

Для каждой точки был установлен пороговый цикл амплификации C_t . Для 100 % концентрации вируса это значение составило 24,17, для 10 % - 27,42, для 1 % - 30,76, и для 0,1 % - 34,31.

Используя значение C_t для всех разведений Менговируса, была построена стандартная кривая путем нанесения на график полученных значений C_t , для определения r^2 (где r — это коэффициент корреляции Пирсона), параметров наклона и пересечения. На основании выполненных анализов, было установлено, что при экстракции и проведении ОТ-ПЦР для Менговируса значение r^2 составило 0,997 (рис. 1б), а наклон стандартной кривой составил -3,18, что свидетельствовало об успешной экстракции и прохождении реакции ОТ-ПЦР.

В результате проведенной апробации метода было установлено, что эффективность экстракция Менговируса из устриц – 7,99 %. Эффективность экстракции вируса более 1% считается положительным результатом. Таким образом, метод позволяет эффективно извлекать норовирус из устриц.

Выводы. Метод выделения с помощью eGene up позволил эффективно провести выделение и очистку вируса (на примере Менговируса). Полученные результаты показали, что выбранный метод подходит для выделения и очистки РНК из устриц.

Литература

1. Chancellor, D.D. Green onions: potential mechanism for hepatitis A contamination / D.D. Chancellor, S. Tyagi, M.C. Bazaco, S. Bacvinskas, M.B. Chancellor, V.M. Dato, F. Miguel // Journal of food protection. – 2006. – Т. 69. – № 6. – Р. 1468-72. DOI: 10.4315/0362-028x-69.6.1468.
2. Anonymous. Microbiology of food and animal feed □ Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus in food using real □ time RT □ PCR, Part 2. Method for qualitative detection, 2013.
3. Anonymous. Microbiology of the food chain – Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR. Part 1. Method for quantification, 2017.

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ АБОРИГЕННОГО ШТАММА БАКТЕРИИ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS ВКМ В-3546D

***Селезнев А.О., Сенченков В.Ю., Ляховченко Н.С., Ахапкина С.С.,
Соляникова И.П., Травкин В.М.***

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Россия, Белгород, 1554953@bsu.edu.ru

В настоящее время в рамках различных программ развития сельского хозяйства Российской Федерации сохраняется тенденция к разработке и внедрению биологических средств защиты растений. Более того, в рамках импортозамещающей политики нашей страны приоритет дан развитию отечественных технологий по производству и применению микробных

препаратов и ассоциаций, а также – их метаболитов [1]. В связи с чем возрастает потребность в разработке методов получения биопрепаратов на основе микроорганизмов, в частности бактерий.

В научной литературе уже давно описан биотехнологический потенциал бактерий рода *Pseudomonas* как антагонистов фитопатогенных микроорганизмов и продуцентов различных метаболитов [2]. В частности, известно, что аборигенный штамм Белгородской области *P. chlororaphis* ВКМ В-3546D подавляет рост и развитие широко распространённого фитопатогенного плесневого гриба *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 [3]. Поэтому применение данного штамма в составе биопестицидов для борьбы с возбудителями заболеваний растений может являться актуальным.

Целью данного исследования являлась разработка способа получения биопрепарата на основе аборигенного штамма Белгородской области *Pseudomonas chlororaphis* ВКМ В-3546D.

Первой задачей исследования являлось построение графика роста культуры с помощью метода спектрофотометрии для определения максимальной концентрации клеток за короткий промежуток времени.

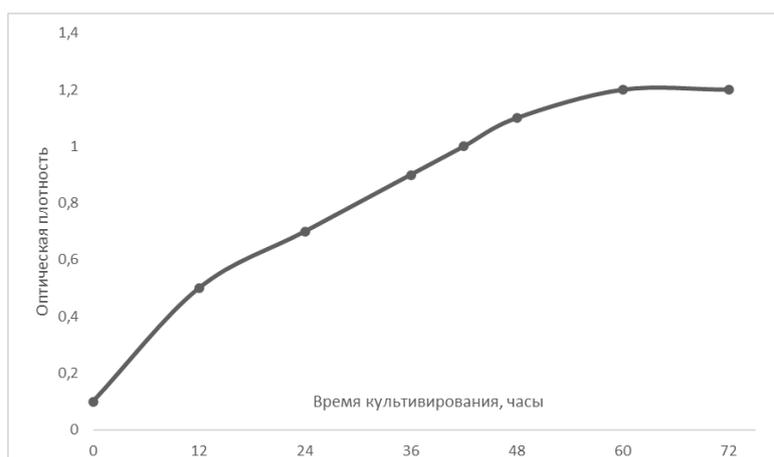


Рис. 1. График роста *Pseudomonas Chlororaphis* ВКМ В-3546D

Было установлено, что максимальная оптическая плотность достигается за 48 часов глубинного культивирования.

Процесс получения сухой биомассы состоял из 9 этапов:



Рис. 2. Этапы получения сухой биомассы

Получение активной культуры проводилось методом поверхностного культивирования на косом агаре при температуре 25°C в течение 48 часов. Затем бактерию пересаживали в 100 мл жидкой питательной среды (1% пептон) и культивировали при температуре 25°C, перемешивании и аэрации то же количество времени.

Затем инокулят переливали в ферментер с 900 мл стерильной питательной среды и культивировали при тех же условиях в течение 2 суток. После культуральную жидкость выкачивали из ферментера в банку объёмом 1 литр с помощью вакуумного насоса и стерильным шприцом разливали в чашки Петри по 20 мл. Затем чашки с культуральной жидкостью замораживали и сушили в лиофильной сушке. После выгрузки сухой биомассы, отбирали 1 грамм порошка и методом серийных разведений [4] производили контроль чистоты культуры и подсчет количества живых клеток.

Таким образом, использование данного метода позволяет получить из одного литра питательной среды около 8 грамм сухой биомассы, в одном грамме которой содержится 3×10^7 живых клеток. В настоящее время продолжается доработка, оптимизация и улучшение данного метода.

Литература

1. Постановление Правительства РФ от 25 августа 2017 г. N 996, <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201708300023>.
2. Kahlon R. S. (ed.). *Pseudomonas: molecular and applied biology*. – Basel, Switzerland: Springer International Publishing, 2016.
3. Lyakhovchenko N. et al. Antifungal Activity of Gram-Negative Pigment-Forming Bacteria Against *Aspergillus Unguis* // *BIO Web of Conferences*. – EDP Sciences, 2023. – Т. 57. – С. 06003. DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235706003>.
4. Практикум по микробиологии: Учеб. Пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л.М. Захарчук и др.; Под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

ОЦЕНКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ДВУХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОТХОДОВ ПТИЦЕФАБРИКИ ГОРОДА БЕЛГОРОДА

*Сенченков В.Ю.¹, Ляховченко Н.С.¹, Никишин И.А.¹, Чепурина А.А.¹,
Мяжков Д.А.¹, Поливцева В.Н.², Абашина Т.Н.², Делеган Я.А.², Богун
А.Г.², Соломенцев В.И.², Соляникова И.П.¹*

1– Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Россия, Белгород, senchencov@bsu.edu.ru

2–Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», Россия, Пушкино

3– Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Россия, Оболенск

С 01.03.2023 года в Российской Федерации вступил в силу Федеральный закон №248-ФЗ от 14.07.2022 «О побочных продуктах животноводства и о