

УДК 619: 616-0973

## ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРОМИЦЕТА DRECHSLERA GRAMINEA

<sup>1,2</sup>Ивановский А.А., <sup>2</sup>Андреева С.Д.

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИСХ «Северо-Востока им. Рудницкого Н.В.»,

Киров, e-mail: svetlana\_a\_s\_d\_andreeva@bk.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВГСХА, Киров

В статье описан поиск естественного, экологически безопасного источника биологически активных веществ для последующего создания препарата – иммуностимулятора. Для дальнейшей работы на основании атоксичных свойств был отобран штамм Н-95 гриба *D. Graminea*. Индуцированный автолиз мицелия гриба не выявил повышения стимулирующей активности культуральной жидкости (КЖ). В результате проведенных исследований на беспородных белых мышах установлено, что подкожное введение КЖ в объеме 0,2, 0,3 и 0,5 мл белым мышам, не вызывает их гибели либо отклонений в клиническом состоянии. Определены оптимальные условия культивирования безопасного для теплокровных животных штамма гриба *D. graminea* и установлен химический состав культуральной жидкости и мицелия.

**Ключевые слова:** иммуностимулятор, штамм, культура гриба

## STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES MICROMYCETES DRECHSLERA GRAMINEA

<sup>1,2</sup>Ivanovskiy A.A., <sup>2</sup>Andreeva S.D.

<sup>1</sup>FBGNU Agricultural Research Institute of the North-East,

Kirov, e-mail: svetlana\_a\_s\_d\_andreeva@bk.ru;

<sup>2</sup>FGBOU VSAA, Kirov

This paper describes a search for a natural, environmentally safe source of biologically active substances, for the subsequent creation of the drug – an immunostimulant. For further work on the basis of atoksichnyh properties was selected strain H-95 fungus *D. Graminea*. Induced autolysis of fungal mycelium showed no increase stimulatory activity of the culture broth (QOL). In re-result studies on mongrel white mice found that subcutaneous added-QOL in the amount of 0,2, 0,3 and 0,5 ml of white mice, does not cause their death or abnormalities in clinical status. The optimal culture conditions for safe of warm animals strain of the fungus *D. graminea* and established the chemical composition of the culture medium and mycelium.

**Keywords:** immunostimulant, a strain of the fungus culture

Одними из источников получения иммуностимулирующих препаратов являются продукты метаболизма некоторых микроорганизмов. Так, например, в научно-внедренческом центре Игнатова созданы препараты Достим и Мастим, основой для получения которых послужили некоторые виды дрожжей [2, 3].

Из культуры микроскопического гриба *Streptococcus griseus* получен биологически активный препарат ПЭФАГ, представляющий собой комплекс липидов этого микроба, обладающий высокой биологической активностью [4, 5].

Рядом исследователей установлено влияние полисахаридного комплекса, выделенного из актиномицетов на образование антител в организме животных и повышение их естественной резистентности к инфекционным заболеваниям [6, 7].

В связи с этим целью настоящей научной работы являлся поиск естественного, экологически безопасного источника биологически активных веществ, для последующего создания препарата – иммуностимулятора.

### Материалы и методы исследования

Работа проводилась на базе НИИСХ Северо-Востока, г. Киров. Для получения целевого объекта исследовали штаммы грибов, выделенные с листьев ячменя пораженных грибом *Drechslera (D) graminea*. Экспериментальным путем подбирали оптимальную питательную среду для культивирования *D. graminea*.

Изыскание безвредного для теплокровных животных штамма микромицета и культивирование выделенных с растительного материала чистых культур грибов, осуществляли на агаре Чапека и жидкой питательной среде по общепринятой методике. Отобранный штамм культивировали в термостате на жидкой питательной среде (модификации среды Чапека) для получения культуральной жидкости (КЖ). Аминокислотный состав мицелия гриба и КЖ определяли на аминокислотном анализаторе ААА-Т-339, триптофан на ФЭКе. Общий азот определяли по Кьельдалю, фосфор с ванадатмолибдатным реактивом, калий с помощью пламенной фотометрии на пламенном фотометре ПАЖ-1, кальций и магний определяли трилонометрическим методом, содержание сахара устанавливали общепринятыми тестами.

Испытание КЖ гриба осуществляли на беспородных белых мышах в возрасте 30 дней, основываясь на методических указаниях Билай В.И. и Курбацкой З.А. [1]. Животных распределяли на 4 группы по 10 мышей в каждой. Две группы мышей – контроль-

ные (№ 1 и № 2) и две – опытные на введение культуральной жидкости (№ 3, 4). В качестве плацебо использовалась дистиллированная вода, используемая для приготовления жидкой питательной среды (группа № 5). Основным контролем служила жидкая питательная среда. В обоих вариантах жидкости инъецировали в дозе 0,5 мл/мышь.

В опытных группах КЖ вводили однократно, подкожно: в 3-ей – 0,2 мл, 4-ой – 0,3 мл и 5-ой – 0,5 мл. Наблюдения за состоянием мышей вели в течение 10 суток, после чего животных взвешивали. Статистическую обработку проводили, используя критерий Стьюдента, считая результат достоверным при  $P < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

В процессе изыскания подходящей среды испытаны 10 различных питательных сред, из которых отобрана оптимальная. Эта среда представляет из себя модификацию среды Чапека, которая стерилизовалась в автоклаве при 0,5 атмосфер в течение 30 мин. Культивирование гриба *D. graminea* осуществлялось при температуре 25 °С в течение 30 дней.

ли сахара до 41 % и сырой протеин до 57 % в пересчете на сухое вещество.

Установлено, что подкожное введение КЖ в объеме 0,2 мл, 0,3 мл и 0,5 мл белым мышам не вызывает их гибели либо отклонений в клиническом состоянии. Данные приведены в таблице.

Как видно из результатов, приведенных в таблице, введение КЖ в дозе 0,2 и 0,3 мл/мышь вызывает достоверное ( $P < 0,05$ ) увеличение массы тела на 18–24% соответственно. Однако, более высокая доза (0,5 мл/мышь) не влияет на изменение весового показателя ( $P > 0,05$ ).

Штамм Н-95 гриба *D. graminea*, на основании атоксичных свойств, был отобран для дальнейшей работы. Индуцированный аутолиз мицелия гриба не выявил повышения стимулирующей активности КЖ.

### Выводы

В результате проведенных исследований на беспородных белых мышах отобран безопасный для теплокровных штамм гриба *D. graminea*. Определены оптимальные

Влияние КЖ гриба *D. graminea* (штамм Н-95) на белых мышей при парентеральном введении ( $n = 10$  в группе)

Группа / $n$	Доза, введенная одной мышью (мл)	Масса тела (г)		Выжило мышей	
		до опыта	по окончании опыта	голов	%
1. Контроль (питательная среда)	0,5	17,9 ± 0,2	19,0 ± 0,1	10	100
2. Опыт (КЖ)	0,2	18,5 ± 0,15	23,0 ± 0,2*	10	100
3. Опыт (КЖ)	0,3	18,1 ± 0,3	21,5 ± 0,5*	10	100
4. Опыт (КЖ)	0,5	18,2 ± 0,5	18,5 ± 0,25	10	100
5. Контроль (плацебо)	0,5	18,0 ± 0,2	18,5 ± 0,3	10	100

Примечание. \* –  $P < 0,05$  в сравнении с исходными данными.

Определение некоторых химических характеристик веществ, входящих в КЖ и мицелий гриба выявило следующее. В мицелии гриба, выращенном на жидких средах в составе аминокислот доминирующими являются: аспарагиновая, глутаминовая и аргинин с фенилаланином, на долю которых приходится 45% от всей суммы аминокислот. Аналогичным образом представлена картина аминокислот и в КЖ, однако, концентрация этих четырех аминокислот занимает не менее 50% от всех суммарно представленных аминокислот. Содержание аминного азота в образцах КЖ, автоклавированной при 0,5 атмосферах в течение 30 минут, составляет к общему азоту до 70%. Из минеральных элементов основу мицелия гриба составляют фосфор, калий и магний. В культуральную жидкость переходит больше калия и кальция (на 30-й день культивирования). В КЖ основу составля-

ют условия его культивирования и установлен химический состав культуральной жидкости и мицелия.

### Список литературы

1. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. – Киев.: Наукова думка. – 1982. – С. 296–330.
2. Ревво А.В. Иммуностимулятор Достим // Ветеринария. – 1992. – № 1. – С. 31–32.
3. Технические условия № 9383-004-00479979-98, 25.12.1998 на препарат Субалин.
4. Ракова Г.Н. Применение микробных метаболитов в животноводстве. – Воронеж, 1985. – С. 24–35.
5. Ракова Г.Н., Коровкин И.Я. О влиянии препарата ПЭФАГ на рост поросят, переболевших диспепсией // Профилактика незаразных болезней сельскохозяйственных животных. – М., 1977. – С. 156–158.
6. Туманян М.А., Масыкин Е.Б., Краснянская Т.А., Молчанова Е.Т. Изучение механизма действия бактериальных полисахаридов на естественную резистентность к инфекции // Труды НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. – М., 1988. – С. 18–21.
7. Филиппова Г.В., Разумовский П.Н., Евреев В.Н., Пушкаренко Я.Е. Действие полисахаридного комплекса актиномицетов на образование иммунных тел при вакцинации против бруцеллы // Известия АН МССР. – М., 1977. – 115 с.