестве 3 л/га путем непосредственной обработки деревьев, а также нанесения на мульчирующий субстрат – костру льна (10 т/га) приводило к снижению обсемененности поверхности яблок сорта Голден Делишес и Глостер фитопатогенами *Cladosporium cladosporioides*, *Aureobasidium pullulans* до 50–95 %. Выявлено также положительное влияние использования биоактивированной мульчи на микробиоценоз сада интенсивного типа, которое проявлялось в увеличении численности аммонифицирующих микроорганизмов в 5,0 раза, фосфатмобилизующих – в 4,5 раза, потребляющих минеральный азот – в 3,9 раза (рисунок).



1 – контроль (без применения мульчирующего субстрата и биопрепарата);
2 – препарат микробный «Биопродуктин»; 3 – мульчирующий субстрат (костра льна);
4 – костра льна + препарат микробный «Биопродуктин»

Рисунок. Изменение численности различных групп микроорганизмов в зависимости от применяемых технологических приемов в яблоневом саду интенсивного типа (СПК «Прогресс-Вертелишки», сентябрь 2023 г.)

Установлено, что за два года исследований при использовании для мульчирования нативной костры льна средние показатели урожайности и массы плода на 41,1 ц/га и 4,8 г превышали контрольные и составили 261,4 ц/га и 133,6 г соответственно. При применении биоактивированной мульчи средняя урожайность и масса плода составили 278,2 ц/га и 134,9 г, что на 57,9 ц/га и 6,1 г соответственно выше контрольных показателей.

Таким образом, применение препарата микробного «Биопродуктин» в качестве биоактиватора мульчирующего субстрата – костры льна для яблоне-

вого сада интенсивного типа – обеспечивает активизацию микробиологических процессов в почве, увеличение урожайности и массы плода в среднем на 57,9 ц/га и 6,1 г соответственно.

Список использованных источников

1. Организационно-технологические нормативы возделывания овощных, плодовых, ягодных культур и выращивания посадочного материала : сборник отраслевых регламентов / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т систем, исслед. в АПК НАН Беларуси; рук. разработ.: В. Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Минск: Беларуская навука, 2010. – 520 с.

2. Гурьянова, Ю. В. Повышение зимостойкости и продуктивности яблони регулированием устойчивости покоя органическим и минеральным питанием: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. с.-х. наук: 06.01.08 / Ю. В. Гурьянова; Мичурин. гос. аграр. ун-т, Мичуринск. – Мичуринск, 2015. – 40 с.

3. Рекомендации по утилизации и использованию отработанной биомассы садов и ягодников в Республике Беларусь : науч.-практ. изд. / В. А. Самусь [и др.]. – Самохваловичи: РУП «Институт плодоводства», 2011. – 24 с.

Микробный препарат «ХелсБеррин» для защиты ягод голубики высокорослой от комплекса грибных фитопатогенов

Степанова Т. Л.¹, Мандрик-Литвинкович М. Н.¹, Купцов В. Н.¹,
Павловский Н. Б.², Коломиец Э. И.¹

¹ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь

²Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Высокий интерес к голубике вызван уникальным составом ее ягод, она является источником ценных пищевых и биологически активных веществ различного фармакологического действия. Содержащиеся в плодах витамины А, С, Е, антоцианы, флавоноиды, а также микроэлементы (цинк, медь, селен, марганец) оказывают антиоксидантное действие. Растительные гормоны – фитоэстрогены – предохраняют организм от атеросклероза и болезней сердца, снижая уровень «плохого» холестерина. Элаговая и фолиевая кислоты задерживают развитие новообразований. Растительные волокна связывают канцерогены, способствуя их быстрому выведению из организма. Сок обладает противовирусным и антибактериальным действием. Высокие пищевые и лечебно-профилактические качества делают голубику продуктом премиум-класса, для получения которого необходимо соблюдение определенных требований, связанных с минимализацией использования химических препаратов и внедрением экологических способов защиты от патогенов и повышения урожайности [1].

На сегодняшний день на территории Беларуси встречаются следующие возбудители грибных болезней голубики: *Alternaria tenuissima*, *Ascochyta vaccinii*, *Botryosphaeria vaccinii*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium oxycoccii*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Diaporthe vaccinii*, *Gibbera myrtilli*, *Gloesporium minus*, *Monilia oxycocci*, *Phomopsis vaccinii*, *Phyllosticta vaccinii*, *Fusicoccum putrefaciens* и *Septoria albopunctata* [2].

Большое разнообразие патогенных микроорганизмов, выявленных в ее посадках, требует разработки ряда мер, сдерживающих их развитие. В системе защиты голубики на разных стадиях вегетации применяются фунгициды «Антракол», «Бордосская смесь», «Купроксат», «Ридомил», «Строби», «Хорус» и др.

Для получения более качественной продукции проводится внедрение в защитные мероприятия микробных препаратов. В России для борьбы с мучнистой росой и монилиозом ягодных культур используется «Бактофит, СК» – биологический препарат на основе бактерий *Bacillus subtilis* ИПМ 215, гумата калия (натрия) и микроэлементов (Mn, S, Cu, B, Fe, Zn, Mo) [3]. В Ев-

ропе для борьбы с серой гнилью применяют препарат «Serenade Max» или «Serenade ASO» на основе бактерий *Bacillus subtilis*, а для борьбы с антракнозом – «Polyversum WP» на основе живого хищного гриба *Pythium ligandrum* [4, 5]. В Колумбии получены хорошие результаты при использовании микробных препаратов «Actinovate» (*Streptomyces lydicus*), «Pre-stop» (*Gliocladium catenulatum*), «Serenade ASO» (*Bacillus subtilis*) и «Sonata» (*Bacillus pumilus*) для борьбы с серой гнилью в посадках голубики [6]. Однако на территории Республики Беларусь отсутствуют подобные препараты с антагонистической активностью к возбудителям болезней данной культуры. Следовательно, целью нашей работы было создание микробного препарата для защиты голубики высокорослой от комплекса грибных фитопатогенов и повышения качества ягодной продукции.

В ходе проведения исследовательских работ изучена фитосанитарная обстановка в производственных насаждениях голубики и выделены изоляты фитопатогенных грибов – основных возбудителей заболеваний, относящиеся к родам *Alternaria*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*.

Из образцов почвы, отобранных в местах произрастания культуры, выделено более 150 изолятов бактерий, проявляющих антагонистическую активность к данным фитопатогенам. В ходе скрининга отобрано 2 штамма бактерий, обладающих максимальным антимикробным действием в отношении широкого спектра фитопатогенных грибов. Кроме этого, штаммы обладали азотфиксирующей, фосфатмобилизующей активностями, а также способностью синтезировать индолилуксусную кислоту. На основании анализа белковых спектров методом MALDI-TOF MS штаммы идентифицированы как *Bacillus amyloliquefaciens* – они легли в основу микробного препарата «ХелсБеррин» для защиты от гнилей ягодной продукции голубики высокорослой.

В модельных опытах исследовано фитозащитное действие препарата в отношении возбудителей гнилей ягод при хранении. Установлено, что при двукратной обработке растений голубики сорта *Bluecrop* в период вегетации 10 %-м микробным препаратом «ХелсБеррин» поражаемость ягод составила 3,2 % на 60-й день хранения, тогда как в контроле – 13,5 %, а в варианте с обработкой эталонным биопрепаратом «Бактофит, СК» – 87,5 % (табл. 1).

В производственных условиях продолжительность хранения плодов голубики (обычная газовая среда при температуре +4 °С) при двукратной обработке растений голубики 10 %-м микробным препаратом «ХелсБеррин» составила 53 суток, тогда как в контрольном варианте этот показатель был на уровне 38 суток (табл. 2).

Анализ видового состава патогенных грибов, выявленных на плодах голубики в период их хранения при температуре +4 °С, показал, что гнили вызваны микромицетами *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Aureobasidium pullulans*, *Botrytis cinerea*.

Таблица 1. Поражаемость гнилями ягод голубики высокорослой во время хранения

Вариант обработки ягод	Количество пораженных ягод, %		
	4 °С, 14 дней хранения	4 °С, 30 дней хранения	4 °С, 60 дней хранения
Контроль	0	4	13,5
«ХелсБеррин» 5 %, двукратная обработка	0	6,7	8,9
«ХелсБеррин» 10 %, двукратная обработка	0	3,3	3,2
«Бактофит» (эталон)	0	34,4	87,5

Таблица 2. Сохранность плодов голубики высокорослой сорта *Bluecrop* в условиях обычной газовой среды при температуре +4 °С

Вариант опыта	Норма расхода	Кратность обработок	Сохранность, сут
Контроль (без обработки)	–	–	38 ± 3
«Бактофит, СК» (эталон)	3 л/га	2	40 ± 3
«ХелсБеррин»	20 л/га	2	40 ± 6
	40 л/га	2	53 ± 3*
НСР0,05			9,8

* статистически значимые различия с контролем при $p < 0,05$.

Таким образом, применение микробного препарата «ХелсБеррин» в процессе вегетации в насаждениях голубики высокорослой способствует снижению развития гнилей плодов при хранении, что, в свою очередь, повышает ее лежкоспособность и позволяет получить экологически чистую ягодную продукцию.

Список использованных источников

1. Титок, В. В. Голубика высокорослая – инновационная культура премиум-класса / В. В. Титок, А. А. Веевник, Н. Б. Павловский // Наука и инновации. – № 6. – 2012. – С. 5–8.
2. Плескаевич, Р. И. Снижение вредоносности болезней побегов голубики высокой фунгицидом «Раек КЭ» / Р. И. Плескаевич, Е. В. Васеха // Земледелие и защита растений. – 2019. – № 4 (125). – С. 21–24.
3. Леонович, И. С. Биологические средства защиты растений. Регулятор роста // Голубиководство в Беларуси: итоги и перспективы: мат-лы Республиканской науч.-практ. конф., Минск, 17 августа 2012 г. – Минск, 2012. – С. 35–39.
4. Biological control of infection of blueberry flowers caused by *Monilinia vaccinii-corymbosi* / H. Scherm [et al.] // Biological Control. – 2004. – Vol. 29. – P. 199–206.
5. Meszka, B. Blueberry anthracnose, occurrence, harmfulness and control possibilities / B. Meszka, A. Bielenin // Progress in plant protection. – 2012. – Vol. 52. – P. 88–91.
6. Screening commercial biocontrol agents for inhibition of *Monilinia blight* (mummy berry) on lowbush blueberry / D. Langdon [et al.] // Canadian Journal of Plant Pathology. – 2006. – Vol. 28. – P. 355–356.

ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Алаторцева Г. И. 31
Аниско Л. А. 31
Артемяева О. А. 60
Архипченко И. А. 47

Б

Будевич А. В. 20

В

Валентович Л. Н. 51
Винтер М. А. 23

Г

Габдрахманова А. В. 43
Гирилович Н. И. 72
Гао Сюевен 64
Го Тяньхао 15
Гончаров А. Е. 27
Гузенко Е. В. 11

Д

Давыдов В. В. 31
Довыденкова М. В. 60

Ж

Жаворонок С. В. 31

З

Задора И. С. 31
Зверев В. В. 31
Зиганьшин А. А. 40
Зинченко А. И. 23

К

Казаков Р. В. 23
Казловский И. С. 23
Кильчевский А. В. 11
Князева Е. В. 27
Колодина Е. Н. 60
Коломиец Э. И. 5, 15, 35, 51, 55, 64, 68, 72, 76
Купцов В. Н. 64, 76

Л

Левченко Д. Д. 64
Лухверчик Л. Н. 31

М

Макарина-Кибак Л. Э. 11
Мандрик-Литвинкович М. Н. 35, 64, 72, 76
Морозик П. М. 11
Мытько Ю. А. 31

Н

Нестеренко Л. Н. 31
Никанова Д. А. 60

О

Орлова О. В. 47
Охремчук А. Э. 51

П

Павловский Н. Б. 76
Пилипчук Т. А. 51
Проскурнина И. А. 68

Р

Ракецкая О. А. 15
Рогачева Т. А. 31

С

Сверчкова Н. В. 5, 55
Симирский В. В. 20, 31
Скриба Н. Н. 5
Степанова Т. Л. 64, 76

Ш

Шешко П. С. 72
Шмыга Е. Ю. 72

Щ

Щеколова А. С. 23
Щербань А. И. 31
Щука Н. В. 31
Щукин В. Б. 40

Научное издание

ИННОВАЦИИ В БИОТЕХНОЛОГИЯХ

**Материалы круглого стола, посвященного
80-летию освобождения Беларуси от немецко-фашистских захватчиков**

(Минск, 5–7 июня 2024 г.)

Редактор *Ю. С. Василюшина*
Художественный редактор *В. В. Домненков*
Технический редактор *М. В. Савицкая*
Компьютерная верстка *М. Э. Юрени*

Подписано в печать 12.09.2024. Формат 70×100¹/₁₆. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 6,5. Уч.-изд. л. 7,0. Тираж 50 экз. Заказ 185.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом
«Беларуская навука». Свидетельства о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/18 от 02.08.2013,
№ 2/196 от 05.04.2017. Ул. Ф. Скорины, 40, 220084, г. Минск.

