

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА» ГОСУДАРСТВЕННАЯ
АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

А. В. Вишневец, Т. В. Видасова, О. В. Заяц, О. А. Яцына

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Методические указания
для студентов биотехнологического факультета
по специальности «Производство продукции
животного происхождения»

Витебск
ВГАВМ
2026

УДК 573.6.086.83:636(075.8)
ББК 45.318я73
В55

Рекомендовано к изданию методической комиссией
биотехнологического факультета УО «Витебская ордена
«Знак Почета» государственная академия ветеринарной
медицины» от 21 мая 2025 г. (протокол № 5)

Авторы:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А. В. Вишневец*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *Т. В. Видасова*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *О. В. Заяц*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *О. А. Яцына*

Рецензенты:

кандидат ветеринарных наук, доцент *И. А. Красочко*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *С. Л. Карпеня*

В55 Основы биотехнологии : методические указания для студентов
биотехнологического факультета специальности «Производство про-
дукции животного происхождения» / А. В. Вишневец, Т. В.
Видасова, О. В. Заяц, О. А. Яцына. – Витебск : ВГАВМ, 2026. – 84 с.
ISBN978-985-591-274-4.

Учебно-методическое пособие написано в соответствии с учебным
планом для высших учебных заведений по специальности 6-05-0811-02
«Производство продукции животного происхождения». Содержит све-
дения о теоретических основах биотехнологии и методики выполнения
практических занятий по конкретным темам.

УДК 573.6.086.83:636(075.8)
ББК 45.318я73

ISBN 978-985-591-274-4

© УО «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной
медицины», 2026

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Тема 1. Введение в биотехнологию.....	6
Тема 2. Генная инженерия.....	13
Тема 3. Методы получения и перспективы использования трансгенных животных.....	22
Тема 4. Клеточная инженерия.....	26
Тема 5. Получение клонированных и химерных животных	33
Тема 6. Микробиологическое производство целевых продуктов.....	38
Тема 7. Технология ферментных препаратов.....	52
Тема 8. Микробиологические препараты.....	62
Тема 9. Технологическая биоэнергетика.....	70
Список литературы	83

ВВЕДЕНИЕ

Современная биотехнология – это наука, занимающаяся разработкой методов и технологий производства, транспортировки, хранения и переработки сельскохозяйственной продукции с использованием животных, растений и микроорганизмов в естественных и искусственных условиях.

Биотехнология дает знания о генно-инженерных и клеточных методах и технологиях создания и использования генетически трансформированных (модифицированных) животных, растений и микроорганизмов в целях расширения их разнообразия, интенсификации производства и получения новых видов различных продуктов.

Цель дисциплины: дать студенту теоретические знания о роли генетического конструирования – как современном методе селекции организмов, о сущности биологических систем, процессов и способах применения их в животноводстве.

В результате изучения дисциплины «Основы генетической инженерии и биотехнологии» студент **должен:**

знать:

- принципы создания и использования генетически модифицированных клеток и высокопродуктивных штаммов микроорганизмов для получения биологически активных веществ, ферментов, кормовых добавок и высококачественных продуктов, иммунологических материалов;

- способы выделения клоновых культур и клонирование животных;

- методы получения и использования ооцитов и стволовых клеток, способы разделения сперматозоидов по половым хромосомам;

- методы секвенирования нуклеотидов в очищенных фрагментах ДНК и конструирования рекомбинантных ДНК, введения генов в зародышевые клетки и получения трансгенных животных;

- биотехнологические способы производства экологически чистых источников энергии, антибиотиков, гормонов, аминокислот и белка одноклеточных организмов, продуктов различного назначения;

- получение и использование стероидных гормонов и ферментных препаратов в ветеринарной медицине и животноводстве;

уметь:

- рационально использовать получаемые биотехнологическим путем кормовые белковые и ферментные препараты, организовать в хозяйстве простейшую переработку корма для обогащения белком одноклеточных организмов;

- использовать другие доступные биотехнологические методы для повышения молочной и мясной продуктивности, плодовитости животных и защиты окружающей среды;

владеть:

- способностью определить наиболее подходящий продукт, получаемый биотехнологическим путем, для улучшения продуктивности и репродуктивной способности животных или в терапевтических целях и для повышения общей резистентности организма;

- умением грамотно оценить возможности сельскохозяйственной организации в использовании современных методов применения и утилизации биомассы, растительных отходов и навоза для получения биогаза, а также других источников энергии (биотоплива и др.);

- способностью проведения экспериментов в различных технологических условиях, методами обработки результатов исследований, системным и сравнительным анализом.

В соответствии с учебным планом учреждения высшего образования по специальности 6-05-0811-02 «Производство продукции животного происхождения» для изучения дисциплины «Основы биотехнологии» отводится 120 часов, из них 64 часа аудиторных. Распределение аудиторного времени по видам занятий: лекции – 34 часа, лабораторные – 32 часа, самостоятельная работа студентов – 2 часа. Курс – 3, 6 семестр.

По сокращенному сроку получения высшего образования для изучения дисциплины отводится 130 часов, из них 50 часов аудиторных. Распределение аудиторного времени по видам занятий: лекции – 16 часов, ЛПЗ – 32 часа, самостоятельная работа студентов – 2 часа. Курс – 2, 4 семестр.

Форма текущей аттестации – зачет (4 зачетные единицы). Форма получения высшего образования – очная.

Учебно-методическое пособие «Основы биотехнологии» предназначено для подготовки к лабораторно-практическим занятиям.

Тема 1. ВВЕДЕНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИЮ

Цель занятия: изучить роль биотехнологии в ускорении научно-технического прогресса, ознакомиться с основными направлениями и перспективами развития в Республике Беларусь.

Контрольные вопросы:

1. Понятие о биотехнологии, история ее возникновения и развития.
2. Основные направления и задачи биотехнологии, связь с другими дисциплинами.
3. Достижения биотехнологии в сельском хозяйстве и ветеринарной медицине.
4. Развитие биотехнологии в Республике Беларусь.

Теоретическая часть

Биотехнология – это наука о генно-инженерных и клеточных методах и технологиях создания и использования генетически трансформированных (модифицированных) животных, растений и микроорганизмов в целях расширения их разнообразия, интенсификации производства и получения новых видов продуктов различного назначения. Это наука и отрасль производства, основанная на использовании биологических объектов и систем.

Биотехнология – это манипулирование живыми организмами, системами и процессами на благо общества, окружающей среды и промышленности.

Основные направления биотехнологии:

1. *Генная инженерия.* Это область молекулярной генетики, которая разрабатывает методы конструирования новых генетических программ.

2. *Клеточная инженерия.* Получение клеток нового типа, гибридная технология, конструирование генетически новых объектов путем клеточной гибридизации и введения чужеродного генетического материала.

3. *Эмбриогенетическая инженерия.* Это активная перестройка генома животных путем вмешательства в их развитие на ранних этапах онтогенеза. Перестройка генома – это реконструкция эмбрионов путем клонирования, слияния или инъекции в их ядра чужеродной ДНК.

Основные направления эмбриогенетической инженерии:

- а) клонирование животных;
- б) получение генетических химер;
- в) получение трансгенных животных;
- г) трансплантация эмбрионов.

4. *Традиционная биотехнология.* Использование анаэробных процессов для производства вина, силоса, квашения, получение молочнокислых продуктов, спирта и т. д.

5. *Инженерная энзимология.* Применение микробиологических, физико-химических методов для производства ферментов – специфических катализаторов белковой природы.

6. *Микробиологический синтез* – использование микроорганизмов для получения белков, ферментов, органических кислот, лекарственных препаратов и других веществ.

В 2012 знаменитый ученый Кафарски разработал цветовой код, чтобы различать основные области биотехнологий: белый (промышленный), зеленый (сельскохозяйственный), синий (морской и пресноводный), красный (фармацевтический), коричневый (пустынная биотехнология), фиолетовый (патенты и изобретения).

Совсем недавно появилась новая область прикладной энтомологии – биотехнология насекомых, которая охватывает использование насекомых в открытии лекарственных средств и которая получила желтый код.

Белая биотехнология: потенциал промышленной биотехнологии

Белая биотехнология сосредоточена на производстве и обработке химических веществ, материалов и энергии с использованием живых клеток, таких как дрожжи, грибы, бактерии, растения и ферменты для синтеза продуктов в промышленных масштабах.

Она стремится уменьшить воздействие на окружающую среду, переходя от основанных на нефти методов к устойчивым процессам.

По оценкам ученых, использование промышленных биотехнологий может привести к сокращению выбросов углекислого газа на 50%, энергопотребления – на 20% и потребления воды – на 75%.

Производство больших объемов химических веществ, таких как органические кислоты и спирты, с помощью белой биотехнологии способствует экономии энергии, сокращению выбросов газов и обеспечению промышленных инноваций и поставок. Этот фактор является важной особенностью недавнего развития крупномасштабных процессов.

Органические кислоты, такие как лимонная кислота, молочная кислота и уксусная кислота, являются основными пищевыми добавками, производимыми в настоящее время в промышленных масштабах с использованием белой биотехнологии.

Другим важным классом являются подсластители, такие как ксилитол, сорбит и аспартам. В последние годы мировой спрос на эти подсластители значительно вырос в ответ на потребительский спрос на продукты с нулевым содержанием калорий.

Другие основные продукты включают аминокислоты и витамины, некоторые из которых производятся полностью или почти полностью с помощью белых биотехнологий. Аминокислоты являются важными молекулами как для человека, так и для животных, поскольку они содержат белки и играют respectable роль в обменных процессах.

Используя сочетание синтетической биологии и биотехнологии, можно синтезировать новые метаболические пути для производства новых продуктов.

Основные области применения зеленой биотехнологии

Основным вкладом современной биотехнологии в сельское хозяйство является возможность создания новых видов путем переноса генов между различными организмами для создания растения, представляющего технологический или экономический интерес.

Основными характеристиками ГМ культур являются устойчивость к насекомым и гербицидам, повышение продуктивности и устойчивости растений к неблагоприятным почвенным и климатическим условиям.

Также зеленая биотехнология работает за счет повышения производительности и развития адаптивных растений с большим энергетическим потенциалом, стремясь, в частности, к производству биотоплива.

Голубая биотехнология: морское биоразнообразие как источник основных соединений

Голубая биотехнология, или морская биотехнология, направлена на изучение и использование морского биоразнообразия в качестве источника новых продуктов, биоразведку окружающей среды и использование молекулярной биологии и микробной экологии в морских организмах для достижения полезных результатов для человечества.

Биополимеры морского происхождения, например, используются в биоразлагаемых пластмассах, фармацевтической и медицинской продукции, биодостаточных веществах и стоматологических биоматериалах.

Коричневая биотехнология

Она направлена только на изучение пустынь и сильно засушливых территорий. Коричневая биотехнология изучает необходимые химические процессы, происходящие в таких засушливых регионах с целью их восстановления, а также действие этих мест на различные виды организмов (микроорганизмы, млекопитающие и насекомые).

Биотехнология тесно связана со многими науками: биологической и биорганической химией, молекулярной биологией, генетикой, микробиологией, иммунологией, физиологией животных и человека, цитологией и др.

В качестве биотехнологических объектов используют одноклеточные микроорганизмы, водные растения, лишайники, грибы также животные и растительные клетки.

Задание 1. Изучить использование биотехнологии в разных отраслях (таблица 1).

Таблица 1 – Использование биотехнологии в разных отраслях

Отрасли	Область применения
Сельское хозяйство	Производство белково-витаминных концентратов. Селекция, клонирование и генетическая инженерия животных и растений. Производство антибиотиков для лечения животных и птицы. Производство вакцин. Производство биоинсектицидов. Получение гормонов и других стимуляторов роста.

Отрасли	Область применения
Производство химических веществ и соединений	Производство органических кислот. Получение витаминов, антибиотиков и др. Использование ферментов в составе синтетических моющих средств.
Контроль за состоянием окружающей среды	Улучшение методов тестирования и мониторинга загрязнений окружающей среды. Использование микроорганизмов для переработки сельскохозяйственных, бытовых и промышленных отходов.
Медицина	Использование ферментов в диагностике. Использование микроорганизмов при создании и модификации сложных лекарственных средств. Разработка новых методов получения антибиотиков, гормонов, интерферона. Применение ферментов и штаммов микроорганизмов.
Энергетика	Производство биогаза. Производство этанола.
Пищевая промышленность	Создание новых методов переработки и хранения пищевых продуктов. Применение пищевых добавок, полученных с помощью микроорганизмов. Использование белка одноклеточных организмов. Применение ферментов. Совершенствование спиртового и молочнокислого брожения.

Задание 2. Изучить классификацию биотехнологических производств.

Классификация биотехнологических производств.

1. Производства, осуществляющие процессы переработки продуктов питания и сельскохозяйственного сырья, в которых не производится выращивание больших масс микроорганизмов или извлечение продуктов метаболизма (хлебопечение, производство сыра, напитков, силосование кормов и т. д.). Микроорганизмы используются в небольшом количестве лишь на одной из стадий технологического процесса.

2. Бродильные производства, с помощью которых получают некоторые органические кислоты, растворители и энергетическое сырье (спирт, ацетон, бутанол и т. д.). При этом микроорганизмы можно культивировать в нестерильных условиях.

3. Биотехнологические производства со специальным оборудованием и технологией, в которых микроорганизмы используются в производственных условиях для обработки сельскохозяйственных, промышленных и бытовых отходов, очистки воды, почвы от загрязнений.

4. Производства, осуществляющие получение в промышленных условиях биомассы для кормовых и технологических целей. Процессы происходят в нестерильных условиях, но требуют специфического оборудования в зависимости от сырья.

5. Производства, занимающиеся получением микробной и клеточной биомассы в асептических условиях для растениеводства, пищевых целей (бактериальные удобрения и пестициды, пищевой белок). Эти производства отличаются сложностью аппаратного оформления процессов выращивания и очистки, что оправдывает выделение их в самостоятельную группу.

6. Получение для нужд промышленности, сельского хозяйства и медицины микробных метаболитов сложной органической структуры, большинство из которых обладают физиологической активностью (антибиотики, витамины, ферменты, кровезаменители, некоторые полимеры, аминокислоты, полисахариды и т.п.). Эти производства осуществляются в асептических условиях выращивания, при этом необходимо специальное оборудование и технологии для выделения и очистки целевого продукта.

7. Производства по использованию иммобилизованных ферментов и клеточных систем.

8. Производства, занимающиеся трансформацией органических веществ (получение стереоселективных сложных органических молекул).

9. Культивирование клеток многоклеточных организмов. Производство моноклональных антител (иммунная биотехнология). Клональное размножение важнейших сельскохозяйственных растений с помощью культур клеток и тканей, методов клеточной селекции, получение гаплоидов и гибридизация соматических клеток для создания исходных форм и сортов; оздоровление посадочного материала.

10. Производства по применению микробиологических процессов в традиционно небιологических областях техники, например для выщелачивания металлов, удаления метана из шахт, обогащения руд, повышения нефтеотдачи пластов и т. д.

11. Применение методов генетической инженерии для получения новых микроорганизмов и клеток с заданными свойствами.

Задание 3. Изучить перспективные направления биотехнологии в снабжении человечества продовольствием (рисунок 1).



Рисунок 1 - Перспективные направления биотехнологии в снабжении человечества продовольствием

Задание 4. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь. Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	
...10	

1. Биотехнология – это:
 - а) наука и отрасль производства, основанная на использовании биологических объектов и систем;
 - б) комплекс знаний о жизни и совокупность научных дисциплин, изучающих жизнь;
 - в) биологическая дисциплина, изучающая микроорганизмы – их систематику, морфологию, физиологию, биохимию.
2. К продуктам биотехнологий относят:
 - а) плазмиды, ферменты, векторы;
 - б) пищевые добавки, профилактические средства, продукты питания;
 - в) биологически активные добавки, диагностические средства, гормоны, лекарственные препараты.

3. Основные цели биотехнологии:

а) решать коренные задачи селекции физических объектов, проблемы климата;

б) защита окружающей среды, решать продовольственную проблему,

в) решать проблему народонаселения, поиск альтернативных источников энергии.

4. Объектами биотехнологий являются:

а) плазмиды, ферменты, аминокислоты, вирусы;

б) микроорганизмы, ферменты, белки;

в) бактерии, вирусы, простейшие, грибы, культуры клеток.

5. Основные области применения традиционной биотехнологии:

а) пищевая промышленность, животноводство;

б) энергетика, животноводство, легкая промышленность;

в) химическая промышленность, металлургия, растениеводство.

6. Активная перестройка генома животных путем вмешательства в их развитие на ранних этапах онтогенеза:

а) эмбриогенетическая инженерия;

б) клеточная инженерия;

в) генная инженерия.

7. Основным вкладом современной биотехнологии в сельское хозяйство является:

а) изучение пустынь и сильно засушливых территорий;

б) возможность создания новых видов путем переноса генов между различными организмами;

в) производство химических веществ, таких как органические кислоты и спирты.

8. Биотехнология формировалась и эволюционировала по мере развития:

а) человеческого общества, научно-технического прогресса;

б) окружающего мира, климата Земли;

в) электроники.

9. Основу традиционной и существенную часть новейшей биотехнологии составляют:

а) аппаратура, биообъект;

б) биотехнологические процессы и системы производства;

в) фундаментальные дисциплины.

10. Важнейшим звеном любого биотехнологического процесса является:

а) аппаратура, энергообеспечение;

б) технология, аппаратура;

в) биообъект, питательная среда.

Тема 2. ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Методы получения и клонирования генов

Цель занятия: изучить основные задачи генной инженерии, узнать способы получения генов, ознакомиться с ферментами и векторами, применяемыми в технологии получения рекомбинантных ДНК; ознакомиться с технологией получения рекомбинантной молекулы ДНК, изучить метод электрофорезного анализа ДНК в агаровом геле и основные этапы полимеразной цепной реакции.

Контрольные вопросы:

1. Дайте понятие о генной инженерии и охарактеризуйте историю ее развития.
2. Перечислите основные направления и задачи генной инженерии.
3. Перечислите способы получения генов.
4. Какие методы введения генов в бактериальные клетки существуют?
5. Дайте понятие, что такое вектор. Перечислите типы и общие свойства векторов.
6. Дайте понятие рестриктазам и охарактеризуйте их значение в генной инженерии.
7. Технология получения рекомбинантной ДНК (ферментативный синтез).
8. В чем сущность электрофорезного анализа ДНК в агаровом геле.
9. Метод блот-гибридизации ДНК по Саузерну.
10. Дайте понятие секвенированию ДНК и перечислите способы его проведения.
11. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее применение в практике.

Теоретическая часть

Генетическая инженерия – это конструирование *in vitro* функционально активных генетических структур (рекомбинантных ДНК) и наследственно измененных организмов.

Генную инженерию используют для изучения структуры, функций и регуляции генов, также для изучения структуры хромосом. Датой возникновения генной инженерии считается 1972 год, когда в США П. Берг с сотрудниками создали первую рекомбинантную молекулу ДНК, состоящую из фрагмента ДНК обезьяньего вируса SV-40 и бактериофага λ с галактозным опероном *E. coli*.

Таблица 2 - История развития генетической инженерии

Дата	Событие
1	2
1917	Карл Эрки ввел термин «биотехнология»
1920	Ф. Лайбах впервые использовал метод выделения эмбрионов для получения гибридов
1924	Г.Д. Карпеченко скрестил редьку и капусту и впервые получил фертильное потомство от растений разных родов
1936	Внедрен в практику биореактор (ферментер и аппарат культивирования)
1943	Произведен пенициллин в промышленном масштабе

1	2
1944	Освальд Эвери, Колин Маклауд и Маклин Маккарти показали, что генетический материал представлен ДНК
1952	У. Хайс описал плазмиду как внехромосомный фактор наследственности
1953	Джеймс Уотсон и Френсис Крик определили структуру молекулы ДНК
1961	Учрежден журнал «Biotechnology and Bioengineering»
1960	Сиверо Очоа и Артур Корнберг выделили фермент ДНК-полимеразу
1961-1966	Расшифрован генетический код
1962	Хар Гобинд Корана синтезировал химическим способом функциональный ген. Дж. Гердон осуществил первое клонирование животного организма (лягушка)
1970	Выделена первая рестриктирующая эндонуклеаза
1972	Х. Г. Корана и др. синтезировали полноразмерный ген тРНК
1973	Стенли Коэни Герберт Бойер положили начало технологии рекомбинантных ДНК, пересадили ген лягушки в бактериальную клетку
1975	Георг Кёлер и Цезарь Мильштейн описали получение моноклональных антител (Нобелевская премия 1984 г.)
1976	Изданы первые руководства, регламентирующие работы с рекомбинантными ДНК
1976	Разработаны методы определения нуклеотидной последовательности ДНК
1978	Фирма Genentech выпустила человеческий инсулин, полученный с помощью <i>E.coli</i>
1981	Разрешен к применению в США первый диагностический набор моноклональных антител
1982	Разрешена к применению в Европе первая вакцина для животных, полученная по технологии рекомбинантных ДНК
1983	Для трансформации растений применены гибридные Ti-плазмиды
1983	Получено первое ГМ растение (табак)
1986	Кэри Мюллис разработал метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Нобелевская премия 1993 г.)
1990	В США утвержден план испытаний генной терапии с использованием соматических клеток человека
1994-1995	Опубликованы подробные генетические и физические карты хромосом человека
1996	Ежегодный объем продаж первого рекомбинантного белка (эритропоэтина) превысил 1 млрд долл.
1997	Клонировано первое млекопитающее из дифференцированной соматической клетки
2000	Первое полное картирование генома растения <i>Arabidopsisthaliana</i>
2003	Стэндфордский и Калифорнийский университеты. Расшифрован геном человека, содержащий приблизительно 30 тысяч генов
2004	Корейские ученые. Проведено лечение травмы спинного мозга с помощью стволовых клеток
2006	У. Шинь-Чжи. Получены светящиеся поросята
2016	Р. Дилли. Разработан метод удлинения теломер
2017	Немецкие ученые создали ГМ искусственную кожу, которая применяется для лечения буллезного эпидермолиза
2018	Корейские ученые клонировали обезьян с использованием ядер эмбриональных фибробластов

1	2
2018-2019	В Корее родились первые в мире геномодифицированные люди (с отредактированными генами)
2022	Консорциум Telomere-to-Telomere Была представлена полная последовательность генома человека, которая содержит 3,055 млрд пар оснований, включая 151 миллион пар оснований (Mb), или 8 % от всей длины человеческой ДНК, которые до сих пор оставались непрочитанными
2022	И.Е. Рослон, А. Джапаридзе, Ф. Алижани записали звук, издаваемый бактериями
2022	Ученые Гренландии Выделена ДНК возрастом более 2 млн лет
2023	Японские ученые Появились мышата, полученные от двух самцов без генетического материала самок е
2023	МакотоСаито и соавторы обнаружили аналог бактериальной системы для редактирования генома <i>CRISPR-Cas</i> у эукариот
2023	Великобритания впервые в мире разрешила терапию на основе <i>CRISPR</i>

Способы получения генов:

- 1) рестрикционный (выделение генов из ДНК);
- 2) химический синтез;
- 3) ферментативный синтез;
- 4) химико-ферментативный синтез.

Методы введения генов в бактериальные клетки:

- 1) трансформация;
- 2) трансфекция;
- 3) трансдукция.

Рестриктирующие эндонуклеазы (рестриктазы) – это ферменты, способные разрезать молекулу ДНК в строго определенных местах с образованием липких концов. Рестриктазы были открыты в 1968 году.

Например, рестриктаза *E. coli* под названием *EcoRI* узнает последовательность и разрезает ее на участках, помеченных стрелками. В результате кольцевая молекула ДНК станет линейной. По краям молекулы образуются липкие концы, с одной стороны – ААТТ, с другой – ТТАА. При наличии липких концов молекула ДНК может опять замкнуться в кольцо. Рестриктазы могут узнавать различные последовательности нуклеотидов.



Соединение разрывов цепей ДНК после обработки рестриктазами производится ферментом *лигазой*.

Векторы и их использование для переноса генетического материала

Вектор – это молекулы ДНК, которые способны переносить чужеродные гены и обеспечивать их репликацию в клетке-хозяине. К числу векторов относят плазмиды, бактериофаги, вирусы животных.

Типы векторов:

1. Векторы для клонирования.
2. Экспрессионные векторы.
3. Векторы для трансформации.

Общие свойства вектора:

1. Должен иметь свойство репликаона.
2. Должен иметь сайты рестрикции, т.е. участки узнавания для рестриктаз. При этом места разрезания и введения другой ДНК не должны влиять на репликацию вектора.
3. Должен иметь один или несколько маркирующих генов, по которым его можно обнаружить.
4. Должен содержать специфические для данной клетки промоторы и терминаторы транскрипции.

Задание 1. Заполнить таблицу 3.

Таблица 3 – Основные этапы развития генетической инженерии

Год	Автор	Содержание открытия

Задание 2. Зарисовать таблицу 4.

Таблица 4 – Некоторые рестриктазы, образующие фрагменты с липкими концами

Фермент	Узнаваемый участок (5'...3')	Могут соединяться с фрагментами, образованными
<i>Ava I</i>	Ц↓(Пу) ЦГ (Пи)Г	<i>Sal I Xho I Xma I</i>
<i>Bam HI</i>	Г↓ГАТЦЦ	<i>Bgl III Mbo I</i>
<i>Bgl II</i>	А↓ГАТЦТ	<i>Bam HI Mbo I</i>
<i>Eco RI</i>	Г↓ААТТЦ	
<i>Eco RII</i>	↓ЦЦАГГ	
<i>Eco RI*</i>	↓ААТТ	<i>Eco RI</i>
<i>Hpa II</i>		<i>Tag I</i>
<i>Sal</i>		<i>Ava I Xho I</i>
<i>Tag I</i>		<i>Hpa II</i>
<i>Xho I</i>		<i>Ava I Sal I</i>
<i>Xma I</i>		<i>Ava I</i>

Задание 3. Получить ген молекулы белка, состоящего из последовательности аминокислот (по индивидуальным заданиям).

Задание 4. Найти рестриктазу из таблицы 4, которая может разрезать молекулу ДНК в определенной точке, и указать, на каком участке ДНК данная рестриктаза произведет разрыв (по индивидуальным заданиям).

Технология получения рекомбинантной ДНК.

Полимеразная цепная реакция.

Рекомбинантные ДНК – это искусственно созданные молекулы ДНК, включающие ген и вектор.

Ферментативный способ получения рекомбинантной ДНК

Система для ферментативного синтеза генов представляет собой раствор, в котором содержатся все 4 нуклеотида, ионы магния, фермент обратная транскриптаза и матричная РНК, на которой будет синтезироваться ДНК. Для конструирования рекомбинантной ДНК необходим ряд ферментов:

1. *Рестрикциионные эндонуклеазы* – находят и разрезают молекулы ДНК в сайтах с определенными последовательностями, которые узнает только определенная рестриктаза.

2. *Обратная транскриптаза (ревертаза)*, которая осуществляет синтез ДНК на матрице РНК.

3. *ДНК-полимераза* – катализирует синтез ДНК на матрице ДНК.

4. *ДНК-лигаза* – склеивает молекулы ДНК, образуя связи между дезоксирибофосфатами нуклеотидов.

5. *Терминальная трансфераза* – досинтезирует к концам двойной спирали ДНК пуриновые или пиримидиновые нуклеотиды.

6. *Эндонуклеаза фага* – отщепляет однонитчатые концы 3' - конца двойной спирали ДНК.

7. *Нуклеаза* – сокращает двойную спираль ДНК с обоих концов.

Полученный ген не содержит интронов, промоторов и других элементов, регулирующих генную активность. Такие гены подключаются к промоторам прокариот и экспрессируются в прокариотах.

Для введения рекомбинантной ДНК в клетку клетка должна быть компетентной, компетентности можно добиться при использовании $CaCl_2$ и теплового удара. Для облегчения проникновения ДНК в клетку бактерий их обрабатывают *лизоцимом*, который гидролизует мукопептиды, входящие в состав клеточной стенки бактерий. Клетки эукариот обрабатывают ферментами, которые разрушают полисахариды оболочки. Также для облегчения проникновения ДНК в клетку эукариот используют *диэтиламиноэтилдекстран* и *полиэтиленгликоль*. Клетки дрожжей обрабатывают солями лития или электроимпульсами. Введение рекомбинантной ДНК в клетку называется **трансформацией**. Организмы, содержащие фрагменты чужеродной ДНК, называют **трансгенными**.

Задание 5. Зарисовать схему получения рекомбинантной ДНК и записать основные этапы.

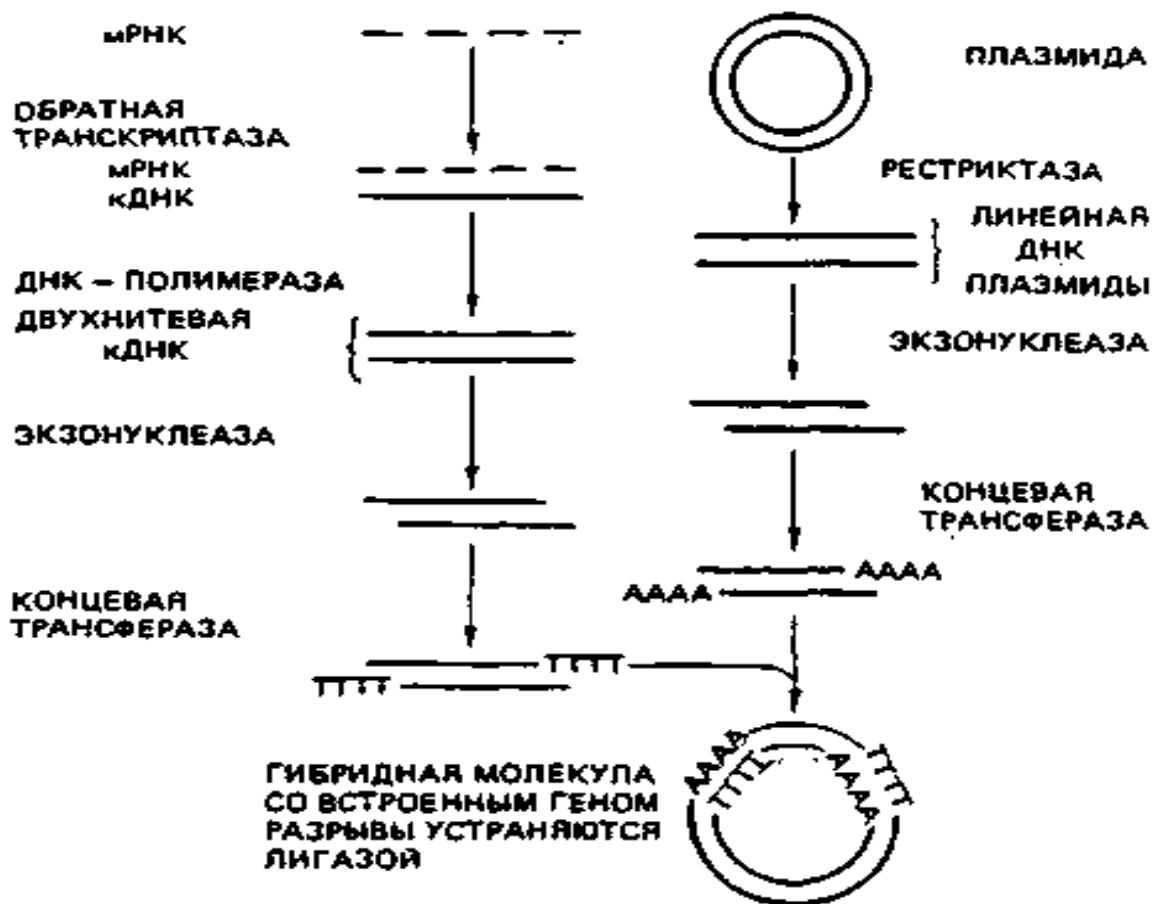


Рисунок 2 – Схема ферментативного синтеза гена (по В.Л. Петухову и др.)

Метод электрофорезного анализа ДНК в агаровом геле:

1. ДНК обрабатывают *рестриктазами* и помещают в лунки застывшего агарового геля, который затем помещается в камеру для электрофореза.
2. Под действием электрического поля фрагменты ДНК начинают перемещаться в геле, скорость их перемещения зависит от длины фрагмента. Короткие фрагменты движутся быстрее, при этом цепочки ДНК различной длины отделяются друг от друга, но не повреждаются.
3. После электрофореза гель окрашивают красителем *этидиум бромидом*, который связывается с ДНК.
4. Гель помещают под ультрафиолетовый свет, и на нем хорошо видны окрашенные в красный цвет светящиеся фракции ДНК.

В результате электрофорез позволяет разделить, а затем извлечь любые фрагменты ДНК в чистом виде.

Секвенирование ДНК – это определение последовательности нуклеотидов в фрагменте ДНК. В результате секвенирования определяется также аминокислотная последовательность белка в соответствии с нуклеотидной последовательностью в соответствующем гене.

Используются 2 метода:

- 1) *химическое секвенирование*;
- 2) *ферментативное секвенирование* путем терминации цепи.

Полимеразная цепная реакция – современный метод молекулярной биологии, который разработан *Кэри Мюллисом* (Нобелевская премия в 1993 году). Использование ПЦР позволяет *амплифицировать* (размножить) ДНК или ее фрагменты *in vitro*, увеличивая число копий в миллионы раз за несколько часов.

Полимеразно-цепная реакция протекает в 3 стадии:

1. *Денатурация*. Смесь, в которой содержится ДНК, нагревают до температуры 90° С. В течение 15 секунд происходит разрушение слабых водородных связей между нитями ДНК и образуется 2 одноцепочечных ДНК из одной двухцепочечной.

2. *Гибридизация праймеров*. Температуру снижают до 50°С. При этом происходит гибридизация цепей ДНК с праймерами в течение 30 секунд.

3. *Полимеризация*. Смесь с ДНК нагревают до температуры 70°С. При этом Таг-полимераза удлиняет оба праймера с их 3'-концов. Праймеры дорастают до размеров матрицы. Процесс протекает 90 секунд и в результате количество ДНК удваивается. Фермент Таг-полимераза был выделен из термофильных бактерий и отличается устойчивостью к высоким температурам. За 20 циклов амплификации количество копий ДНК возрастает в 10^6 . ПЦР-реакция происходит в специальном приборе – *амплификаторе*.

Этот метод позволяет получать точные данные по структуре генов и фрагментов ДНК при наличии минимального количества материала, используется для диагностики наследственных болезней человека, при дактилоскопии и идентификации индивидуумов, для направленного получения мутаций.

Биотехнология получения инсулина, гормона роста и интерферона

Получение инсулина. Инсулин – гормон поджелудочной железы, регулирующий углеводный обмен и поддерживающий нормальный уровень глюкозы в крови. Недостаток данного гормона в организме приводит к одному из тяжелых заболеваний – сахарному диабету, который как причина смерти стоит на третьем месте после сердечно-сосудистых заболеваний и рака.

Традиционно для получения инсулина используется поджелудочная железа крупного рогатого скота и свиней, которая не используется в мясной промышленности и поставляется на фармацевтические предприятия, где проводят экстракцию гормона. Для получения 100 г кристаллического инсулина необходимо 800-1000 г исходного сырья.

В 1978 г. появилось сообщение о получении штамма кишечной палочки, продуцирующего крысиный проинсулин (США). В этом же году были *синтезированы отдельные цепи человеческого инсулина* посредством экспрессии их синтетических генов в клетках *E. Coli*.

Синтез соматотропина – гормона роста (ГР). Соматотропин секретируется передней долей гипофиза. Впервые он был выделен в 1963 г. из гипофиза. Его недостаток приводит к заболеванию – гипофизарной карликовости. Обычно его получают из гипофиза животных на мясокомбинате, но в недостаточном количестве. Гормона хватает лишь для лечения 1/3 случаев гипофизарной карликовости и лишь в развитых странах. Основные производители – Швеция,

Италия, Швейцария и США. Молекула гормона роста человека состоит из 191 аминокислотного остатка.

В настоящее время гормон роста синтезируют методами генетической инженерии в специально сконструированных клетках бактерий *E. Coli*. Впервые синтез гормона роста осуществлен в 1979 г. Д. Гедделем с сотрудниками. Для этого клонировали двунитевую к-ДНК; далее путем расщепления получали последовательность, кодирующую аминокислотный порядок гормона, за исключением первых 23 аминокислот, и синтетический полинуклеотид, соответствующий аминокислотам от первой до двадцать третьей, со стартовым АТГ-кодоном в начале. Затем два фрагмента объединяли и подстраивали к паре *lac*-промоторов и участку связывания рибосом. Конечный выход гормона составил 2,4 мкг на 1 мл культуры, что составляет 1000 000 молекул гормона на клетку.

Получение интерферона. Было установлено, что клетки животных, подвергнутых воздействию вируса, выделяют в среду фактор, способный придавать свежим клеткам устойчивость к вирусной инфекции. Он препятствовал (интерферировал) размножению вирусов в клетке и в силу этой способности был назван *интерфероном*. Интерферон был открыт в 1957 г. в Национальном институте медицинских исследований в Лондоне как факторы устойчивости к вирусной инфекции.

Известно три группы интерферонов:

1. α (альфа-интерфероны, α -И), образующиеся при воздействии вирусов на лейкоциты.

2. β (бета-интерфероны, β -И), появляющиеся при воздействии вирусов на фибробласты.

3. λ (гамма-интерфероны, λ -И), продуцируемые Т-лимфоцитами в ответ на воздействие бактериальными и вирусными антигенами или антисыворотками против поверхностных детерминант лимфоцитов.

Интерфероны широко используются для лечения различных тяжелых заболеваний – острого вирусного гепатита, рассеянного склероза, остеосаркомы, миеломы, ряда опухолей гортани, легких и мозга.

Обычно их извлекают из крови человека и животных (из 1 л крови можно выделить всего 1 мкг интерферона, т. е. одну дозу для инъекции). С этой целью культура данных клеток индуцировалась вирусом Сендай, после чего интерферон выделяли с помощью хроматографических колонок, заполненных моноклональными антителами против получаемого интерферона. Из всех видов интерферонов для мирового производства наиболее пригоден β -И. Фибробласты, получаемые из тканей плода, можно поддерживать в культуре клеток, что дает возможность массового производства.

Вышеперечисленные методы получения интерферонов характеризуются низким выходом, высокой стоимостью и недостаточной чистотой препарата. Наиболее перспективный метод – *биосинтез интерферонов с помощью генетически сконструированных микроорганизмов*. ДНК, полученные обратным транскрибированием, были клонированы в *E. Coli*.

Метод состоит из следующих элементов:

1) ген интерферона от человека встраивают в векторную ДНК;

2) присоединяют к нему бактериальные регуляторные элементы, программирующие его транскрипцию и трансляцию в бактериальной клетке.

Задание 6. Решение задач по генной инженерии.

Задание 7. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь.

Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	

1. Генная инженерия – это:

а) метод создания рекомбинантных или гибридных ДНК;

б) метод, основанный на выделении и культивировании тканей и клеток высших организмов;

в) изменение первичной структуры ДНК в конкретном ее участке, что, в конечном счете, приводит к изменению фенотипа биологического объекта, используемого в биотехнологических процессах;

2. Первым химически синтезированным геном был ген:

а) тирозиновой тРНК;

б) аланиновой тРНК;

в) лейциновой тРНК.

3. Ферменты, нарезающие ДНК на фрагменты, носят название:

а) лигазы;

б) трансферазы;

в) рестриктазы.

4. Молекула, которую предполагается использовать в качестве вектора, должна обладать способностью к:

а) трансформации;

б) транспозиции;

в) трансдукции.

5. Первый синтезированный группой Кораны ген оказался неработоспособным, так как не содержал участков:

а) интрона и экзона;

б) промотора и терминатора;

в) репликона и праймера.

6. Генная инженерия зародилась в:

а) 1970 г.;

б) 1982 г.;

в) 1972 г.

7. Какие генетические структуры используются в качестве векторов:

а) плазмиды, бактериофаги, вирусы животных;

б) лигазы, нуклеазы;

в) рестриктазы, эндонуклеазы.

8. Рестрикция – это:

а) введение бактериальных плазмид в бактериальную клетку;

- б) разрезание ДНК ферментом рестрикционной эндонуклеазой;
 - в) введение бактериальных плазмид в бактериальную клетку.
9. Определение последовательности нуклеотидов в фрагменте ДНК:
- а) секвенирование;
 - б) денатурирование;
 - в) полимеризация.
10. Стадии полимеразно-цепной реакции:
- а) денатурация, гибридизация, полимеризация;
 - б) трансформация, трансдукция;
 - в) секвенирование, транспозиция.

Задание 8. Просмотр и обсуждение видеофильма по генной инженерии.

Тема 3. МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Цель занятия: освоить методику трансгеноза – переноса генов и получения трансгенных животных; изучить основные аспекты государственного регулирования генно-инженерной деятельности.

Контрольные вопросы:

1. Дать определение понятиям: «трансгеноз», «трансгенное животное».
2. Какие способы получения трансгенных животных существуют?
3. Перспективы использования трансгенных животных.

Теоретическая часть

Под *переносом чужеродного гена* понимают пересадку *in vitro* рекомбинантной конструкции гена в клетки другого животного вне зависимости от его видовой принадлежности.

Трансгеноз – это перенос генов.

Трансгенные животные – это животные, которые получены в результате переноса в их геном чужеродных генов от других видов животных или человека. Гены, которые используются для переноса, выделяют из определенного генома или синтезируют искусственно.

Если рекомбинантная конструкция гена интегрировалась в геном другого животного, то такой ген обозначается как **трансген**.

Кодируемый трансгеном белок носит название **трансгенного продукта**.

Если животные передают трансгены своим потомкам, то образуются родственные группы трансгенных животных (растений), или **трансгенные линии**.

Основные направления исследований для получения трансгенных животных:

1. Создание новых пород с повышенным содержанием некоторых компонентов.
2. Создание животных, которые способны синтезировать несвойственные их виду белки (например, свиньи, которые могут продуцировать интерферон человека).

3. Создание трансгенных животных-доноров при трансплантации органов человеку.

4. Производство продуктов, предназначенных для человеческого терапевтического использования (фармацевтические продукты или ткани для имплантации).

5. Для обогащения или улучшения взаимодействия животных и человека (гипоаллергенные домашние животные).

Методы переноса генов:

1) метод микроинъекции в пронуклеус зиготы;

2) метод использования липосом и ретровирусов в качестве векторов;

3) метод прокалывания и высокоскоростной механической инфекции;

4) метод использования сперматозоидов (самопроизвольное поглощение экзогенной ДНК, введение ДНК в сперматозоиды, введение в семенные каналы взрослых животных);

5) метод использования трансформированных эмбриональных стволовых клеток.

Стадии получения трансгенных животных:

1. Создание генной конструкции (выбор, получение и клонирование чужеродного гена).

2. Введение клонированного гена в ядро оплодотворенной яйцеклетки путем микроинъекции гена в мужской пронуклеус.

3. Имплантация оплодотворенных яйцеклеток с экзогенной ДНК в реципиентную женскую особь.

4. Отбор потомков, развившихся из имплантированных яйцеклеток, которые содержат клонированный ген во всех клетках.

5. Селекция модифицированных организмов. Скрещивание животных, несущих клонированный ген в клетках зародышевой линии, и получение новой генетической линии.

Трансгенные животные:

- мыши с генами гормона роста крысы, ген был введен в виде раствора и состоял из 353 нуклеотидов, вектором была рекомбинантная плазмида. В результате был получен 21 потомок, у 7 мышей был обнаружен чужеродный ген, живая масса их была в 1,8 раза больше, чем обычных;

- трансгенные овцы с генами крупного рогатого скота, которые продуцируют с молоком *химозин* крупного рогатого скота. Это фермент, который применяется при производстве твердого сыра. Обычно его получали из экстракта ткани желудка новорожденных телят;

- кролики, коровы и свиньи с геном гормона роста человека;

- трансгенные животные, продуцирующие с молоком лекарственные вещества (факторы свертываемости крови против гемофилии; тканевой активатор плазминогена, применяемый при лечении венозных тромбов и поражении легочной артерии; человеческий белок С для предотвращения образования тромбов; моноклональные антитела для лечения рака);

- трансгенные куры, устойчивые к вирусу лейкоза, у которых в клетках экспрессировался белок вирусной оболочки;

- на территории Республики Беларусь создано стадо коз-производителей (НПЦ НАН Беларуси по животноводству), изучены биологические свойства рекомбинантного лактоферрина, доказана его идентичность природному человеческому (Белорусский государственный университет, Институт мясо-молочной промышленности НАН Беларуси, Институт физиологии НАН Беларуси, Белорусский государственный медицинский университет; Институт генетики и цитологии НАН Беларуси), в Белорусском государственном университете организовано опытное лабораторное производство лактоферрина человека, выделяемого из молока трансгенных коз.

Задание 1. Составить схему получения трансгенных животных с помощью ретровируса (рисунок 3).

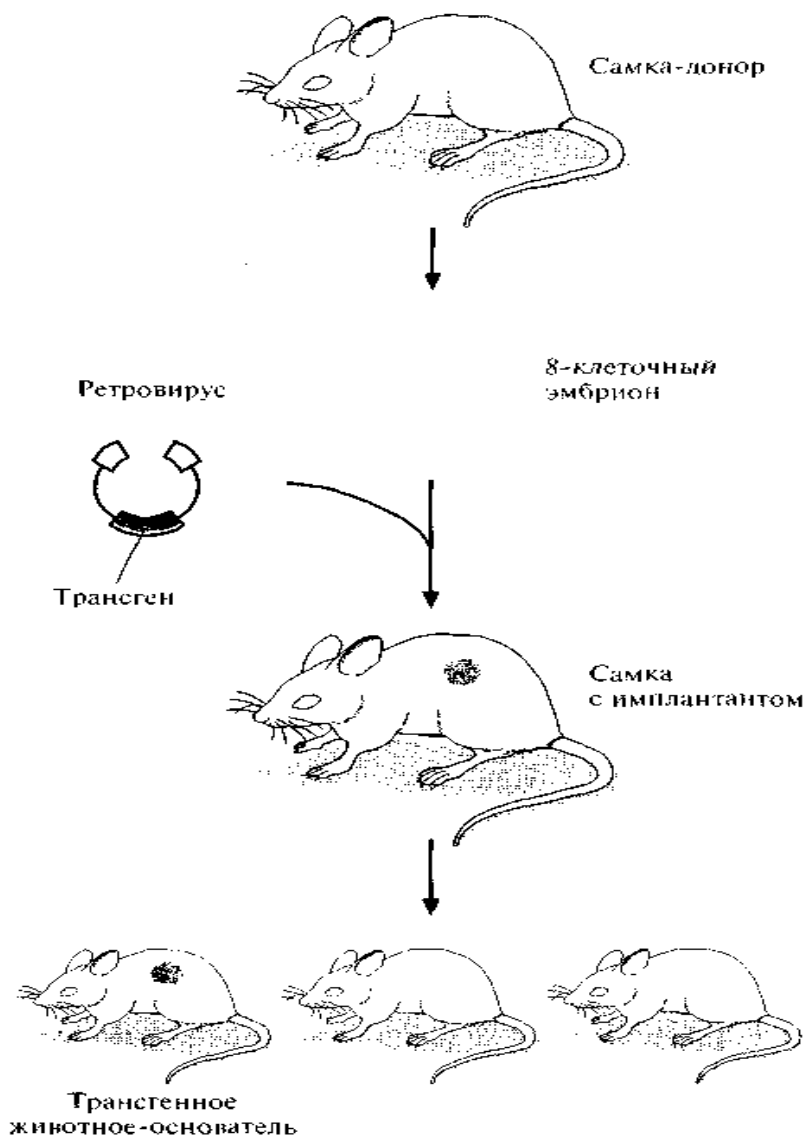


Рисунок 3 – Получение трансгенных животных с помощью ретровируса (По Б. Глику, Дж. Пастернаку)

Задание 4. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь. Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	
...10	

1. Животные, полученные в результате переноса в их геном чужеродных генов от других видов животных или человека:

- а) химерные;
- б) клонированные;
- в) трансгенные.

2. Кодированный трансгеном белок носит название:

- а) клонированный продукт;
- б) трансгенный продукт;
- в) гибридный продукт.

3. Установите последовательность этапов создания трансгенных животных: а) введение клонированного гена в ядро оплодотворенной яйцеклетки путем микроинъекции гена в мужской пронуклеус; б) выбор, получение и клонирование чужеродного гена; в) имплантация оплодотворенных яйцеклеток в реципиентную женскую особь; г) селекция модифицированных организмов; д) отбор потомков, развившихся из имплантированных яйцеклеток.

- а) а, б, д, в, г;
- б) б, а, в, д, г;
- в) а, б, в, г, д.

4. В чем Вы видите преимущество биотехнологии перед селекцией?

- а) создание организмов с ранее не существовавшими комбинациями признаков;
- б) создание трансгенных организмов, обладающих нужными свойствами, требует гораздо меньше времени и позволяет получать организмы с заданными хозяйственно ценными признаками, а также обладающие свойствами, не имеющими аналогов в природе;
- в) в биотехнологии используются микроорганизмы, которые обладают высокой продуктивностью и выращиваются на дешевых субстратах.

5. ГМО (генетически модифицированные, они же трансгенные организмы) получают путем:

- а) гибридизации различных организмов;
- б) встраивания в ДНК модифицируемого объекта фрагмента ДНК другого организма;
- в) транслокации генов из одной хромосомы в другую.

6. Животные, которые осуществляют синтез некоторых несвойственных им белков, называются животными -

- а) паразитами;
- б) индикаторами;
- в) биореакторами.

7. Ученые используют силу трансгенных растений, бактерий и животных для:

а) создания материала клеток при трансплантации и производства лекарственных средств;

б) гибридизации клеток;

в) исследования экспрессии генов, создания желаемых генных продуктов или поощрения ценных черт.

8. Назовите основные виды сельскохозяйственных животных, для которых получены трансгенные формы:

а) крупный рогатый скот, овцы, кролики, свиньи, куры;

б) овцы, козы, собаки, кошки;

в) мыши, овцы, кролики, индейки.

9. Если животные передают трансгены своим потомкам, то образуются:

а) трансгенные организмы;

б) трансгенные линии;

в) трансгенные формы.

10. Под переносом чужеродного гена понимают:

а) пересадку *in vitro* рекомбинантной конструкции гена в клетки другого животного вне зависимости от его видовой принадлежности;

б) получение точных копий взрослых особей, обладающих особыми качествами;

в) искусственное объединение с помощью микрохирургических манипуляций клеток двух (и более) животных, относящихся к разным породам и даже видам.

ТЕМА 4. КЛЕТочНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Цель занятия: усвоить методы культивирования и гибридизации клеток, изучить свойства микроорганизмов, методы селекции промышленных штаммов микроорганизмов.

Контрольные вопросы:

1. Предмет клеточной инженерии. История развития и области применения клеточной инженерии.

2. Дайте понятие о культуре клеток. Подбор и селекция продуцентов.

3. Каково практическое применение культуры клеток животных?

4. Дайте понятие гибридизации соматических клеток.

5. Охарактеризуйте гибридную технологию получения моноклональных антител.

6. Дайте понятие стволовым клеткам. Для чего они используются?

Теоретическая часть

Клеточная инженерия – это метод конструирования клеток нового типа на основе их культивирования, гибридизации и реконструкции.

В основе культивирования растительных клеток лежит свойство **тотипотентности**, благодаря которому соматические клетки растения способны пол-

ностью реализовать наследственную информацию, то есть обеспечить развитие всего растения.

Культуры клеток, приготовленные непосредственно из тканей организма, называются *первичными*. Клетки первичной культуры можно переносить на новые питательные среды и получить *вторичные*, которые можно длительное время перевивать. Клетки на питательных средах сохраняют свойства тех тканей, из которых были получены.

Клетки человека и животных выращивают на специальных средах в виде суспензии или монослоя на стекле. Культивирование проводят при температуре 37°C и рН 6,8-7,5. Клетки растений можно культивировать на жидких и твердых питательных средах.

Подбор продуцентов и методы их селекции:

В настоящее время в промышленности применяют *три вида штаммов*:

1. Природные штаммы.
2. Штаммы, измененные в результате индуцированных мутаций.
3. Штаммы, полученные методами генной или клеточной инженерии.

Требования к микроорганизмам:

1. Растить на дешевых и доступных субстратах.
2. Обладать высокой скоростью роста биомассы и давать высокую продуктивность целевого продукта при экономичном потреблении питательного субстрата.
3. Проявлять направленную биосинтетическую активность при минимальном образовании побочных продуктов.
4. Быть генетически однородными.
5. Быть устойчивым к посторонней микрофлоре.
6. Быть безвредными (не обладать патогенными свойствами) для людей и окружающей среды.
7. Целевой продукт биосинтеза должен иметь экономическую и народно-хозяйственную ценность и легко выделяться из сброженного субстрата.

Задание 1. Изучить таблицу 5.

Таблица 5 – Микроорганизмы и получаемые от них продукты

Продуцент	Продукт
<u>Дрожжи</u>	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Этанол, глицерин
<i>Kluveromyces fragilis</i>	Этанол
<i>Kl. iactis</i>	Этанол
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Этанол
<i>Candida lipolytica</i>	Лимонная, изолимонная, пировиноградная кислоты
<u>Бактерии</u>	
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Ацетон, бутанол
<i>Cl. thermohydrosulfuricum</i>	Этанол, уксусная, молочная кислоты
<i>Cl. thermosaccharoliticum</i>	Глюкоза, ксилоза, этанол, уксусная кислота
<i>Cl. auranticum</i>	Изопропандиол
<i>Cl. thermoacticum</i>	Уксусная кислота
<i>Cl. propionicum</i>	Пропионовая, акриловая кислоты

Продуцент	Продукт
<i>Xanthomonas campestris</i>	Полисахариды
<i>Zymomonas mobilis</i>	Этанол, сорбит, глюконовая кислота
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i>	Этанол, уксусная, молочная кислоты
<i>Dunaliella sp.</i>	Глицерин
<i>Aerobacter aerogenes</i>	2, 3 – бутандиол
<i>Bacillus polymyxa</i>	2, 3 – бутандиол
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Молочная кислота
<i>Acetobacter aceti</i>	Уксусная кислота
<u>Микромицеты</u> (плесневые грибы)	
<i>Aspergillus niger</i>	Лимонная, щавелевая кислоты
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Пенициллин
<i>As. oryzae</i>	Ферментные препараты (амилаза)
<i>As. awamori</i>	Ферментные препараты (пектиназа)
<i>Yarrowia lipolitica</i>	Ферментные препараты (липаза)

Практическое применение культуры клеток животных

1. Используются в научно-исследовательской работе.
2. Для получения вирусных препаратов.
3. Для создания материала клеток при трансплантации.
4. Для синтеза физиологически активных веществ.
5. Для получения иммунорегулирующих, неспецифических активных веществ, медицинских препаратов.
6. Для изучения токсичности препаратов, применяемых в медицине, ветеринарии и биологических исследованиях.

Гибридизация соматических клеток

К клеточной инженерии относится ***исоматическая гибридизация***, т. е. слияние соматических клеток лишенных оболочек, и получение гибридных клеток с хромосомными наборами неродственных видов. С помощью данного метода создают, например, межвидовые гибриды растений и животных, которые нельзя получить путем обычного скрещивания.

Соматическая гибридизация имеет важные ***особенности***:

- 1) данному процессу доступны практически любые скрещивания;
- 2) слияние клеток способствует объединению цитоплазматических генов родительских клеток, чего не бывает при скрещивании половых клеток.

В дальнейшем оказалось, что частота гибридизации соматических клеток повышается при введении в культуру клеток РНК-содержащего вируса парагриппа Сендай, который как и все вирусы, изменяет свойства клеточных мембран и делает возможным слияние клеток. Кроме вируса Сендай используют полиэтиленгликоль и электрическое поле.

При изучении межвидовых гибридных клеток было сделано два очень важных наблюдения: в гибридах могут проявиться оба генома; в долгоживущих межвидовых гибридах элиминируются хромосомы одного вида.

Гибридная технология получения моноклональных антител

Примером практического применения метода гибридизации соматических клеток является создание гибридом.

Гибридомы образуются в результате слияния лимфоцитов, взятых от иммунизированных животных, с клетками миеломы костного мозга, культивируемые *in vitro*.

Подобно раковым клеткам, они способны неограниченно долго делиться на искусственных питательных средах (т. е. они «бессмертны») и, подобно лимфоцитам, могут вырабатывать *моноклональные (однородные) антитела (МКА)* определенной специфичности.

Впервые была описана в 1975 году английскими учеными Георгом Кёлером и Цезарем Мильштейном.

Методы получения гибридом:

1. Этапы получения гибридом на основе иммунизированных лимфоцитов и миеломных клеток:

- получение миеломных клеток, погибающих при последующей селекции гибридомных клеток;
- получение лимфоцитов, которые продуцируют антитела к заданным антигенам;
- слияние миеломных клеток с лимфоцитами при помощи нарушающего мембраны агента;
- скрининг (селективный отбор) гибридных клеток и проверка способности гибридомных клеток продуцировать МКА к заданному антигену;
- клонирование гибридомных клеток и получение массовых культур гибридомных клеток.

2. Метод основан на получении антител путем инъекции полученной гибридомы в брюшную полость мыши или крысы.

В брюшной полости мыши или крысы гибридома реплицируется и вызывает образование асцитной опухоли (скопления клеток, плавающих в жидкости, заполняющей брюшную полость). Жидкость, выделенная из этой мыши, представляет суспензию, содержащую антитела. Клетки и белки, не относящиеся к МКА, удаляются. Оставшийся материал представляет собой антитела, которые и используют.

Задание 2. Переписать использование моноклональных антител.

Использование моноклональных антител (МКА)

- Совершенствование диагностики инфекционных, аутоиммунных, аллергических, врожденных и других заболеваний.
- Изучение эпидемиологии заболеваний.
- Усовершенствование вакцин.
- Раскрытие механизма дифференцировки тканей.
- Изучение патогенеза и иммунологии заболеваний.
- Расшифровка механизма иммунного ответа.

- Лечение инфекционных и онкологических заболеваний.
- Определение пола у крупного рогатого скота.

Задание 3. На основании схемы получения гибридом записать основные этапы их получения.

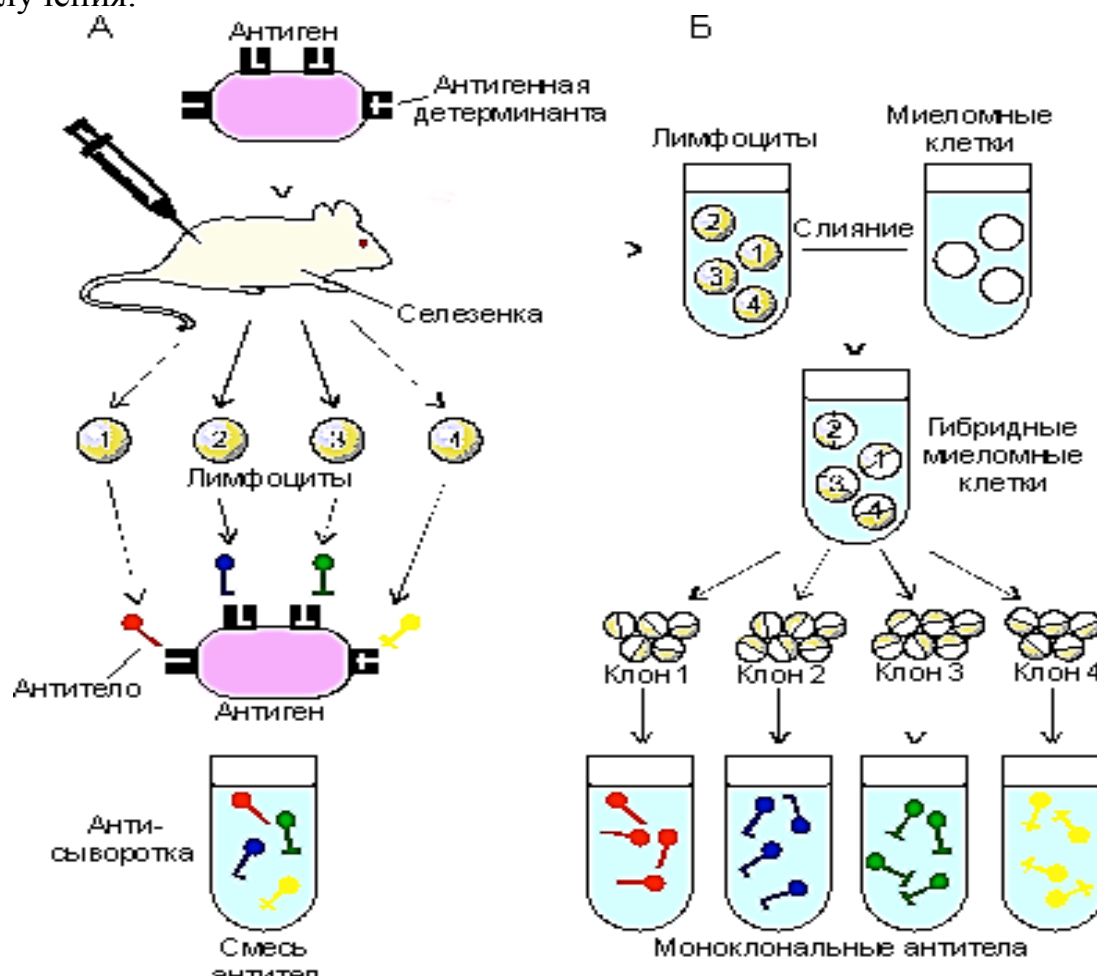


Рисунок 4 – Схема получения гибридом (<https://studfiles.net/html> Стволовые клетки (СК)

Стволовые клетки – популяция клеток-предшественников, обладающих высоким пролиферативным потенциалом и способностью к дифференцировке в клетки обычно нескольких линий: в организме – в любые клетки данного органа, в эмбрионе – в любую клетку организма.

Они могут превращаться в один из 350 возможных типов клеток тканей. При этом они не входят в какую-либо тканевую структуру и сами непосредственно не выполняют каких-либо функций, а хранятся в состоянии покоя в специальных нишах до востребования.

Стволовые клетки – это незрелые клетки живых организмов, каждая из которых способна дифференцироваться. К ним относятся плюрипотентные (омнипотентные) и мультипотентные (бластные) стволовые клетки. Конечными элементами являются зрелые юнипотентные клетки тканей организма.

Созревание стволовых клеток проходит в несколько стадий. В результате, в организме имеется ряд популяций стволовых клеток различной степени зрелости.

В нормальном состоянии чем более зрелой является клетка, тем меньше вероятность того, что она сможет превратиться в клетку другого типа. Стволовые клетки можно выделять и выращивать в питательной среде, свойственной для данной ткани органа. Способность давать множество разнообразных клеточных типов (плюрипотентность) делает стволовые клетки важнейшим восстановительным резервом в организме, который используется для замещения удаленных в процессе операции пораженных участков органов искусственно выращенными.

Стволовые клетки могут использоваться для лечения и профилактики определенных заболеваний, применяться в генной и клеточной инженерии.

Обнаружить стволовые клетки можно по определению специфических белков, с помощью иммуногистохимического метода. На каждый белок получают антитела, которые метят флюоресцирующим красителем. Такой реагент выявляет белки, присутствующие в стволовых клетках на разных стадиях развития.

Задание 4. Дать определение терминам, используемым при культивировании.

Таблица 6 – Перечень основных терминов, которые используются при культивировании растительных и животных клеток

Время генерации клетки	In vitro
Время удвоения популяции	Культура эксплантов
Дедифференциация	Линия
Дифференциация	Популяция клеток
Дифференцировка	Редифференциация
Инокулом (трансплант)	Слияние изолированных протопластов
Каллус	Соматональные вариации и варианты
Клеточная селекция	Соматическая (парасексуальная) гибридизация
Клон	Субкультивирование
Культура каллусных тканей	Тотипотентность
Культивирование изолированных протопластов	Цикл выращивания Штамм

Задание 5. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь.

Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	
...10	

1. Метод конструирования клеток нового типа на основе их культивирования, гибридизации и реконструкции:

- а) эмбриогенетическая инженерия;
- б) клеточная инженерия;
- в) генная инженерия.

2. Культуры клеток, приготовленные непосредственно из тканей организма, называются:
- перевиваемые;
 - первичные;
 - вторичные.
3. Слияние соматических клеток, лишенных оболочек, и получение гибридных клеток с хромосомными наборами неродственных видов:
- соматическая гибридизация;
 - гибридная технология;
 - половая гибридизация.
4. Особенности соматической гибридизации:
- доступны любые скрещивания, слияние клеток способствует объединению цитоплазматических генов родительских клеток, чего не бывает при скрещивании половых клеток;
 - в долгоживущих межвидовых гибридах элиминируются хромосомы одного вида;
 - данному процессу препятствуют механизмы репродуктивной изоляции.
5. Свойство, благодаря которому соматические клетки растения способны полностью реализовать наследственную информацию:
- полипотентность;
 - плюрипотентность;
 - тотипотентность.
6. Гибридная клеточная линия, полученная в результате слияния клеток двух видов, способных к образованию антител:
- моноклональные антитела;
 - гибридомы;
 - соматические клетки.
7. Популяция клеток-предшественников, обладающих способностью к дифференцировке в клетки обычно нескольких линий:
- стволовые клетки;
 - соматические клетки;
 - половые клетки.
8. Откуда получают эмбриональные стволовые клетки?
- из плацентарной крови;
 - из внутренней клеточной массы бластоцисты;
 - из пуповинной крови.
9. Для получения культур тканей обычно используют:
- моноклональные антитела;
 - эмбрионы или организмы взрослых животных;
 - соматические клетки, лишенные оболочек.
10. Откуда получают фетальные стволовые клетки?
- из абортивного материала;
 - из бластоцисты;
 - из пуповинной крови.

ТЕМА 5. ПОЛУЧЕНИЕ КЛОНИРОВАННЫХ И ХИМЕРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Цель занятия: освоить методику клонирования, пересадки ядер, получения клонированных животных, изучить методы получения химерных животных разными способами.

Контрольные вопросы:

1. Дать определения понятиям «клон», «клонирование», «тотипотентность».
2. Клонирование эмбрионов. Диссекция эмбрионов.
3. Клонированные животные и перспективы их использования.
4. Дать определение понятиям «химера», «химерное животное».
5. Перечислите и охарактеризуйте способы получения внутривидовых и межвидовых животных-химер.
6. Каковы перспективы использования химерных животных?

Теоретическая часть

Клон – это группа генетически идентичных клеток или организмов, которые получены в результате деления одной клетки-предшественника. В настоящее время *цель клонирования* заключается в получении точных копий взрослых особей, обладающих особыми качествами (высокой продуктивностью, устойчивостью к заболеваниям и др.).

Таблица 7 – История клонирования

Год	Ученые, страна	Событие, животное
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
1902	Ганс Шпеманн, Германия	разделение раннего эмбриона саламандры
1952	Роберт Бриггс и Томас Кинг, США	головастики
1962	Дж. Гердон, Англия	лягушки
1963	Тун Дичжоу (Tong Dizhou), Китай	азиатский карп
1981-1983	Дж. Мак Грат и Д. Солтер	мыши
1985	Слепцова Л. А., Дабагян Н. В., Газарян К. Г., СССР	костные рыбы
1986	Стин Вилладсен, Дания Нил Ферст (Neal First), Рэндал Прэзер (Randal Prather), Уиллард Айстоун (Willard Eyestone), США	корова
1988	С. Стик и Дж. Робл, США	кролик
1994	Нил Фёрст, США	генетические копии телят из эмбриональных клеток

Продолжение таблицы 7

Год	Ученые, страна	Событие, животное
1984	Стин Вилладсен (Steen Willadsen), Дания	овца (методпересадкиядра)
1995	Франция	крысы
1995	Иэн Уилмут (Ian Wilmut) и Кит Кэмпбелл (Keith Campbell) Шотландии	овцы Меган и Мораг
1997	лаборатория Дона Вольфа (Don Wolf) Орегонского регионального центра по изучению приматов	две макаки-резус
1997	группа ученых во главе с Яном Вильмутом, Шотландия	овца Долли
2000	группа ученых во главе с Яном Вильмутом, Шотландия	свинья
2001	компания Advanced Cell Technology, Inc.	бык-гаур по кличке Ноа (первое клонированное животное, относящееся к вымирающим видам)
2002	США	котенок
2003	Техас, США,	белохвостые олени
2003	Италия	лошадь – кобыла породы хафлингер
2004	компания Advanced Cell Technology, США	бантенг
2005	Южная Корея	афганская борзая Снуппи
2005	Китай	индийский буйвол
2006	США	хорек
2009	Дубай (ОАЭ)	верблюды
2011	США	койот
2018	США	макака-крабоед
2020	США	черноногий хорек
2020	США	лошадь Пржевальского
2022	Китай	арктический волк
2024	Китай	макака-резус

Термин «генно-клеточная инженерия» появился на рубеже 1970-1975 годов. В это время *Бесквит Р.* впервые выделил ген. Благодаря этому стало возможным после удаления гаплоидного ядра из яйцеклетки лягушки введение в нее диплоидного ядра соматической клетки, взятой из кишечной стенки головастика. После электростимуляции деления яйцеклетки получают нормальное развитие зародыша и потомство исходной особи.

Работа по клонированию ведется по трем направлениям:

1. Пересадка ядер соматических клеток в энуклеированную яйцеклетку.

2. Получение гомозиготных диплоидных потомков.
3. Создание партеногенетических животных.

Методы получения клонированных животных:

1. Пересадка ядра соматической клетки в яйцеклетку, из которой удалено собственное ядро.

2. Разделение эмбрионов крупного рогатого скота в возрасте до 7-8 дней, не имеющих дифференцированных клеток, на части (2-4) с последующей пересадкой реципиенту.

В 1997 году в Великобритании методом пересадки ядра соматической клетки в энуклеированную яйцеклетку Я. Вильмут получил овцу, которую назвали Долли. Клонирование было проведено путем ядерного переноса. Реципиентная яйцеклетка одной овцы была подвергнута удалению ядра. У другой овцы, находящейся на четвертом месяце беременности, из клеток кожи вымени было выделено ядро с хромосомной ДНК, которое пересадили в реципиентную яйцеклетку без генетического материала. Было взято беременное животное потому, что в этом случае клетки вымени активно делятся. После слияния некоторые клетки начали активно делиться, после доращивания *in vitro* эмбрион был имплантирован овце-реципиенту. В результате на свет появился ягненок, которого назвали Долли, она была похожа на овцу, у которой взяли ядро для пересадки.

Научная новизна данного эксперимента заключается в том, что впервые ученым Шотландии удалось заставить соматическую клетку животного превратиться в зародышевую.

Задание 1. Изучить таблицу 8.

Задание 2. На основании рисунка 5 написать основные этапы получения клонированных животных.

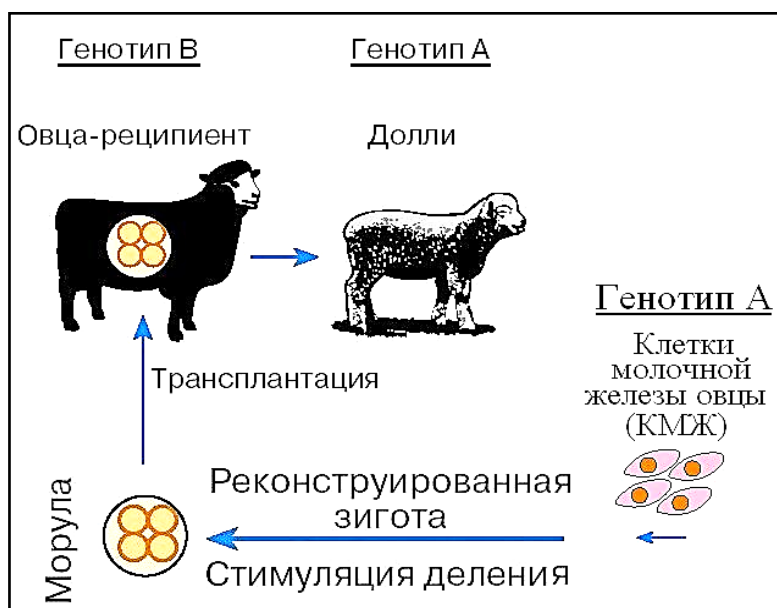


Рисунок 5 – Схема получения овцы Долли (по Я. Вильмуту)

Химерные животные

Понятие *химера* (греч. *Chimaira*) означает составное животное.

В животноводстве известны искусственные химеры как внутривидовые, так и межвидовые. Сущность биотехнологического метода получения химер заключается в искусственном объединении с помощью микрохирургических манипуляций эмбриональных клеток двух (и более) животных, относящихся к разным породам и даже видам.

Способы получения химер

1. Инъекционный. Получение химерных животных путем объединения бластомеров из эмбрионов *одного вида*. С этой целью получают сложные химерные эмбрионы овец объединением 2-, 4-, 8-клеточных эмбрионов. Каждый сложный объединенный эмбрион состоит из равного числа бластомеров эмбрионов 2-8 родителей. Пересадку внутренней клеточной массы каждого донора (бластомеры) путем инъекции переносят внутрь бластоцисты реципиентов.

2. Агрегационный. Слияние клеточной массы двух или нескольких эмбрионов внутри одной зоны пеллюцида. Метод состоит в том, что 8-клеточные эмбрионы инкубируют в среде с протеолитическим ферментом, переваривающим оболочку яйцеклетки. Освобожденные от оболочек эмбрионы соприкасаются между собой, в результате чего их клетки сливаются и перемешиваются.

В Германии получены агрегационные химерные животные после соединения половинок 5-6-дневных эмбрионов от коров-доноров швицкой и голштинской пород крупного рогатого скота. Из семи полученных телят два сочетали в своем фенотипе характерную масть двух исходных пород – бурую и чернопеструю. В США получены химеры овцы пород рамбулье и финский ландрас (Дж. Батлер и др. 1985). Из 15 полученных ягнят только у 5 методом анализа групп крови подтвердился химеризм.

Животные-химеры несут в себе признаки обоих эмбрионов, то есть являются потомками не двух, а четырех родителей. В 1993 году такой четырехродительский химерный теленок был получен в результате слияния эмбрионов двух подвидов крупного рогатого скота *Bos Taurus* и *Bos indicus*. Но при иммунологическом анализе у него был обнаружен эритроцитарный антиген, характерный для подвида *Bos Taurus*.

Свои особенности наблюдаются и при получении межвидовых гибридов. Межвидовые химеры – эмбрионы после пересадки эмбрионов приживляются лишь в 10 % случаев. Примером получения межвидовых химер в животноводстве служат *овцекозы*, сочетающие признаки овцы и козы (К. Файл и др., 1994; С. Майнике-Тилмани, Б. Майнике, 1994). Ученые из Орегонского национального центра изучения приматов создали первых в мире химерных обезьян. Организмы этих трех животных, нормальных и здоровых, состоят из смеси клеток с шестью разными геномами.

Химерные животные не передают потомству характерную для них генетическую мозаичность, у потомков происходит расщепление, в результате чего нарушаются ценные генетические комбинации.

Задание 3. На основании рисунка записать основные этапы получения химер.



**Рисунок 6 – Получение химер (генетических мозаиков)
(по Ю.А. Горбунову)**

Задание 4. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь.

Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	
...10	

1. Многочисленное потомство одной исходной особи, имеющее идентичный генотип:

- а) чистая линия;
- б) клон;
- в) химера.

2. Первое клонированное животное:

- а) змея;
- б) лягушка;
- в) овца.

3. Возможно ли клонирование вымершего животного:

- а) да;
- б) нет.

4. Является ли клон точной копией оригинала?

- а) зависит от того какие клетки клонируются;
- б) да;
- в) нет, это не так.

5. Что из этого нельзя считать клонированием?

- а) выращивание целого растения от одного фрагмента;

- б) размножение грибов с помощью спор;
 - в) все это считается клонированием.
6. Составное животное, несущее признаки одного или более родителей:
- а) клон;
 - б) химера;
 - в) монозиготные близнецы.
7. Способы получения химер:
- а) пересадка ядра соматической клетки в яйцеклетку, из которой удалено собственное ядро;
 - б) разделение эмбрионов крупного рогатого скота в возрасте до 7-8 дней, не имеющих дифференцированных клеток;
 - в) инъекционный, агрегационный.
8. Какие ядра использовал Дж. Гердона в своих экспериментах:
- а) ядра клеток кишечника головастика;
 - б) ядра клеток фибробластов кожи мышей;
 - в) эпителиального ядра клеток молочной железы овцы.
9. Инъекционный метод получения химер заключается в:
- а) объединении бластомеров из эмбрионов одного вида;
 - б) слиянии клеточной массы двух или нескольких эмбрионов внутри одной зоны пеллюцида;
 - в) инкубировании эмбрионов в среде с протеолитическим ферментом.
10. Агрегационный метод получения химер заключается в:
- а) пересадке внутренней клеточной массы донора (бластомеры) путем инъекции внутрь бластоцисты реципиентов;
 - б) объединении эмбриона из равного числа бластомеров эмбрионов 2-8 родителей;
 - в) слиянии клеточной массы двух или нескольких эмбрионов внутри одной зоны пеллюцида.

ТЕМА 6. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ПРОИЗВОДСТВО ЦЕЛЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Цель занятия: изучить основные способы получения антибиотиков, аминокислот, кормовых дрожжей и витаминов.

Контрольные вопросы:

1. Как классифицируются антибиотики? Продуценты антибиотиков.
2. Каково значение антибиотиков для животноводства и ветеринарии?
3. Какие биотехнологические методы производства антибиотиков существуют?
4. Перечислите и охарактеризуйте способы получения минокислот.
5. Какие аминокислоты используются в пищевой промышленности и животноводстве?
6. Биотехнология производства белка. Белок одноклеточных организмов.
7. Перспективы применения белковых продуктов в сельскохозяйственном производстве.

8. Перечислите и охарактеризуйте основные методы культивирования грибов, используемых в качестве источника белка.
9. Перечислите этапы глубинного выращивания кормовых дрожжей.
10. Охарактеризуйте этапы промышленного получения препаратов витаминов В₂ и В₁₂.

Теоретическая часть

Антибиотики – это группа высокоэффективных биологически активных веществ, которые синтезируются микроорганизмами и способны убивать или подавлять рост живых клеток.

Использование антибиотиков в сельском хозяйстве

1. Антибиотики применяются для лечения животных и птиц.
2. Кормовые антибиотики используются для кормления животных и птиц.
3. Применяются антибиотики в растениеводстве для борьбы с болезнями растений, используются в качестве гербицидов, инсектицидов и имеют ряд преимуществ перед химическими препаратами.
4. Антибиотики применяются также в пищевой промышленности для консервирования продуктов питания, для сохранения свежего мяса, молока, рыбы и т. д.

Классификация антибиотиков

1. По источнику получения

Природные	Полусинтетические	Синтетические
продуцируемые микроорганизмами – бактериями, грибами, актиномицетами, клетками высших и низших растений и млекопитающих (пенициллин)	получаемые при модификации природных структур в 2 этапа (природные + синтетические) (ампициллин, оксациллин)	созданы путем химических реакций (хинолоны – левофлоксацин, моксифлоксацин)

2. По типу действия

Бактерицидные – вызывают гибель инфекционного агента	Бактериостатические – прекращают или приостанавливают размножение возбудителя
пенициллин цефалоспорины аминогликозиды полимиксины	макролиды тетрациклины линкомицины хлорамфеникол

3. По спектру действия

Узкого спектра действия	Широкого спектра действия
-------------------------	---------------------------

Методы получения антибиотиков:

1. **Химический синтез** (с помощью этого метода получают основные синтетические антибиотики).

2. *Биосинтез* – прямая ферментация микроорганизма – продуцента (используются штаммы микроорганизмов, синтезирующие наибольшее количество антибиотиков).

3. *Мутационный биосинтез* (мутасинтез) – применяются блокированные мутанты, у которых отсутствует или заблокировано определенное звено в цепи реакций, ведущих к синтезу антибиотиков. Блокированные мутанты не способны образовывать нужный антибиотик. Используя низкую субстратную специфичность ферментов вторичного метаболизма и вводя аналоги предшественников антибиотиков, последние переводят в аналоги самого антибиотика в ходе процесса мутагенеза.

Основные пути поиска новых антибиотиков:

1. Испытание новых продуцентов.
2. Химическая модификация антибиотиков.
3. Мутасинтез – испытание мутантных штаммов.
4. Клеточная инженерия – получение гибридных антибиотиков.
5. Генетическая инженерия – введение в геном микроорганизмов информации о ферменте, необходимом для синтеза антибиотика.

Задание 1. Изучить этапы технологии производства неочищенных антибиотиков.

Этапы технологии производства неочищенных антибиотиков

1. Посуду, инструменты, материалы стерилизуют, используя для этой цели автоклав. В него закладывают стеклянную посуду, затем герметически закрывают и проводят стерилизацию водяным паром в течение 30-45 минут. Наиболее эффективным способом стерилизации рабочего бокса является ультрафиолетовое облучение его бактерицидной лампой в течение 60 минут.

2. Для размножения гриба используют его исходную культуру, расфасованную в стеклянные флаконы. Для расплодки посевного материала производят посев грибка в колбу над пламенем спиртовой горелки. Колбы с посевным материалом ставят на специальную качалку для лучшей аэрации с целью более интенсивного роста грибка при температуре от 26 до 28°C на 18-24 часа.

3. Переносят посевной материал в большие бутылки и вновь помещают на качалку и подвергают встряхиванию при температуре 26-28°C в течение 18-24 часов.

4. Производят загрузку расплодки гриба и необходимых компонентов питательной среды в специальные реакторы для ферментации.

При изготовлении кормового нативного антибиотика ферментация протекает 24-36 часов. Через каждые 6-12 часов из ферментатора отбирают пробу для проверки антибиотика на активность. В процессе развития грибка в ферментаторе скапливаются газообразные продукты его жизнедеятельности, которые удаляются через шланг.

5. По окончании процесса ферментации антибиотиков культуральную жидкость *проверяют на активность* преимущественно следующими микробиологическими методами:

- *методом перпендикулярных штрихов на агаре.* Для этого вырезанную в питательной среде канавку заполняют средой с антибиотиком. Перпендикуляр-

но канавке засевают различные виды микроорганизмов. Длина белых полосок указывает на неодинаковую чувствительность микробов к антибиотику;

- *методом бумажных дисков*. Для этого на питательную среду, засеянную микробами, накладывают диски из фильтровальной бумаги, пропитанные антибиотиком. В центре наложен диск без антибиотиков (контрольный). Вокруг диска с антибиотиками роста микроорганизмов не наблюдается (зона угнетения);
- *методом цилиндриков*. Для этого в питательную среду, засеянную бактериями, погружают стеклянные или металлические незапаянные цилиндрики, которые заполняют антибиотиками. Ширина зоны угнетения вокруг цилиндриков указывает на антимикробные свойства антибиотиков.

Антибиотики выпускаются в жидком и сухом виде. После проверки на активность их расфасовывают в соответствующую посуду и этикетировывают. Каждая серия антибиотиков обязательно снабжается наставлением о способе их использования.

Задание 2. Переписать нормы введения антибиотиков (таблица 8).

Таблица 8 – Нормы введения антибиотиков (г) на 1 т корма

Вид животных	<i>Бацитрацин</i>	<i>Гризин</i>	<i>Тетрациклин</i>
Телята: 1-12 месяцев	40	4	40
13-18 месяцев	20	2	20
Молодняк овец	30	3	30
Свиньи на откорме	20	2,5	20
Поросята-отъемыши (1-4 мес.)	20	2,5	20
Поросята-сосуны	50	5	40

Биотехнология получения аминокислот

Составные части белка – аминокислоты – человек и высшие животные могут синтезировать лишь ограниченно, некоторые из них являются незаменимыми, т.е. они или не синтезируются в организме, или синтезируются с недостаточной скоростью. К незаменимым аминокислотам относятся *валин, лизин, лейцин, изолейцин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин*. Часто к незаменимым относят *гистидин*, для молодняка также незаменимым является *аргинин*.

Способы получения аминокислот:

1. *Гидролиз природного белоксодержащего сырья*. При гидролизе белоксодержащее сырье (отходы пищевой и молочной промышленности) нагревают с растворами кислот или щелочей при 100-105°C в течение 20-48 часов. Чаще всего используют 20 % р-р HCl. Минусы – частичное разрушение некоторых аминокислот.

2. *Химический синтез*. Химический синтез - высокопродуктивные процессы, позволяющие с высоким выходом производить отдельные аминокислоты. Су-

ществительный минус – получение целевых продуктов в виде рацемической смеси D- и L-изомеров.

3. *Микробиологический синтез*. Микробные клетки способны синтезировать белки из отходов сельскохозяйственного и промышленного производства. Высокий выход и устойчивое содержание белков, могут быстро наращивать белковую массу.

4. *Химико-микробиологический метод* (биотрансформация предшественников аминокислот). Применяется *биотрансформация предшественников аминокислот*, предварительно полученных химическим путем, с помощью иммобилизованных клеток микроорганизмов или выделенных из них ферментов.

Аминокислоты в большом количестве используются в пищевой промышленности, являются вкусовыми добавками, дезодорантами пищевых продуктов, пищевыми красителями, консервирующими агентами и т. д.

1. *Глицин* – подсластитель, антиоксидант, бактериостатик.

2. *Аспарагиновая кислота* – усилитель вкуса, сырье для синтеза аспартама.

3. *Глутаминовая кислота* – усилитель вкуса, препарат для лечения психических заболеваний.

4. *Гистидин* – противовоспалительное средство.

5. *Метионин* – пищевая и кормовая добавки.

6. *Цистеин* – фармацевтический препарат.

7. *Треонин* и *триптофан* – пищевые и кормовые добавки.

8. *Фенилаланин* – сырье для получения аспартама.

9. *Лизин* – пищевая и кормовая добавка, сырье для получения искусственных волокон и пленок.

Аминокислоты применяются в животноводстве для сбалансирования кормов. При добавлении 2-4 дефицитных аминокислот к 1 т комбикорма общий расход кормов уменьшается на 10-20 %, а выход продукции увеличивается на 20 %. Аминокислоты используются в растениеводстве (могут ускорять или замедлять рост растений, используются в качестве средств защиты).

Задание 3. Зарисовать таблицу 9.

Таблица 9 – Содержание незаменимых аминокислот в различных белках (в г на 100 г белка)

Аминокислоты	Молоко коровы	Эталон ФАО	Соя	Горох	Рис	Пшеница	Кукуруза	Ячмень
Лизин	6,6	4,2	6,6	6,5	3,5	2,6	2,5	3,2
Триптофан	1,4	1,4	1,3	0,8	1,3	1,3	0,6	1,2
Метионин	2,4	2,2	1,4	1,4	2,9	1,7	2,1	1,7
Треонин	4,6	2,8	3,8	3,8	3,5	2,6	3,2	2,9
Валин	6,9	4,2	5,4	4,5	6,5	4,6	4,4	5,4
Лейцин	9,9	4,8	7,9	6,5	8,0	6,9	11,2	7,2
Изолейцин	6,6	4,2	5,3	5,0	4,6	3,4	2,7	3,5
Фенилаланин	4,9	2,8	5,1	4,8	5,2	4,3	4,1	5,1

Задание 4. Изучить таблицу 10.

Таблица 10 – Содержание незаменимых аминокислот в белках некоторых микроорганизмов (в граммах на 100 г белка)

Аминокислота	Микроорганизмы				
	дрожжи	водоросли	бактерии	грибы	актиномицеты
Валин	5-7	5-7	4-6	5-7	5,5
Лейцин	6-9	6-10	5-11	6-9	7,7
Изолейцин	4-6	4-7	5-7	3-6	5,3
Треонин	4-6	3-6	4-5	3-6	4
Метионин	1-3	1,5-2,5	2-3	2,5	1,3
Лизин	6-8	5-10	6-7	3-7	6,4
Фенилаланин	3-5	3-5	3-4	3-6	5
Триптофан	1-1,5	до 2	1,5	1,5-2	1,4

Производство белка

Для получения кормового белка используются дрожжи, бактерии, микроскопические грибы, одноклеточные водоросли, различные почвенные беспозвоночные – дождевые черви и др. Белок одноклеточных организмов (БОО) – это белок дрожжей, водорослей. Кормовые водоросли: хлорелла, сценедесмус, спирулина. Водоросли выращивают в открытых или закрытых культиваторах, товарный продукт приготавливают в виде порошка, суспензии или пасты.

Задание 5. Переписать название и механизм действия белковых препаратов, аминокислот и заменителей белка, применяемых в животноводстве.

Белковые препараты, применяемые в животноводстве

Глобулины неспецифические - представляют собой водный раствор глобулиновой фракции белка сыворотки крови животных. Прозрачный раствор. Содержит γ - и β -глобулины. Белковый препарат.

Действует стимулирующе, ускоряет рост и развитие животных.

Применяют для ускорения развития молодняка животных и предупреждения желудочно-кишечных заболеваний. Препарат назначают внутримышечно с первых дней жизни.

Дозы для ускорения роста и развития (на 1 кг живой массы): телятам – 0,7 мл, ягнятам и поросятам – 1 мл; с профилактической целью применяют: телятам – 0,5 мл, ягнятам – 0,7, поросятам – 2мл.

Метионин - белый кристаллический порошок, растворимый в воде. Получают синтетически. Метионин – незаменимая аминокислота, постоянно присутствующая в организме.

Действие: участвует в обмене веществ, обезвреживании в организме ядов и продуктов обмена, синтезе многих гормонов и витаминов.

Применяют для ускорения роста и развития свиней.

Дозы внутрь: поросятам – 0,15 г на 1 кг живой массы.

Мочевина (карбамид) – белый кристаллический порошок, хорошо растворимый в воде. Выпускают для кормовых целей в полиэтиленовых мешках, а для лечебных – во флаконах по 30 г, 60 и 90 г. К каждому флакону прилагается флакон с 10-процентным раствором глюкозы для получения 30-процентного раствора мочевины.

Является заменителем кормового протеина в рационе жвачных животных. В преджелудках жвачных животных бактерии рубца превращают белковый и небелковый азот рациона, в том числе азот мочевины, в аммиак, который затем используется для синтеза белка бактериальной клетки. В кишечнике бактерии перевариваются и белок усваивается организмом.

Действует мочегонно. В больших дозах мочевина токсична. Токсичность обуславливается образованием в рубце жвачных животных больших количеств аммиака. Избыток его не успевает утилизироваться в печени, поступает в кровяное русло и действует как сильный яд.

Применяют в качестве подкормки при недостатке протеина в рационе жвачных. Ежедневное применение бычкам по 60-70 г мочевины с рационом, богатым грубыми кормами, дает хорошие привесы при их выращивании. На рационе, богатом кукурузой, бычки могут усваивать до 100 г мочевины в сутки и давать хороший привес. Лактирующим коровам ее можно назначать до 1 % от всего рациона или до 3 – от массы концентратов.

Белки микроскопических грибов

Мицелий микроскопических грибов является ценным источником белка. Сырьем для промышленного выращивания микроскопических грибов служат растительные отходы, содержащие клетчатку, гемицеллюлоза, лигнин. При этом одновременно решаются *две проблемы*:

1. Получение белковой массы.
2. Утилизация отходов растениеводства, деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности.

В настоящее время используются атоксичные быстрорастущие штаммы мезо- и термофильных грибов для промышленного культивирования из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*. По сравнению с дрожжами белки микроскопических грибов отличаются повышенным содержанием аминокислот и лучшей усвояемостью. Вместе с тем в биомассе грибов значительно меньше, чем в дрожжах, синтезируется белков (20-60 % от сухой массы) и у них относительно медленнее происходит рост биомассы (удвоение биомассы через 8-16 часов, тогда как у дрожжей - через 2-3 часа).

Для ускорения роста грибов проводится предварительная обработка растительного сырья, повышающая доступность его компонентов для утилизации микроорганизмами (кислотно-щелочной способ обработки, отпаривание под давлением, обработка аммиаком и каустической содой).

После такой обработки происходит полное или частичное разложение трудногидролизуемых полисахаридов и лигнина. Это обеспечивает ускоренный рост грибной массы и сокращает сроки промышленного культивирования грибов (до 7-8 суток).

Основные методы культивирования грибов:

I. Метод твердофазной ферментации, который включает:

1. Измельчение и обработку растительного сырья парами воды и аммиака.
2. Обогащение этого сырья минеральными веществами.
3. Посев и выращивание мицелия грибов в заданном режиме аэрации и поддержания определенной температуры.

Уровень содержания белка в выращиваемой грибной массе - 20-30 % от сухой массы.

II. Метод глубинного культивирования – выращивание грибов на гидролизатах растительных отходов и жидких отходах деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности. Содержание белков в грибной массе до 50-60 % от сухой массы.

Также практикуется совместное культивирование грибов и бактерий. Наряду с использованием растительных отходов разработаны технологии по переработке в грибной белок торфа, навоза, экскрементов животных.

Грибная белковая масса используется в качестве *кормовой добавки* в значительно большей концентрации, чем кормовые дрожжи. Обычно *при кормлении молодняка* животных допускается введение в кормовые рационы грибного белка в пределах 15-20 % от белка корма, а при кормлении *взрослых животных* возможна замена в корме 50 % растительного белка на грибной.

Кормовые белковые концентраты из растений

Белки вегетативной массы трав и других растений имеют хорошо сбалансированный аминокислотный состав. Они различаются в основном по интенсивности синтеза белков, тогда как аминокислотный состав их белков довольно близок.

Таблица 11 - Содержание незаменимых аминокислот в белках вегетативной массы травянистых растений (г на 100 г белка)

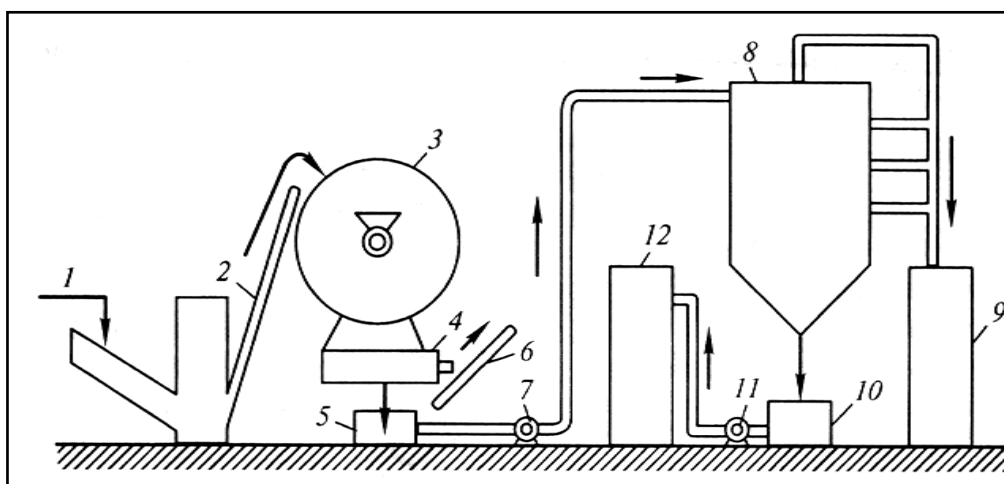
Аминокислота	Белки травянистых растений	Эталон ФАО(эталонный" белок по шкале ФАО/ВОЗ)
Изолейцин	4,5-5,5	4,2
Лейцин	8,8-10,2	4,8
Лизин	5,6-7,3	4,2
Метионин	1,6-2,6	2,2
Фенилаланин	5,5-6,8	2,8
Треонин	4,7-5,3	2,8
Триптофан	1,2-2,3	1,2
Валин	5,9-6,9	4,2

По содержанию всех аминокислот белки трав значительно превышают эталон ФАО, и только лишь некоторый дефицит отмечается по количеству метионина. Наиболее высокую биологическую ценность белков имеют бобовые кормовые травы (80-90 %), несколько ниже биологическая ценность белков у мятликовых трав (75-85 %). Бобовые растения также отличаются более высо-

ким содержанием белков в вегетативной массе (15-25 % от сухой массы), чем мятликовые травы (8-15 %). Особенно много белков содержится в листьях люцерны.

Технология приготовления белковых концентратов из растительной массы путем отжатия сока:

- 1) измельчение растительной массы;
- 2) отжим сока;
- 3) коагуляция сока;
- 4) разделение коагулята на зеленую массу и коричневый сок;
- 5) консервирование белково-витаминной пасты.



- 1 – приемник зеленой массы;
2 – транспортер для подачи зеленой массы в измельчитель;
3 – измельчитель; 4 – пресс для получения растительного сока;
5 – сборник сока; 6 – транспортер для удаления жома;
7 – насос подачи сока в ферментер; 8 – ферментер-коагулятор;
9 – сборник ферментированного сока; 10 – сборник коагулята;
11 – насос подачи коагулята; 12 – сборник коагулята

Рисунок 7 – Технологическая схема получения кормовых белковых концентратов из вегетативной массы растений (по Ю. А. Горбунову)

В результате переработки растительной массы могут быть получены три вида кормов:

1. *Белковый коагулят*, содержащий 12-22 % белков на сухую массу, обычно *скармливают* жвачным животным в зимний период в виде белково-витаминной пасты до 50 % от белка кормового рациона.

2. *Ферментированный коричневый сок*, образующийся после отделения белкового коагулята. Содержит 7-12 % сухого вещества, 1-3 % белков, 1-1,5 % органических кислот, 4-5 % безазотистых экстрактивных веществ (сумма легкоусвояемых углеводов), 1-2 % зольных веществ, 40-50 мг% каротина. Его добавляют в корм сельскохозяйственным животным (свиньям, например, 1,5 л на голову в сутки), также можно перерабатывать в кормовые дрожжи.

3. *Жом*. Используется для кормления животных, в его сухом веществе содержится 12-17 % белков, 3-4 % сырого жира, 8-9 % зольных веществ, 35 % сырой клетчатки.

Обычно для получения белково-витаминной пасты используют листья люцерны, клевера, сахарной свеклы. Белковую массу из листьев сахарной свеклы при соответствующей очистке можно также перерабатывать в пищевой белок.

Задание 6. Зарисовать «Технологическую схему получения кормовых белковых концентратов из вегетативной массы растений».

Дрожжи используются как источник белка для человека и животных. В России первый завод по производству кормовых дрожжей заработал в 1935 году. Дрожжи выращивали на гидролизатах из отходов древесины, которые при гидролизе образуют легкоусвояемые для микроорганизмов формы углеводов.

В качестве исходного субстрата для такого получения кормового белка обычно используются отходы целлюлозной и деревообрабатывающей промышленности, солома, корзинки подсолнечника, льняная костра, стержни кукурузных початков, свекловичная меласса, картофельная мезга, пивная дробина, торф, барда спиртовых производств, отходы молочной промышленности. Для культивирования на гидролизатах растительных отходов наиболее эффективны дрожжи родов *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*. При оптимальных условиях из 1 т отходов хвойной древесины можно получить 200 кг кормовых дрожжей.

Этапы технологии глубинного выращивания кормовых дрожжей в ферментерах:

1. Измельченное растительное сырье, содержащее большое количество клетчатки, подвергается кислотному гидролизу при повышенном давлении и температуре, в результате чего 60-65 % содержащихся в них полисахаридов гидролизуются до моносахаридов.

2. Полученный гидролизат отделяют от лигнина, избыток кислоты, применяемой для гидролиза, нейтрализуют известковым молоком или аммиачной водой.

3. После охлаждения и отстаивания в гидролизат добавляют минеральные соли, витамины и другие вещества, необходимые для жизнедеятельности микроорганизмов.

4. Затем питательная среда подается в ферментерный цех, где дрожжи выращиваются в течение 20 часов. Режим постоянного перемешивания суспензии микробных клеток в жидкой питательной среде и оптимальные условия аэрации.

5. По окончании рабочего цикла культуральная жидкость вместе с находящимися клетками дрожжей выводится из ферментера.

6. Выведенная из ферментера суспензия микробных клеток далее подается на флотационную установку, на которой производится отделение биомассы дрожжей от культуральной жидкости.

7. После отстаивания дрожжевая масса концентрируется при помощи сепаратора. Для достижения лучшей перевариваемости дрожжей в организме животных проводится специальная обработка микробных клеток (механическая,

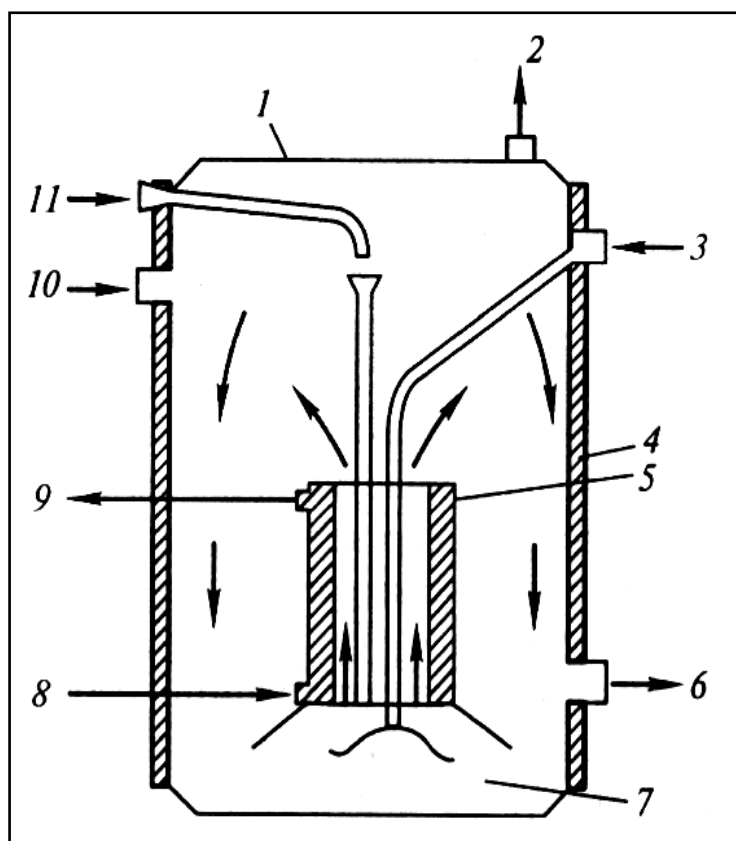
ультразвуковая, термическая, ферментативная), обеспечивающая разрушение их клеточных оболочек.

8. Затем дрожжевая масса упаривается до необходимой концентрации и высушивается, влажность готового продукта не должна превышать 8-10 %.

В сухой дрожжевой массе содержится 40-60 % сырого белка, 25-30 % усвояемых углеводов, 3-5 % сырого жира, 6-7 % клетчатки, витамины.

9. Посредством обработки дрожжей ультрафиолетовыми лучами проводится их обогащение витамином D₂, который образуется из содержащегося в них эргостерина.

10. Для улучшения физических свойств готового продукта кормовые дрожжи выпускают в гранулированном виде.



- 1 – корпус ферментера;
- 2 – выход воздуха в атмосферу через очистительный фильтр;
- 3 – подача воздуха для аэрации и перемешивания питательной среды;
- 4 – охлаждающая рубашка;
- 5 – теплообменник;
- 6 – выход дрожжевой суспензии по окончании ферментации;
- 7 – кювета для направления потока воздуха во внутреннюю полость теплообменника;
- 8 – подача холодной воды в теплообменник;
- 9 – вывод теплой воды из теплообменника;
- 10 – подача посевной культуры;
- 11 – подача жидкой питательной среды

Рисунок 8 – Схема ферментера для выращивания дрожжей (по Ю. А. Горбунову и др.)

Кормовые дрожжи достаточно хорошо перевариваются в организме животных (переваримость белков - 80-90 %), по сумме незаменимых аминокислот близки к эталону ФАО, а по содержанию в белках лизина, треонина, валина и лейцина существенно превышают эталон ФАО, однако белки дрожжей частично не сбалансированы по метионину и в них содержится мало других аминокислот.

На основе ферментации гидролизатов растительного сырья, наряду с производством кормовых дрожжей, получают также *этиловый спирт*. После отгонки спирта остается неиспользованный субстрат – барда, которая используется как питательная среда для выращивания кормовых дрожжей. Таким образом, из гидролизатов растительных отходов одновременно может быть получено два вида ценной продукции.

Для выращивания кормовых дрожжей также используется *молочная сыворотка*, являющаяся производственным отходом при переработке молока. Дрожжеванию подвергается молочная сыворотка без предварительного выделения из нее белков, при этом выращиваются специальные виды кормовых дрожжей из рода *Torulopsis*. На основе *дрожжевания* молочной сыворотки производится три вида кормовых белковых продуктов:

1. Заменитель цельного молока для кормления молодняка сельскохозяйственных животных – «БИО ЗЦМ».
2. Жидкий белковый продукт «Промикс» с содержанием белков в 2,5-3 раза выше, чем в исходной молочной сыворотке.
3. Сухой, обогащенный дрожжевыми белками продукт «Провилакт», применяемый как заменитель сухого обезжиренного молока.

Производство кормовых витаминных препаратов

Витамины входят в состав каталитических центров ферментов. Микробиологическая промышленность выпускает два вида кормовых витаминных препаратов: 1 – кормовой рибофлавин, содержащий *витамин В₂*; 2 – *КМБ₁₂*, имеющий в своем составе витамин *В₁₂*.

Кормовые препараты витамина В₂ (рибофлавин). При недостатке витамина *В₂* наблюдается ослабление окислительно-восстановительных процессов в организме. По нормам кормления этого витамина свиньям требуется не менее 2-7 мг, лошадям и птице – 2-5 мг на 1 кг сухого корма. Много рибофлавина могут синтезировать микроорганизмы – различные виды бактерий, актиномицеты, дрожжевые клетки. Некоторые из них способны накапливать в культуральной среде до 1 мг/мл витамина *В₂*.

В качестве промышленных *продуцентов кормового рибофлавина* используются отселекционированные штаммы дрожжей *Eremothecium ashbyii*. Рибофлавин накапливается в вакуолях дрожжевых клеток и придает культуре характерную желтую окраску. Для производственной ферментации готовятся отдельно жидкая питательная среда и посевной материал культуры дрожжей, выращенный в специальном посевном аппарате.

Питательная среда в необходимых концентрациях включает соевую муку, кукурузный экстракт, мел, гидрол, сахар, K_2HPO_4 , NaCl. Перед подачей в ферментёр она подвергается стерилизации. В качестве посевного материала используются споры *Eremothecium ashbyii*, выращенные на пшене.

Промышленное получение препаратов витамина В₂:

1. Промытое пшено в течение 30-35 минут выдерживается в молочной сыворотке для набухания, затем оно просушивается и расфасовывается по 50-60 г в простерилизованные флаконы. Во флаконах пшено подвергается трехкратной стерилизации, после чего производится его засев водной суспензией спор культуры дрожжей. Флаконы с засеянной культурой в течение 7-8 дней инкубируют при температуре 29-30°C, после чего высушивают в вакуум-сушильной установке и далее направляют для приготовления жидкого посевного материала, который после стерилизации подается в производственный ферментер.

2. Культивирование продуцентов кормового рибофлавина проводится при температуре 28-30°C в течение 72 часов. Через каждые 8 часов ферментации отбираются пробы для контроля за развитием микробных клеток, составом среды и накоплением целевого продукта. Готовая культуральная среда по окончании ферментации должна содержать до 5 % сухих веществ и 1,4 мг/мл рибофлавина.

3. В целях стабилизации витамина в процессе высушивания культуральную жидкость подкисляют соляной кислотой до pH 4,5-5,0, после чего она концентрируется в вакуум-выпарной установке. Полученный концентрат обычно содержит 5,6 мг/мл витамина и 20 % сухих веществ. После выпаривания избытка растворителя концентрат рибофлавина высушивается на распылительной сушилке до влажности 5-10 %, затем смешивается с отрубями или кукурузной мукой и расфасовывается по 20 кг в полиэтиленовые пакеты. В готовом продукте содержится не менее 1 % витамина. Срок хранения сухого препарата - 1 год.

Кормовые препараты витамина B₁₂. Этот витамин стимулирует образование крови в костном мозге, улучшает усвоение белков, участвует в синтезе аминокислот и азотистых оснований. Витамин B₁₂ не содержится в продуктах растительного происхождения, и его единственным источником для сельскохозяйственных животных являются микроорганизмы.

Промышленное получение препаратов витамина B₁₂:

1. Выращивается специально подобранный биоценоз микроорганизмов, осуществляющих термофильное метановое брожение, в которое входят целлюлозоразлагающие, аммонифицирующие, углеводсбраживающие, сульфитвосстанавливающие и метанобразующие бактерии.

2. На первом этапе ферментации этих микроорганизмов в течение 10-12 дней наблюдается бурное развитие термофильных аммонифицирующих и углеводсбраживающих бактерий, которое происходит в слабокислой среде (pH 5,0-7,0). Другие группы бактерий данного биоценоза достигают интенсивного развития при переходе брожения в щелочную фазу (pH 7,0-8,5). Преобладающими в этот период являются метанобразующие бактерии, которые синтезируют в 4-5 раз больше витамина B₁₂, чем другие микроорганизмы биоценоза.

3. Для приготовления питательной среды используется барда, которая очищается от твердых примесей, в нее добавляется хлорид кобальта (4 г/м³) и 0,5 метанола.

4. В процессе культивирования бактерий:

- вначале производится выращивание посевного материала в течение 15-20 дней в аппаратах емкостью 250 м³;

- затем посевной материал подается в ферментеры емкостью 2400 м³, в которых происходит метановое брожение.

5. Свежая барда подается в нижнюю часть ферментера в количестве 25-30% от общего объема в сутки.

6. Отбор метановой бражки, содержащей витамин B₁₂, производится из верхней части ферментера.

7. В целях улучшения физических свойств сухой продукт смешивается с отрубями или кукурузной мукой, расфасовывается по 25-30 кг в полиэтиленовые пакеты и упаковывается в мешки.

Содержание витамина В₁₂ в готовом кормовом препарате составляет 25-30 мг/кг, срок хранения – 1 год. Препарат имеет коммерческое название *КМБ-12* (*концентратно-микробный витамин*). Кроме витамина В₁₂, *КМБ-12* содержит также другие витамины группы В и незаменимые аминокислоты.

Задание 7. Переписать этапы технологии глубинного выращивания кормовых дрожжей.

Задание 8. Изучить технологию производства кормовых витаминных препаратов.

Задание 9. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь.

Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	
...10	

1. К продуктам биотехнологии относят:
 - а) дрожжи, аминокислоты, кормовые белки, антибиотики, витамины;
 - б) вакцины, микроорганизмы, грибы;
 - в) бактерии, актиномицеты, животные клетки;
2. Группа биологически активных веществ, синтезируемых микроорганизмами, способных убивать или подавлять рост живых клеток:
 - а) белки;
 - б) аминокислоты;
 - в) антибиотики.
3. Методы получения антибиотиков:
 - а) глубинного культивирования, биосинтез;
 - б) химический синтез, биосинтез, мутационный биосинтез;
 - в) твердофазной ферментации, глубинного культивирования.
4. Прямая ферментация микроорганизма – продуцента:
 - а) биосинтез;
 - б) химический синтез;
 - в) мутационный биосинтез.
5. Способы получения аминокислот:
 - а) ферментативный синтез, химико-ферментативный синтез; химико-микробиологический метод;
 - б) гидролиз природного белоксодержащего сырья, химический синтез, микробиологический синтез, химико-микробиологический метод;
 - в) биотрансформация предшественников, микробиологический метод, химико-ферментативный синтез.
6. Для получения кормового белка используют:
 - а) кукурузу и соевый шрот, пшеницу, тритикале, ячмень;
 - б) зерно, силос, сенаж, грубые корма;
 - в) дрожжи, бактерии, микроскопические грибы, дождевые черви, водоросли, дрожжи.

7. В качестве промышленных продуцентов кормового рибофлавина используют:

- а) непатогенные штаммы *E. coli M-17*;
- б) штаммы дрожжей *Ermothecium ashbyii*;
- в) бифидобактерии *Bif. bifidum*, *Bif. Infantis*.

8. По источнику получения антибиотики классифицируют:

- а) бактерицидные, бактериостатические;
- б) узкого спектра действия, широкого спектра действия;
- в) получаемые при модификации природных структур, продуцируемые микроорганизмами – бактериями, грибами, актиномицетами, созданные путем химических реакций.

9. По типу действия антибиотики классифицируют:

- а) бактерицидные, бактериостатические;
- б) узкого и широкого спектра действия;
- в) модифицированные природные, продуцируемые микроорганизмами, клетками высших растений и животных, актиномицетами, созданные путем химических реакций.

10. Преимущества кормовых дрожжей:

- а) содержат много труднопереваримых веществ: клетчатки, лигнина, гемицеллюлозы;
- б) хорошо перевариваются, содержат все незаменимые аминокислоты;
- в) сбалансированы по метионину, улучшают микрофлору тонкого отдела кишечника.

ТЕМА 7. ТЕХНОЛОГИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Цель занятия: изучить основные виды ферментных препаратов, применяемых в животноводстве, способы их получения и иммобилизации.

Контрольные вопросы:

1. Дайте понятие энзимологии.
2. В каких областях используются ферментные препараты?
3. В чем заключается положительный эффект от использования ферментов?
4. Производство ферментных препаратов.
3. Какие методы иммобилизации ферментов и их практическое применение?

Теоретическая часть

Важным направлением современной биотехнологии является получение ферментных препаратов на основе культивирования микроорганизмов и использование их в сельском хозяйстве. **Энзимология** – раздел молекулярной биологии и биохимии, изучающий свойства, строение и механизмы действия ферментов. Основная задача инженерной энзимологии состоит в создании новых перспективных технологий на основе использования ферментов.

Ферменты применяются в следующих областях:

- 1) в пищевой промышленности – для производства хлеба, переработки молочных продуктов, осветления соков и др.
- 2) в медицине – для производства лекарственных препаратов;
- 3) в животноводстве – для повышения усвояемости кормов, а также для ускорения процесса силосования и улучшения питательных свойств силоса;
- 4) в растениеводстве – для защиты растений от насекомых – вредителей.

Ферменты – это биокатализаторы, функцией которых является проведение и регуляция химических реакций. Они способны ускорять обменные процессы в организме животных, птиц, свиней, молодняка крупного рогатого скота. Прежде всего, их применение значительно удешевляют корма (до 10%) и улучшают их усвоение в организме.

В зависимости от типа катализируемой реакции все ферменты делятся на 6 классов: 1) оксидоредуктазы; 2) трансферазы; 3) гидролазы; 4) лиазы; 5) изомеразы; 6) лигазы (синтетазы).

Источники получения ферментов.

Ферменты выделяют из клеток всех видов живых организмов, но традиционным источником служат растения. В настоящее время ферменты получают преимущественно из бактерий, так как они примерно в сто раз дешевле ферментов, выделенных из клеток растений и животных.

Высокопродуктивные штаммы микроорганизмов получают благодаря использованию *мутационного процесса* и методов генетической инженерии.

Поскольку растительные корма (зерно, силос, сенаж, грубые корма) содержат много труднопереваримых веществ: клетчатки, лигнина, гемицеллюлозы, то положительный эффект кормовых ферментных препаратов при вводе их в комбикорма для животных и птицы заключается:

- 1) в разрушении стенок растительных клеток, благодаря чему повышается доступность содержащихся в них крахмала, протеина и жиров для воздействия ферментов пищеварительного тракта;
- 2) в повышении переваримости питательных веществ и улучшении их всасывания в тонком отделе кишечника;
- 3) в устранении негативного эффекта антипитательных некрахмалистых полисахаридов, особенно растворимой их части;
- 4) в компенсации дефицита собственных пищеварительных ферментов, особенно на ранних стадиях развития животных и птицы, а также при стрессах, когда выработка собственных ферментов резко снижается;
- 5) в улучшении микрофлоры в тонком отделе кишечника за счет снижения вязкости содержимого кишечника и повышения уровня моносахаридов.

Кормовые ферментные препараты способствуют улучшению производственных показателей в животноводстве и птицеводстве:

- 1) кормовая ценность рационов возрастает на 5-10 % за счет более полного извлечения питательных веществ и высвобождения энергии, повышения усвояемости крахмала, белка, лизина, метионина и липидов на 6-10 %;
- 2) снижается расход кормов на единицу произведенной продукции на 5-14 %;
- 3) возрастает продуктивность животных и птицы на 5-12 %;

4) появляется возможность замены основных дорогих компонентов кормов (кукуруза и соевый шрот) более дешевыми (пшеница, тритикале, ячмень, овес, рожь, подсолнечный шрот, жмых и другие дешевые источники белка и углеводов с повышенным содержанием клетчатки) без снижения продуктивности животных и птицы;

5) существенно снижается уровень кишечных заболеваний животных и птицы, а следовательно, потребность в лекарственных препаратах;

6) уменьшается количество и влажность помета, а также влажность подстилки;

7) улучшается экологическая обстановка окружающей среды за счет более полного усвоения азота и фосфора организмом животных и птицы и снижения таким образом выброса данных веществ в окружающую среду на 20-40 %.

Сухие кормовые ферментные препараты, в отличие от жидких концентрированных форм, можно вводить в сухие премиксы, белково-витаминно-минеральные добавки – в рассыпные комбикорма перед их гранулированием. В кормовые рационы, содержащие в кормовой части преимущественно овес и ячмень, целесообразно включать кормовые *ферментные препараты с высоким содержанием целлюлазы и β -глюканазы* относительно меньшим – *ксиланазы*. В кормовые рационы, содержащие в кормовой части преимущественно пшеницу, рожь и тритикале, необходимо включать кормовые ферментные препараты с высоким содержанием *ксиланазы*, меньшим – *целлюлазы и β -глюканазы*.

Фермент *фитаза* активно катализирует гидролиз фитинового комплекса и существенно увеличивает усвоение органического фосфора комбикорма.

Ферменты кормового назначения получают преимущественно путем микробного синтеза с использованием грибов и бактерий.

Ферменты кормового назначения. Мультиэнзимные (МЭК) кормовые добавки «*Кемзайм*» («Кемзайм W сухой», «Кемзайм Плюс сухой», «Кемзайм сухой ячменный», «Кемзайм HF сухой», «Кемзайм W концентрированный сухой») устойчивы к широкому диапазону pH в пищеварительном тракте животных, к длительному хранению (до 1,5-2 лет), кратковременному высокотемпературному (до +80°C) воздействию при переработке кормов (в частности, при гранулировании), а также к видовым и возрастным особенностям свиней и птицы. 1 кг добавки «Кемзайм» повышает энергетическую ценность кормов в среднем на 490 МДж, что позволяет экономить до 40 кг зерновых. Содержит весь комплекс наиболее значимых для пищеварения ферментов (α -амилазы, β -глюканазы, протеазы, липазы и целлюлазы).

Фекорд 2004 (Fekord-2004) – новая отечественная мультиэнзимная композиция, жидкая или сухая ферментная кормовая добавка. В настоящее время в Республике Беларусь на базе ООО «Фермент» производятся ферментные препараты для всех отраслей животноводства и всех видов и категорий сельскохозяйственных животных. Препараты Фекорд обладают широким спектром действия и рекомендуются к использованию в кормовых рационах птицы, свиней и крупного рогатого скота.

Для *крупного рогатого скота* улучшение переваримости сочных и грубых кормов наблюдается при добавлении в корм ферментных препаратов с актив-

ным комплексом гидролитических ферментов, таких как *пектофоетидин ГЗх* и *целловиридин ГЗх* в соотношении 1:1; *амилосубтилин ГЗх* и *глюкаваморин Пх*. Для *телят* замена молока растительными кормами производится ферментными препаратами *пектофоетидин ГЗх*, *амилосубтилин ГЗх*, *протосубтилин ГЗх*, *глюкаваморин Пх*, содержащими комплекс амилолитических и протеолитических ферментов.

При откорме *свиней* эффективное действие оказывают ферментные препараты с амилолитической и протеолитической активностью – *амилосубтилин ГЗх*, *протосубтилин ГЗх*, *амилоризин Пх*, *глюкаваморин Пх*, *протезим ГЗх*. *Поросятам-сосунам* рекомендуется добавлять в корм ферментный препарат *протезим ГЗх*.

При кормлении *ягнят* в целях улучшения переваримости белков и углеводов в их кормовые рационы вводят *глюкаваморин Пх* и *амилоризин Пх*, в результате чего приросты живой массы увеличиваются на 11-15 %.

Для птиц в кормовые рационы добавляют ферментные препараты с целлюлозолитической, пектолитической и протеолитической активностью – *пектофоетидин ГЗх*, *целловиридин ГЗх*, *амилосубтилин ГЗх*, *глюкаваморин Пх*, *пектаваморин Пх*, *протосубтилин ГЗх*, *гликозидазу ГЗх*, *лизоцим ГЗх*, *протезим ГЗх*. В результате применения указанных препаратов яйценоскость кур повышается на 5 %, приросты живой массы бройлеров увеличиваются на 7-15 %, тогда как расход корма на создание единицы продукции снижается на 4-7 %.

Применение ферментных препаратов также эффективно при кормлении *рыб*. При добавлении в кормовые рационы рыб *протосубтилина ГЗх*, *амилосубтилина ГЗх*, *пектаваморина Пх* в количестве 0,1-0,15 % значительно улучшается переваримость белков и других питательных веществ корма.

Ферментные препараты используются в *кормопроизводстве*, чаще всего при силосовании бобовых трав, картофеля и при изготовлении соломоконцентратов.

Микробные ферментные препараты широко применяются в *ветеринарии* для лечения и диагностики многих заболеваний сельскохозяйственных животных и птиц. Для этих целей применяются выпускаемые промышленностью ферментные препараты: *лизоцим ГЗх*, *гликозидаза ГЗх*, *лизосубтилин Г10 х*, *дрожжелитин ГЗх*. *Амилосубтилин ГЗх* и *протосубтилин ГЗх* используют для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний, в частности алиментарных атоний преджелудков у жвачных животных, гельминтозов.

Высокоэффективные микробные препараты, широко используемые в животноводстве, производятся на основе *пропионовых* (пропиовит) и *ацидофильных* (пропиацид) бактерий, а также *азобактерий* (азотацид).

Пропиовит представляет собой порошок серовато-песчаного цвета, содержащий в 1 г препарата 4-6 млрд бактерий и 80-100 мкг витамина В₁₂, применяется для профилактики и лечения болезней желудочно-кишечного тракта у телят, поросят, цыплят. При его применении нормализуется рост и развитие молодняка сельскохозяйственных животных, повышается их устойчивость к инфекционным заболеваниям.

Протиацидиазотацид – сухие препараты комбинированного действия, способствуют образованию в желудочно-кишечном тракте животных уравновешенных биоценозов, особенно они эффективны против дисбактериозов.

Для борьбы с бактериальными и вирусными желудочно-кишечными заболеваниями применяются бактериальные препараты на основе *Bac. subtilis*, *licheniformis*, *mucilaginosus*, которые действуют как источники биологически активных веществ – ферментов, витаминов, антибиотиков, гормонов.

Задание 1. Переписать таблицу 12.

Таблица 12 – Важнейшие ферментные препараты, применяемые в животноводстве

Препарат	Область применения
Амилосубтилин ГЗх	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; получение ферментативных гидролизатов; лечение и профилактика желудочных, паразитарных заболеваний
Протосубтилин ГЗх	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных, птиц и рыбы; получение ферментативных гидролизатов; лечение и профилактика желудочных и паразитарных заболеваний
Глюкаваморин Пх	Добавление в кормовые рационы телят и ягнят, свиней, крупного рогатого скота; при силосовании картофеля, бобовых трав
Пектаваморин Пх	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; при силосовании картофеля, бобовых трав
Пектофоетидин ГЗх	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; гидролиз БВК, дрожжей и растительных отходов; силосование бобовых трав
Амилоризин Пх	Добавление в кормовые рационы ягнят и при откорме свиней
Дрожжелитин ГЗх	Получение ферментативных гидролизатов
Целловиридин ГЗх	Добавление в кормовые рационы крупного рогатого скота и птиц; гидролиз растительных отходов; силосование бобовых трав
Гликозидаза ГЗх	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; получение ферментативных гидролизатов
Лизосубтилин Г10х	Получение ферментативных гидролизатов; лечение и профилактика паразитарных заболеваний крупного рогатого скота
Протезим ГЗх	Добавление в кормовые рационы свиней и птиц

Препарат	Область применения
Лизоцеллюлозин Г10х	Гидролиз дрожжей и растительных отходов; добавление в кормовые рационы птиц
Лизогризеин Г10х	Гидролиз дрожжей и растительных отходов
Мальтаваморин Г10х	Гидролиз растительных отходов
Целлолигнорин Пх	Гидролиз растительных отходов, силосование бобовых трав
Целлокандин Г3х	Гидролиз растительных отходов, силосование бобовых трав
Лизоцим Г3х	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; лечение и профилактика паразитарных заболеваний

Примечание. Буква Г означает, что препарат получен при глубинном выращивании микроорганизмов, П — получен из поверхностной культуры микроскопических грибов, 2 - показывает, что это конц. сироп, 3 - сухой ферментный препарат, 10 - очищенный фермент. препарат, Пх - высушенная поверхностная культура грибов.

Иммобилизация ферментов

Причины иммобилизации ферментов. Выделяемые из клеток свободные ферменты имеют ряд недостатков:

- 1) они растворимы в воде и во время выделения или при хранении могут потерять свою активность;
- 2) их порой трудно отделить от продуктов реакции.

Иммобилизация – полное или частичное ограничение свободы движения белковых молекул. *Сущность иммобилизации ферментов* – прикрепление их в активной форме к нерастворимой основе, заключение в гель или в полупроницаемую мембранную систему. Фиксированные таким образом ферменты обладают пролонгированным (более длительным) действием.

Преимущества иммобилизованных ферментов: 1) они стабильны и долго сохраняют свою активность; 2) легко отделяются от реакционной среды, что повышает качество получаемой продукции; 3) технологичны, возможно вести биотехнологический процесс непрерывно, регулировать скорость реакции и выход продукции.

Методы иммобилизации:

- 1) без возникновения ковалентных связей между ферментом и носителем (*физические* методы иммобилизации);
- 2) с образованием ковалентной связи между ними (*химические* методы иммобилизации).

Каждый из этих методов осуществляется разными способами.

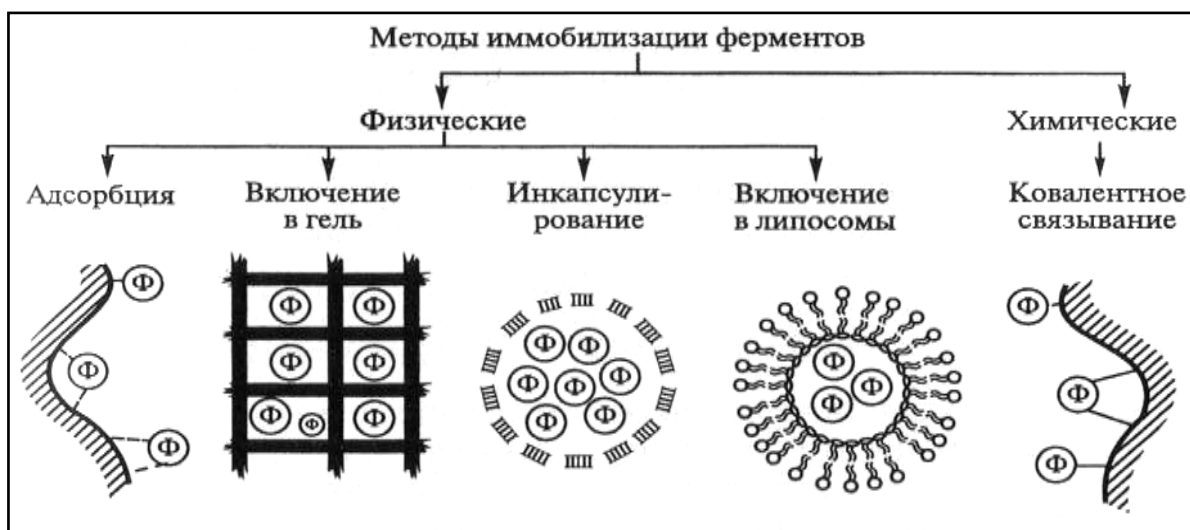


Рисунок 9 – Методы иммобилизации ферментов (по Ю.А. Горбунову)

Физические методы иммобилизации ферментов:

- 1) адсорбция ферментов на нерастворимых носителях;
- 2) включение энзимов в поры поперечно сшитого геля;
- 3) включение ферментов в полупроницаемые структуры (инкапсулирование и включение ферментов в липосомы).

Химические методы иммобилизации ферментов. Представляют иммобилизацию ферментов путем образования новых ковалентных связей между ферментом и носителем – наиболее массовый способ получения промышленных биокатализаторов.

Практическое применение иммобилизованных ферментов

1. Пищевая промышленность:

- производство хлеба;
- осветление фруктовых соков;
- получение глюкозы, которая используется в пищу человека и добавляется в корм животным;
- получение молочнокислых продуктов (кефира, йогуртов, сыра, творога и т.д.);
- получение глюкозофруктозных сиропов.

Фермент инвертаза расщепляет сахарозу на глюкозу и фруктозу, его получают из пивных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces carlsbergensis*.

Инвертный сахар кристаллизуется медленнее, чем сахароза, поэтому его применяют при изготовлении продуктов, в которых кристаллизация нежелательна – в полужидких начинках конфет, в ликерах, сиропах, в искусственном меде. Получаемая с помощью инвертазы *фруктоза* применяется в диетическом питании людей.

Лактаза – фермент, который расщепляет лактозу (сахар, содержащийся в молоке) на галактозу и глюкозу. Лактоза с трудом усваивается животными организмами, не сбраживается хлебопекарными дрожжами. Слабая раствори-

мость лактозы мешает переработке молока. Применение иммобилизованной лактазы позволяет:

- 1) получать концентрированные молочные продукты;
- 2) избегать добавления химических стабилизаторов в мороженое;
- 3) увеличить питательность смесей для детского питания;
- 4) осуществлять ферментативный гидролиз лактозы в молочной сыворотке (позволяет применять ее в качестве корма для животных и птицы).

2. Химическая промышленность:

- производство стиральных порошков;
- дубление кож;
- производство тканей;
- превращение латекса в губчатую резину.

3. Медицина:

- для производства лекарственных препаратов;
- гемодиализ;
- лечение злокачественных опухолей;
- эффективное лечение ран, язв, ожогов, абсцессов и др.

Ферменты широко используют в медицине, например в составе лечебных препаратов. *Амилазу* и *липазу* применяют при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и печени. В последние годы эффективно применяют *протеиназы* в лечении злокачественных новообразований, что объясняется большей проницаемостью мембран раковых клеток для ферментов в сравнении с нормальными клетками, благодаря чему опухолевые клетки быстро лизируются при введении смеси протеиназ (препарат «*папайотин*»). Получение тромболитических ферментов. Фермент *плазмин* используют для растворения тромбов в кровеносных сосудах; *коллагеназу* – для рассасывания рубцовых образований; *эластазу* – для задержки развития атеросклероза; *лизоцим* – для лечения конъюнктивитов; *дезоксирибонуклеазу* из стрептококка (*стрептодорназа*) – для лечения заболеваний верхних дыхательных путей и роговицы глаза.

Ферменты в медицине применяются для *диагностики*. Так, *аспартатаминотрансфераза* служит для выявления инфаркта миокарда; *аланинаминотрансфераза* – для диагностики заболеваний печени; *глутамилтрансфераза* – для блокировки отторжения органов при их пересадке и т. д.

4. Животноводство:

- производство кормов;
- получение кормовых добавок;
- повышение усвояемости кормов;
- для ускорения процесса силосования и улучшения питательных свойств силоса;
- для профилактики и лечения желудочных и паразитарных заболеваний у животных.

5. Растениеводство – для защиты растений от насекомых – вредителей.

Задание 1. Изучить таблицу 13.

Таблица 13 – Основные продуктивные показатели по использованию фермента Фекорд-2004 в кормлении кур-несушек

Показатели	Группы		
	1 (контрольная)	2 (опытная)	3 (опытная)
Среднегодовая яйценоскость на среднюю несушку, шт.	314 ± 2,4	332 ± 2,6	321 ± 2,1
Интенсивность яйценоскости, %	86	91	88
Затраты кормов:			
на 1 к / день, г	116	108	112
на 10 яиц, кг	1,35	1,19	1,27
Средняя масса яиц, г	59,9 ± 0,4	60,5 ± 0,3	60,2 ± 0,4

Задание 1. Изучить таблицу 14.

Таблица 14 – Микроорганизмы и получаемые от них продукты

Продуцент	Продукт
1	2
<u>Дрожжи</u>	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Этанол, глицерин
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	Этанол
<i>Kl. iactis</i>	Этанол
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Этанол
<i>Candida lipolytica</i>	Лимонная, изолимонная, пировиноградная кислоты
<u>Бактерии</u>	
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Ацетон, бутанол
1	2
<i>Cl. thermohydrosulfuricum</i>	Этанол, уксусная, молочная кислоты
<i>Cl. thermosaccharoliticum</i>	Глюкоза, ксилоза, этанол, уксусная кислота
<i>Cl. auranticum</i>	Изопропандиол
<i>Cl. thermoacticum</i>	Уксусная кислота
<i>Cl. propionicum</i>	Пропионовая, акриловая кислоты
<i>Xanthomonas campestris</i>	Полисахариды
<i>Zygomonas mobilis</i>	Этанол, сорбит, глюконовая кислота
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i>	Этанол, уксусная, молочная кислоты
<i>Dunaliella sp.</i>	Глицерин
<i>Aerobacter aerogenes</i>	2, 3 – бутандиол
<i>Bacillus polymyxa</i>	2, 3 – бутандиол
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Молочная кислота
<i>Acetobacter aceti</i>	Уксусная кислота

Продуцент	Продукт
<u>Микромицеты</u> (плесневые грибы)	
<i>Aspeligillus niger</i>	Лимонная, щавелевая кислоты
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Пенициллин
<i>As. oryzae</i>	Ферментные препараты (амилаза)
<i>As. awamori</i>	Ферментные препараты (пектиназа)
<i>Yarrowia lipolitica</i>	Ферментные препараты (липаза)

Задание 2. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь.

Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	
...10	

1. Раздел молекулярной биологии и биохимии, изучающий свойства, строение и механизмы действия ферментов:

- а) биотехнология;
- б) энзимология;
- в) микробиологический синтез.

2. Ферменты – это:

- а) биокатализаторы, функцией которых является проведение и регуляция химических реакций;
- б) стероидный субстрат биологической системы;
- в) группа биологически активных веществ, которые синтезируются микроорганизмами.

3. Полное или частичное ограничение свободы движения белковых молекул:

- а) иммобилизация;
- б) трансформация;
- в) трансдукция.

4. Причины иммобилизации ферментов:

- а) не растворимы в воде, высокая стоимость;
- б) растворимы в воде, трудность отделения ферментов от продуктов реакции;
- в) частично растворимы в воде, невозможность регулирования скорости реакции и выход продукции.

5. Физические методы иммобилизации ферментов:

- а) инкапсулирование ферментов в липосомы;
- б) адсорбция ферментов на нерастворимых носителях, включение ферментов в полупроницаемые структуры и липосомы, включение энзимов в поры поперечно сшитого геля;
- в) иммобилизация ферментов путем образования новых ковалентных связей между ферментом и носителем.

6. Химические методы иммобилизации ферментов:
- а) инкапсулирование ферментов в липосомы;
 - б) иммобилизация ферментов в полупроницаемые структуры;
 - в) иммобилизация ферментов путем образования новых ковалентных связей между ферментом и носителем.
7. Ферменты, применяемые в медицине для диагностики:
- а) амилаза, липаза;
 - б) Кемзайм W, Кемзайм Плюс;
 - в) аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, глутамил-трансфераза.
8. Ферменты кормового назначения:
- а) Фекорд 2004, Кемзайм Плюс;
 - б) элостаза, дезоксирибонуклеаза;
 - в) пропиовит, пропиацид и азотацид.
9. В животноводстве ферменты применяют для:
- а) использования в терапевтических целях, а также как пищевые продукты и биологически активные добавки, содержащие живые микрокультуры;
 - б) производства кормов, кормовых добавок, улучшения питательных свойств силоса; для профилактики и лечения желудочных и паразитарных заболеваний у животных;
 - в) превращения латекса в губчатую резину, гемодиализа.
10. Преимущества иммобилизованной лактазы:
- а) получение более питательных, концентрированных молочных продуктов (смеси для детского питания), осуществление ферментативного гидролиза лактозы в молочной сыворотке;
 - б) добавление химических стабилизаторов в молочные продукты;
 - в) несбраживание хлебопекарными дрожжами.

ТЕМА 8. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

Цель занятия: изучить основные виды микробиологических препаратов и способы их применения в животноводстве.

Контрольные вопросы:

1. Дать определение основным видам микробиологических препаратов (пробиотики, пребиотики, гербиотики, симбиотики).
2. Способы получения пробиотиков, пребиотиков и др.
3. Использование микробиологических препаратов в животноводстве.

Теоретическая часть

Использование микроорганизмов в сельском хозяйстве

В животноводстве используются пробиотики, пребиотики, гербиотики, симбиотики и другие микробиологические препараты для получения кормовых продуктов.

Пробиотики являются биокатализаторами многих жизненно важных процессов в пищеварительном тракте животных и человека, улучшают усвоение питательных веществ, обладают антагонистическим действием по отношению к вредной для организма микрофлоре.

Пробиотики – это живые микробные культуры или споры полезных микроорганизмов, которые заселяют желудочно-кишечный тракт и улучшают микробный баланс. Используются в терапевтических целях, а также как пищевые продукты и биологически активные добавки, содержащие живые микрокультуры. Пробиотики делятся на две группы – жидкие и сухие, могут содержаться как в продуктах питания, так и в специально созданных и разработанных лекарственных препаратах или биологически активных добавках. Традиционными пробиотиками являются кефир, ряженка, сыры, йогурт, мацони, рикотта и другие молочнокислые изделия.

Пробиотики состоят из биологически однородных штаммов одного или нескольких видов микроорганизмов с хорошо известными свойствами. На сегодняшний день источниками пробиотических штаммов являются 9 родов микроорганизмов (таблица 15).

Таблица 15 – Микроорганизмы, используемые для получения пробиотиков

Род микроорганизма	Название микроорганизмов
Лактобациллы	<i>Lb. acidophilus, Lb. plantarum, Lb. casei, L. paracasei, L. bulgaricus, Lb. fermentum, Lb. salivarius, Lb.lactis, Lb. reuteri, Lb. rhamnosus, Lb. fermentum, Lb. jonsonii, Lb. gasseri</i>
Бифидобактерии	<i>Bif. bifidum, Bif. infantis, Bif. longum, Bif. breve, Bif. adolescents, B. animalis</i>
Энтерококки	<i>E. faecium</i>
Стрептококки	<i>Str. salivarius, Str. thermophilus</i>
Непатогенные штаммы кишечной палочки	<i>E. coli M-17</i>
Спорообразующие бациллы	<i>B. subtilis, B. licheniformis, B. lentus, B. pumilus, B. circulans, штамм IP 5832 B. cereus</i>
Клостридии	<i>Cl. butyricum Miyairisan</i>
Дрожжевые грибы	<i>Saccharomyces boulardii, Saccharomyces cerevisiae</i>
Пропионовокислые бактерии	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>

Принцип действия пробиотиков заключается в следующем:

- антагонистическая активность по отношению к *Escherichia coli, Staphilococcus aureus, Shigella sp., Salmonella typhimurium, enteritidis* и др.;
- продуцирование пищеварительных ферментов (амилаз, липаз, протеаз, пектиназ, эндоглюконаз);
- продуцирование рибофлавина и аминокислот, в т. ч. незаменимых;

- способность синтезировать биологически активные вещества, стимулирующие развитие целлюлолитических руминококков, лактобацилл;
- антитоксическое, в т. ч. подавление микотоксинов;
- иммуномодулирующее (активация макрофагов, стимулирование выработки интерферона, синтез иммуноглобулинов);
- снижают воспалительные процессы в кишечнике;
- восстанавливающее.

Основное направление использования пробиотических препаратов в животноводстве – профилактика желудочно-кишечных расстройств у молодняка. В комбикорма для сельскохозяйственных животных включают живые культуры или споровые формы пробиотических микроорганизмов. Они заселяют желудочно-кишечный тракт и сдвигают микробный баланс в положительную сторону.

Пробиотические препараты «Лактицид», «Стрептобицид-форте», «Ин-тестевит» помогают быстрой колонизации кишечника поросят здоровой микрофлорой.

Пробиотики для животных:

Субтилис предназначен для профилактики и лечения бактериальных заболеваний ЖКТ, нормализации пищеварения, повышения естественной резистентности (иммунитета), повышения сохранности, улучшения усвояемости кормов, стимулирования роста и развития сельскохозяйственных и непродуктивных животных, птицы, рыб, кроликов, пушных зверей.

Ветом (Vetom) (иммобилизованная высушенная споровая биомасса бактерий рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis*).

Лактобицид - комплекс лиофильно высушенных культур пробиотических бактерий - бифидобактерий, лактобактерий, стрептококков. Предназначен для систематического употребления в составе кормовых рационов с раннего возраста. Снижает риск возникновения заболеваний, связанных с кормлением, переводом на другой корм, а также вызванных стрессовыми ситуациями: диарея, запор, метеоризм, тошнота, рвота, аллергические реакции.

Лактобицидол восстанавливает нормальную микрофлору после лечения антибиотиками, антгельминтиками, гормонами и другими лекарственными препаратами, препятствует развитию гнилостных, условно-патогенных и патогенных бактерий.

Спороветин эффективен при грибковых заболеваниях (трихофития, микроспория), восстанавливает микрофлору после применения антибиотиков. Препарат безвреден и не дает побочных эффектов. Содержит живые микроорганизмы штамма *Bacillus subtilis* 12В, КОЕ в 1 г, не менее 1×10^6 , штамм продуцирует протеолитические ферменты и другие биологически активные вещества, способствующие улучшению обмена веществ и повышению неспецифического иммунитета.

Бифидумбактерин. Терапевтический эффект препарата обусловлен содержанием в нем живых бифидобактерий, которые обладают антагонистической активностью против широкого спектра патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, способствуют нормализации микрофлоры кишечника, улуч-

шают деятельность желудочно-кишечного тракта, препятствуют формированию затяжных форм кишечных заболеваний.

Лактоферон предназначен для систематического употребления в составе кормовых рационов животных с раннего возраста. Повышает устойчивость организма к инфекционным и простудным заболеваниям, иммунный ответ после вакцинации животных.

Биоферм - экологически чистая добавка в подстилку для животных и птиц, которая снижает затраты на их обслуживание. Продукт безопасен для животных и человека, не содержит гормоны и антибиотики. Укрепляет иммунитет скота и птицы, останавливая развитие патогенной флоры.

Бифитрилак - комплексный препарат, состоящий из адсорбента и лиофилизированных штаммов бактерий-пробиотиков *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium bifidum*. Препарат назначается при желудочно-кишечных инфекциях и суперинфекциях.

Пребиотики – это неперевариваемые кормовые ингредиенты, которые выборочно стимулируют рост и активность полезных бактерий в толстом кишечнике, что способствует улучшению состояния здоровья. Пребиотики, в отличие от пробиотиков, не содержат никаких микроорганизмов, не перевариваются, а при попадании в толстый отдел кишечника используются в качестве питательной среды для микрофлоры.

Основным компонентом пребиотиков являются пищевые волокна (полисахариды и лигнин), которые не перевариваются эндогенными секретами желудочно-кишечного тракта. Пищевые волокна способствуют улучшению пищеварения и формированию здоровой микрофлоры кишечника.

Свойства пребиотиков наиболее выражены во фруктозоолигосахаридах (ФОС), инулине, галакто-олигосахаридах (ГОС), лактулозе, лактитоле. Пребиотики содержатся в молочных продуктах, кукурузе, луке репчатом, цикории полевом, фасоли, горохе, крупах и др.

Наиболее важными и распространенными являются пребиотики:

- **лактулоза и лактоза** – обладают слабительным действием, стимулируют перильстатику кишечника и применяются при запорах, а также при диагностике нарушений желудочно-кишечного тракта (содержатся в молочных и кисломолочных продуктах);

- **пищевые волокна** - компоненты пищи, которые не перевариваются пищеварительными ферментами нашего организма, но могут быть переработаны нормальной микрофлорой кишечника (клетчатка, в том числе целлюлоза), оказывают слабительное действие (нешлифованные крупы, цельнозерновой хлеб, плоды тыквенных растений, бобовые, овощи, фрукты и зелень);

- **инулин** – улучшает микрофлору кишечника, повышает иммунитет и способствует снижению холестерина (корни цикория, бананы, топинамбур);

- **пектин** – уменьшает всасывание глюкозы в кишечнике (снижает уровень сахара в крови) (содержится в печеных яблоках, бананах, грушах);

- **рекицен** усиливает адаптационные возможности организма животных, его устойчивость к стрессам, обладает общеукрепляющими свойствами и де-

токсикационными свойствами, а также способностью нормализовать микрофлору кишечника и общий обмен веществ в организме.

- **октафлор** искусственно создан из натриевых и калиевых солей органических кислот, применяют для восстановления микрофлоры в желудочно-кишечном тракте и повышения усвояемости питательных веществ корма.

Задание 1. Изучить таблицу 16.

Таблица 16 - Отличие пробиотиков и пребиотиков

Свойства	Пребиотик	Пробиотик
Действие	Стимуляция роста естественной микрофлоры кишечника	Заселение кишечника микрофлорой извне
Состав	Вещества, которые являются пищей для полезных бактерий, находящихся в кишечнике	Живые клетки полезной микрофлоры кишечника: лактобациллы, бифидобактерии и т.д.
Проходимость через органы пищеварения	Не перевариваются и достигают кишечника в своем первоначальном виде	Около 5-10 % достигают кишечника в своем первоначальном виде
Эффективность	Стимулируют популяцию полезных для организма бактерий	Могут содержать 1-2 вида полезных бактерий

Задание 2. Изучить классификацию пребиотиков (таблица 17).

Таблица 17 – Классификация пребиотиков

Классификация пребиотиков	
Химическая природа	Пребиотики
Углеводы	Фруктоолигосахариды, ксилоолигосахариды, арабиногалактоолигосахариды, изомальтоолигосахариды, изомальтулоза, лактулоза, галактоолигосахариды, раффиноза, стахиноза, гентиоолигосахариды, циклодекстрины, палатиноза, ксилотриолоолигосахариды, устойчивые крахмалы, пищевые волокна, лектинаны, гетероглюканы и др.
Белки	Гликопептиды, лактоглобулины
Витамины и их производные	Пантотеновая кислота, пантотенаты, инозит

Задание 3. Изучить способы получения пребиотиков (таблица 18).

Таблица 18 – Способы получения пребиотиков

Способы получения пребиотиков				
Способ получения	Выделение из природных источников	Ферментативный или кислотный гидролиз	Химический синтез	Ферментативный синтез
1	2	3	4	5
Источники	Соя, сахарный тростник, сахарная свекла, топинамбур, цикорий, молочная сыворотка, грибы и актиномицеты, злаковые (отруби)	Галактаны, ксиланы, хитин, ламинаран, арабиноксиланы, пектиновые вещества	Лактоза, сахароза, мальтио-олигосахара	Сахароза, мальтоза, лактоза, мальтодекстрины
1	2	3	4	5
Пребиотические вещества	Галакто-олигосахариды, фрукто-олигосахариды, инулин, лактоглобулины, гликопептиды, гетероглюканы, лентинаны, устойчивый крахмал, пищевые волокна	Галакто-олигосахариды, арабиноксило-олигосахариды, галактуроно-олигосахариды, N-глюкозаминовые олигосахариды, 1.3-глюко-олигосахариды	Лактулоза, трансгалактоолигосахариды, галактоолигосахариды	Фрукто-олигосахариды, изомальто-олигосахариды, лактулоза, циклодекстрины

Гербиотики – это растительные экстракты, которые оказывают мембраностабилизирующее, противовоспалительное и анаболизирующее действие. Также они подавляют патогенную микрофлору и стимулируют иммунитет.

Гербиотики вводятся в стартовые комбикорма птицы. У цыплят повышается среднесуточный прирост живой массы на 7-13 % и жизнеспособность.

Оптимальные нормы ввода:

1. Поросятам молочного периода: 5 кг/т корма позволяют предотвратить диарею, снизить смертность и увеличить приросты живой массы.

2. Свиноматкам супоросным, подсосным и свињям на откорме: 3 кг/т корма повышают общую продуктивность, резистентность организма, улучшают эффективность использования кормов, увеличивают скорость роста и количество здоровых поросят в расчете на одну свиноматку.

3. Цыплятам, особенно для бройлеров первого периода выращивания (1-21 день): 3 кг/т корма увеличивают сохранность, приросты живой массы и стабилизируют функцию иммунной системы организма, повышают эффективность применения ветеринарных препаратов.

4. Курам-несушкам: 2 кг/т корма улучшают качество скорлупы яиц, особенно во второй период продуктивности.

Симбиотики – это смесь пробиотиков и пребиотиков, препараты, содержащие вещества, способные избирательно стимулировать симбионтную микрофлору кишечника. Они представляют новое поколение уникальных кормовых добавок, совмещающих в себе про- и пребиотики с теми иммуностимулирующими субстанциями, которые существенно важны для молодняка. Комплексное действие пробиотика *Enterococcus faecium* и пребиотика *Inulin* стимулирует развитие положительной *Bifidobacteria* в толстом кишечнике, закладывает основу для формирования здорового и защищенного кишечника – микрофлору.

Biomim IMBO содержит пробиотик, пребиотик и фикофитическую добавку. Добавляется в готовый корм в количествах, указанных в таблице 19.

Таблица 19– Доза препарата *Biomim IMBO*

Вид животных	Профилактическая дозировка, кг/т	Дозировка при бактериальном заражении, кг/т
Птица	1,0	1,5
Поросята	1,5	2,0
Свиноматки	1,5	2,0

Биомин Имбо формирует и стабилизирует натуральную микрофлору кишечника и предупреждает колонизацию патогенов в нем по причине окислительных процессов, активизирует функцию микрофагов и лимфоцитов – повышает резистентность к инфекциям, защищает стенки кишечника от прилипания к ним патогенов, стимулирует рост бифидобактерий. Препарат способствует увеличению среднесуточного прироста живой массы на 16 %, снижает падеж на 2,72 %.

Задание 4. Изучить оптимальные нормы ввода гербиотиков свиньям и птице.

Задание 5. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь.

Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	
...10	

3. Пробиотики – это:

- а) смесь пробиотиков и пребиотиков;
- б) живые микробные культуры или споры полезных микроорганизмов, которые заселяют желудочно-кишечный тракт;
- в) новое поколение уникальных кормовых добавок, совмещающих в себе про- и пребиотики.

2. Симбиотики – это:

- а) смесь пробиотиков и пребиотиков;

б) споры полезных микроорганизмов, заселяющих желудочно-кишечный тракт;

в) колонизации патогенов.

3. Гербиотики – это:

а) кормовые ингредиенты, которые стимулируют рост и активность полезных бактерий;

б) поколение добавок, активизирующих функцию микрофагов и лимфоцитов;

в) растительные экстракты, оказывающие противовоспалительное и анаболизирующее действие.

4. Фармакологическое действие пребиотика:

а) продуцирует протеолитические ферменты и другие биологически активные вещества;

б) заселение кишечника микрофлорой извне;

в) стимуляция роста естественной микрофлоры кишечника.

5. Фармакологическое действие пробиотика:

а) заселение кишечника микрофлорой извне;

б) стимулирует развитие положительной *Bifidobacteria* в толстом кишечнике;

в) стабилизирует натуральную микрофлору кишечника и предупреждает колонизацию патогенов в нем.

6. Химическая природа пребиотиков:

а) углеводы, белки, витамины;

б) липиды, белки, микроорганизмы;

в) витамины и их производные, липиды.

7. Выделение пребиотиков из природных источников:

а) йогурты, соленья, кефир, сыры;

б) сахарная свекла, молочная сыворотка, злаковые отруби, грибы, топинамбур, цикорий;

в) мягкие сыры, крупы, йогурты.

8. Наиболее распространенными являются пробиотики:

а) инулин, пектин, пищевые волокна;

б) рекицен, лактулоза, бифидумбактерин;

в) бифидумбактерин, биоферм, лактоферон.

9. Наиболее распространенными являются пребиотики:

а) октафлор, инулин, лактоза, пектин;

б) рекицен, спороветин, бифитрилак;

в) бифитрилак, лактобифид, лактулоза.

10. Способы получения пребиотиков:

а) физико-химические методы, электролиз;

б) выделение из природных источников, ферментативный гидролиз, химический синтез, ферментативный синтез;

в) кислотный гидролиз, экстракция.

ТЕМА 9. ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ БИОЭНЕРГЕТИКА

Цель занятия: изучить основные аспекты проблемы защиты окружающей среды и способы переработки отходов животноводства.

Контрольные вопросы:

2. Биоэнергетика как наука об альтернативных источниках энергии на основе биомассы.
3. Получение этанола как топлива.
4. Биомасса. Фотосинтез – основа получения биомассы.
5. Биотехнологическая переработка навоза и отходов растениеводства.
6. Типы загрязнений поверхностных и подземных вод. Основные источники загрязнения водоемов и методы очистки сточных вод.
7. Переработка твердых отходов. Биodeградация ксенобиотиков.
8. Биотехнология получения биогаза из биомассы (навоза).

Теоретическая часть

Биоэнергетика - это наука, которая изучает процессы превращения органических веществ в энергию в живых организмах. Основными принципами биоэнергетики являются процессы метаболизма в клетках, которые позволяют организмам использовать энергию, полученную от пищи, для выполнения различных функций.

Новые технологии в области производства биотоплива и биогаза позволяют значительно повысить эффективность процесса производства и использования биоэнергии.

Биотопливо - это топливо, получаемое из растительного материала или живых организмов, которые могут быстро восстановиться. Биотопливо может быть произведено из различных источников, таких как зерновые культуры, древесина, отходы сельского хозяйства, водоросли, животные отходы и многое другое и может использоваться для производства тепла и электроэнергии, а также как топливо для автомобилей.

Получение этанола как топлива

Биоэтанол - обычный этанол, получаемый в процессе переработки растительного сырья для использования в качестве биотоплива.

Известный с давних времен способ получения этанола – *спиртовое брожение органических продуктов*, содержащих углеводы (виноград, плоды, ягоды и др.), под действием ферментов дрожжей и бактерий. Аналогично выглядит переработка крахмала, картофеля, риса, кукурузы и др.

Промышленное производство этанола из биологического сырья

Современная промышленная технология получения спирта этилового из пищевого сырья включает следующие стадии:

- подготовка и измельчение крахмалистого сырья: зерна (ржи, пшеницы), картофеля, кукурузы и т. п.;
- ферментация (ферментативное расщепление крахмала до спирта при помощи дрожжей). Для этих целей применяются рекомбинантные препараты альфа-амилазы, полученные биоинженерным путем - глюкоамилаза, амилосубтилин;
- брагоректификация – осуществляется на разгонных колоннах.

Отходами бродильного производства являются барда и сивушные масла. Барда используется для производства кормов.

Биомасса. Фотосинтез – основа получения биомассы.

Фотосинтез – это процесс образования органических веществ и аккумуляции химической энергии под действием солнечного излучения.

Биомасса – органическое вещество, генерируемое растениями в процессе фотосинтеза, при подводе солнечной (световой) энергии.

Энергия биомассы используется двумя способами: путем непосредственного сжигания отходов сельскохозяйственной продукции и путем глубокой переработки исходной биомассы с целью получения из нее более ценных сортов топлива – твердого, жидкого или газообразного, которое сжигается с высоким КПД при минимальном загрязнении окружающей среды. Биомассы представляют собой бытовые и промышленные отходы, ухудшающие состояние среды обитания человека. Поэтому их переработка, проводимая в целях получения энергии, позволяет одновременно решить и экологическую задачу.

Биотехнология переработки органических отходов направлена на решение таких важных задач, как:

- защита окружающей среды от токсических отходов животноводства;
- получение экологически чистого удобрения – зоогумуса;
- получение белково-липидного концентрата, который используется при разведении птицы, рыб, тутового шелкопряда, свиней, а также микроорганизмов.

Основные этапы биотехнологической переработки навоза:

1. Компостирование. Ускорить процесс переработки навоза и повысить эффективность готового удобрения в компостной куче помогут современные биотехнологии переработки навоза: вермикомпостирование (подселение в навозную компостную кучу червей) или использование специальных бактерий для навоза.

2. Получение биогаза из навоза. Переработка навоза позволяет получать жидкое концентрированное высокоэффективное удобрение и биогаз. Метод подходит как для твердых, так и для жидких экскрементов скота и птицы. Полученное жидкое удобрение экологически чистое, экономичное, легко вносится в почву, повышает урожайность культур.

3. Извлечение полезных веществ (воды, кормов для животных, удобрений, витаминов и др.).

4. Получение органического удобрения – метанизированного навоза крупного рогатого скота в виде гранул. В крупных животноводческих хозяйствах, где поголовье скота и птицы измеряется сотнями особей, а производимый ими навоз и помет – тоннами, компостирование – долгосрочный и не самый эффективный способ переработки навоза. В этом случае лучше использовать высокоэффективные современные способы, такие как сушка навоза, гранулирование навоза и брикетирование навоза. Сушка навоза производится в специальных сушильных камерах с использованием источника тепла. Сухой навоз хранится дольше, не источает неприятных запахов, вносится в почву как удобрение или используется в качестве кормовой добавки для крупного рогатого скота.

6. Метод биологической переработки навоза с помощью личинок комнатной мухи – получение зоогумуса. Личинки мух, выращенные на органических отходах, обладают высокой энергией роста, их масса увеличивается в течение

недели в 300-500 раз. Из личинок, куколок и самих мух можно получать высококачественный хитин и его производные, применяющийся в медицинской, фармацевтической, пищевой и парфюмерной промышленности. **Биогумус**, полученный после переработки экскрементов личинками мух, - высокоэффективное органическое удобрение. Урожайность сельскохозяйственных культур при его применении увеличивается в 1,2-1,5 раза, при этом нематоды и другие вредители погибают.

Типы загрязнения поверхностных и подземных вод:

1. *Механическое* – повышение содержания механических примесей.
2. *Химическое* – присутствие в воде органических и неорганических веществ токсического и нетоксического действия.
3. *Биологическое* – наличие в воде разнообразных патогенных микроорганизмов, грибов и мелких водорослей.
4. *Радиоактивное*.
5. *Тепловое*.

Основные источники загрязнения и засорения водоемов:

- недостаточно очищенные сточные воды промышленных и коммунальных предприятий, крупных животноводческих комплексов, отходы производства при разработке рудных ископаемых (воды шахт, рудников);
- сбросы водного и железнодорожного транспорта;
- пестициды и загрязняющие вещества, попадая в природные водоемы, качественно изменяют их состав.

Главная цель очистки сточных вод – удаление из них взвешенных и растворимых органических и неорганических соединений до концентраций, которые не превышают заранее регламентированные предельно допустимые концентрации.

Методы очистки сточных вод:

1. *Механические методы*. Отстаивание и фильтрация, удаление механических примесей. Грубодисперсные частицы улавливаются решетками, ситами, песколовками, навозоуловителями, нефтеловушками. Выделение из бытовых сточных вод до 60-75 % нерастворимых примесей, а из промышленных – до 95 %.

2. *Химические методы*. Добавление в сточные воды различных химических реагентов, которые вступают в реакцию с загрязнителями и осаждают их в виде нерастворимых осадков. Уменьшение количества нерастворимых примесей до 95, а растворимых – до 25 %.

3. *Физико-химические методы* (электролиз, окисление, адсорбция, экстракция, ионообменная хроматография, ультразвук, высокое давление). Удаление тонкодисперсных и растворенных неорганических примесей, а также разрушение органических и плохо окисляемых веществ.

4. *Биологические методы*. Использование биохимического и физиологического самоочищения рек и других водоемов. Для очистки сточных вод используют биофильтры, биологические пруды и аэротенки.

Отстой сточных вод

В зависимости от степени обработки отстой городских сточных вод обычно делят на:

- *первичный* (необработанный), состоящий из твердых веществ;
- *вторичный* – твердые вещества, выделяющиеся после вторичного отстоя, или отстой с биофильтров очистных сооружений;
- *третичный* – результат третичного отстоя сточных вод (известь и глина);
- *отстой, перегнивший в анаэробных условиях.*

Переработка твердых отходов

В настоящее время для очистки окружающей среды от твердых отходов активно разрабатываются два основных подхода: **захоронение и утилизация**.

Захоронение – наиболее простой, но экологически бесперспективный способ. Органическое вещество в таких захоронениях разлагается достаточно медленно - до 30-50 лет.

Кроме того, под полигоны и свалки твердых бытовых отходов ежегодно отчуждается до 10 тыс. га земель, в том числе и плодородных, изымаемых из сельскохозяйственного оборота. Возможные пути сокращения гигантских отходов синтетических пластиков – это **утилизация**, которую можно разделить на ряд главных направлений: сжигание, пиролиз, рециклизация и переработка. Однако как сжигание, так и пиролиз отходов тары и упаковки и вообще пластмасс кардинально не улучшают экологическую обстановку. Более того, сжигание – это дорогостоящий процесс, к тому же еще и приводящий к образованию высокотоксичных, а также супертоксичных (таких, как фураны и диоксины) соединений.

В начальной стадии переработки твердых отходов преобладают аэробные процессы, в ходе которых наиболее легко разрушаемые молекулы используются беспозвоночными (клещами, червями, нематодами), низшими грибами и микроорганизмами.

На следующей стадии происходит разложение макромолекул лигноцеллюлозы, лигнина, танина и меланина, которые способны только к медленной деградации. Продолжительность этого периода сильно варьирует и частично зависит от предобработки. Высокая температура (до 80°C) и присутствие антибиотиков микробного происхождения приводят к гибели или инактивации патогенных микроорганизмов и вирусов, личинок насекомых и семян растений. Через некоторое время кислород поглощается аэробной микрофлорой, накапливается CO₂ и наступает стабильное метановое брожение, в выделяющемся газе содержится 50-55 % CH₄, около 40 % CO₂ и 5 % N₂. Газ, образующийся на свалках, можно получать в больших количествах и использовать.

Биодеградация ксенобиотиков

Ксенобиотики- это чужеродные вещества, непригодные, химические, синтетические, попавшие в окружающую среду.

Биодеградация органических соединений (ксенобиотиков) в среде – полная минерализация, частичное разрушение и детоксикация, которая может быть достигнута путем всего лишь одной модификации структуры молекулы.

К труднорастворимым веществам относят: хлорпроизводные углеводов, нафталины, эмульгаторы, азокрасители, полиароматические углеводороды, полистирол. Судьба ксенобиотика зависит как от его внутренних особенностей

(устойчивости к различным воздействиям, растворению в воде, размера и заряда молекулы, летучести), так и от внешних факторов (рН, фотоокисления, выветривания).

Шины, изготовленные из стирол-бутадиеновой резины, частично разлагаются микроорганизмами при тонком предварительном измельчении. Но антиозонаты, антиоксиданты и ускорители существенно замедляют биodeградацию. При удалении ингибитора полимеризации из технологии изготовления шин полистирол разрушается соответствующим сообществом микроорганизмов. Для успешного разложения ксенобиотиков их структура должна быть близкой к природным веществам.

В сообществе микроорганизмов создаются идеальные условия для обмена генетической информацией за счет переноса плазмид между организмами, так как в плазмидах кодируется информация о синтезе ферментов, разрушающих ксенобиотики. Микроорганизмы, растущие на одном субстрате (ксенобиотике), превращают его в источник питания для других членов сообщества. Микроорганизмы, растущие на одном субстрате (ксенобиотике), превращают его в источник питания для других членов сообщества.

Образцы из нескольких мест на свалках культивируют в течение нескольких месяцев, постепенно увеличивая концентрацию ксенобиотика. Если в сообществах микроорганизмов со свалок имеются организмы, способные к деградации ксенобиотика, они начинают активно развиваться. В дальнейшем из наиболее активных вариантов удастся выделить активные штаммы с плазмидами инактивации данного ксенобиотика.

Токсичность пестицидов утрачивается уже на первой стадии их преобразования. Для этого успешно можно использовать такие внеклеточные ферменты, как гидролазы, эстеразы, ациламидазы, фосфоэстеразы. Описаны гидролазы для деградации некоторых пестицидов. Ферменты в виде аэрозолей можно использовать для удаления пестицидов с поверхностей установок, реакторов и тары.

Чтобы осуществить биodeградацию ядохимикатов, в них рекомендуется вносить микродобавки (специально подобранные микробные сообщества) для быстрой ликвидации самого вредного агента и, таким образом, его позитивного воздействия на вредителя.

Задание 1. Переписать этапы биотехнологической переработки навоза.

Получение биогаза

Биогазовые комплексы позволяют вырабатывать электроэнергию из биогаза, получаемого при брожении органических отходов. Биогазовые установки производят электрическую и тепловую энергию, высококачественные удобрения, обеспечивают утилизацию отходов, сокращают выбросы метана в атмосферу. Этот способ особенно актуален для переработки отходов сельскохозяйственного производства и прежде всего навоза и навозных стоков животноводческих предприятий. Переработка навоза осуществляется в *биогазовых установках* (БГУ).

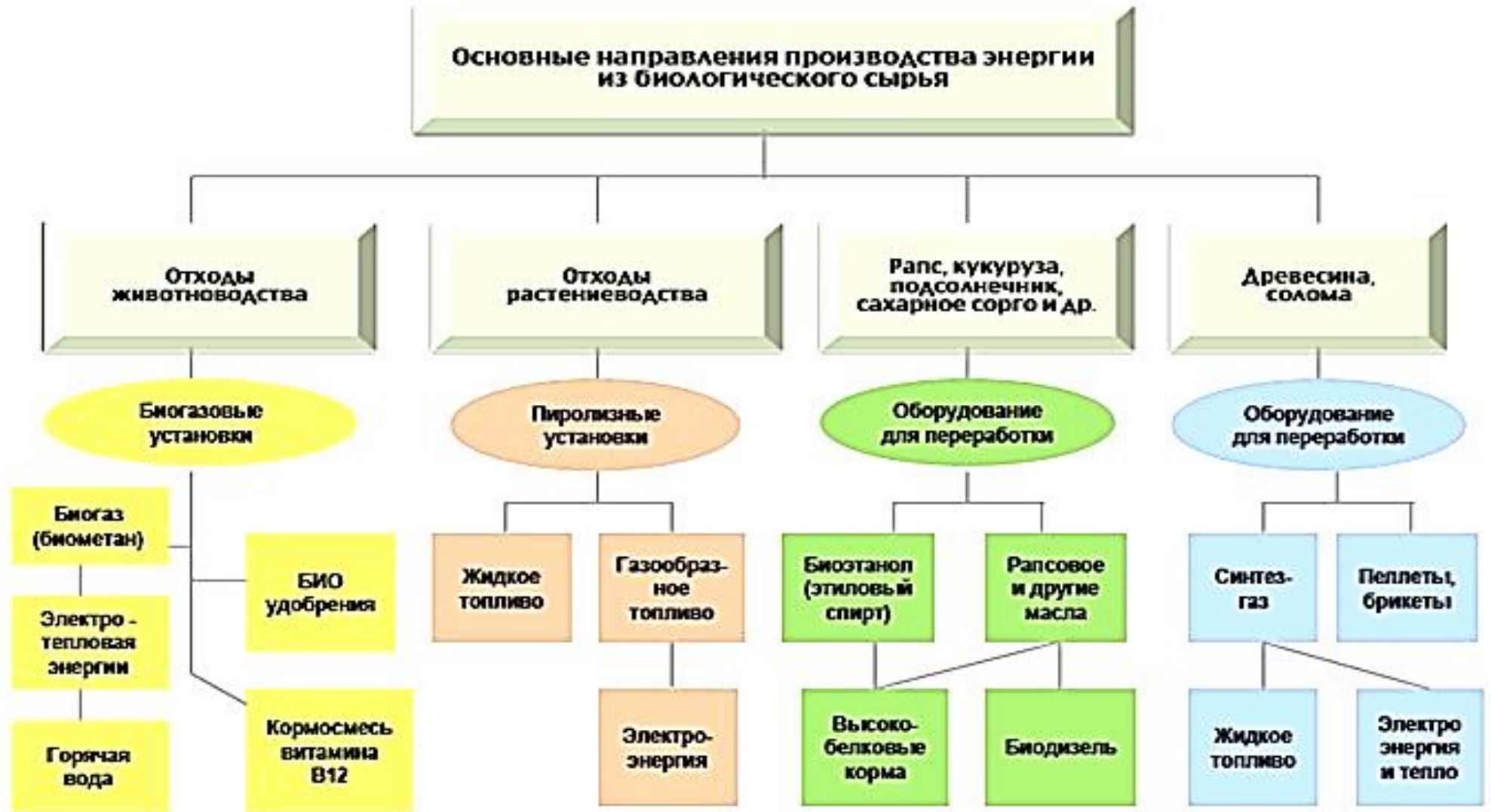


Рисунок 10 – Основные направления производства энергии из биотехнологического сырья
(<https://cf.ppt-online.org/files/slide>)

Основные этапы получения биогаза из биомассы (навоза)

Биогаз - это возобновляемое и экологически чистое топливо, изготовленное из 100 % местного сырья, которое подходит для различных областей применения, включая топливо для автомобильного транспорта и промышленного использования.

Биогаз – это смесь, содержащая 50-80 % метана и 20-50 % углекислого газа, также содержащая 1 % сероводорода и примеси азота, кислорода, водорода и угарного газа.

Производство биогаза осуществляется периодическим или непрерывным способом в железобетонных или металлических аппаратах для анаэробного культивирования, которые называются *биореакторы*, или *метантенк*.

Биометаногенез – это процесс превращения биомассы в энергию. Это сложный микробиологический процесс, при котором органическое вещество разлагается до диоксида углерода и метана в анаэробных условиях. В анаэробном процессе биометаногенеза участвуют свыше 190 различных микроорганизмов.

Получение биогаза осуществляется из широкого спектра сырья. Материалы, пригодные для получения биогаза, включают в себя: биоразлагаемые отходы предприятий и промышленных объектов, такие как излишки лактозы от производства безлактозных молочных продуктов; испорченные продукты из магазинов; биоотходы, произведенные потребителями; шлам от очистных сооружений; навоз и полевая биомасса от сельского хозяйства; стоки крахмалоперерабатывающих предприятий, отходы сахарных и спиртовых заводов, бытовые отходы, сточные воды городов.

Стадии биометаногенеза:

1. *Ферментативный гидролиз*. Она осуществляется различными микроорганизмами, способными к спиртовому, маслянокислому, пропионовому, ацетонобутиловому и другим видам брожения (энтеробактерии, клостридии, стрептококки, лактобациллы). Под действием экстрацеллюлярных ферментов гидролизу подвергаются сложные многоуглеродные соединения – белки, липиды, полисахариды. Около 76 % органических веществ переходит в высшие жирные кислоты, до 20 % – в ацетат и 4 % – в водород.

2. *Ацидогенез* (кислотообразование). На этой стадии участвуют две группы микроорганизмов: 1-ацетогенные (ферментируют моносахариды, спирты и органические кислоты с образованием H_2 и CO_2 , низших жирных кислот, в основном ацетата, спиртов и некоторых других низкомолекулярных соединений) и 2-гомоацетатные (усваивают H_2 и CO_2 , образуют водород). Образуется 52 % ацетата и 24 % водорода.

3. *Метаногенез*. Все известные метанобразующие бактерии могут получать энергию в результате окисления водорода и превращая углекислоту в метан. Метаногенные бактерии образуют из ацетата 72 % метана, из H_2 и CO_2 – 28 % метана.

Остаточные твердые вещества и жидкости, образующиеся при получении биогаза, называются **дигестатом**. Дигестат поступает в реактор после варочно-

го котла и оттуда – далее в резервуары для хранения. Дигестаты хорошо подходят для таких применений, как удобрение полей.

В настоящее время в Беларуси эксплуатируется 34 биогазовые установки (таблица 20) общей установленной мощностью 40,82 МВт.

Таблица 20 – Биогазовые установки в Республике Беларусь

Хозяйство	Год ввода в эксплуатацию	Сырье	Установленная электрическая (тепловая) мощность, кВт
РУСП СГЦ «Западный» Брестского района	2008	Навоз свиней, зерноотходы	520
РУСХНПП «Бел ЗОСП», Минского района	2008	Навоз КРС, куриный помет	340 (в стадии реконструкции)
ОАО «Гомельская птицефабрика»	2009	Куриный помет	330
Бобруйский гидролизный завод	2009	Послеспиртовая барда	700 (тепловая)
Полигон КБО «Тростенец», г. Минск	2009	Органические коммунально-бытовые отходы	3600
Полигон КБО «Северный», г. Минск	2012	Органические коммунально-бытовые отходы	5600
СПК «Агрокомбинат «Снов» Несвижского района	2012	Навоз свиней, зерноотходы, кукурузный силос	2200
СПК «Лань-Несвиж» Несвижского района	2012	Навоз свиней, кукурузный силос	1400
ОСП «Березинский спиртзавод» УП «Минск-кристалл»	2012	Послеспиртовая барда	500(тепловая)
СПК «Рассвет» Кировского района	2012	Навоз КРС, кукурузный силос, зерноотходы	4800
Полигон КБО, г. Орша	2012	Органические коммунально-бытовые отходы	171
Туровский молочный комбинат	2012	Молочная сыворотка	600 (тепловая)
ОАО «Беларуськалий» СХЦ «Величковичи» Солигорского района	2013	Навоз КРС	370
Агрофирма «Лебедево» Молодечненского района	2013	Навоз КРС, зерноотходы	500
Полигон КБО, г. Витебск	2013	Органические коммунально-бытовые отходы	1063

Продолжение таблицы 20

Хозяйство	Год ввода в эксплуатацию	Сырье	Установленная электрическая (тепловая) мощность, кВт
Полигон КБ0, г. Гомель	2013	Органические коммунально-бытовые отходы	1063
ОАО «Милкавита», г. Гомель	2013	Молочная сыворотка	600 (тепловая)
Пружанский Молочный комбинат	2014	Молочная сыворотка	600 (тепловая)
Вилейский производственный участок ОАО «Молодечненский молочный комбинат»	2014	Молочная сыворотка	600 (тепловая)
Полигон КБ0, г. Гомель	2015	Органические коммунально-бытовые отходы	635
Э/б «Зазерье» РУП НПЦ НАН Беларуси по механизации сельского хозяйства	2016	Навоз КРС, зерноотходы, молочная сыворотка	250
Полигон КБ0, г. Могилев	2017	Органические коммунально-бытовые отходы	835
ОАО «Василишки» Щучинского района	2019	Навоз свиней, КРС, зерноотходы	3 БГУ по 1000кВт
ОАО «Парахонское» Пинского района	2019	Навоз КРС, зерноотходы	2 БГУ по 1000кВт
Агрокомбинат «Мир» Барановичского район	2019	Навоз КРС	2000
ОАО «Беловежский», Каменецкого района	2019	Навоз свиней, КРС, зерноотходы	2000
СПК «17 сентября», Несвижский район	2019	Навоз КРС, куриный помет	2000
Слонимский водоканал	2020	Сточные воды	274

Главным звеном биогазовой установки является реактор для сбраживания навоза, по типу которого составлена классификация биогазовых установок, предназначенных для сбраживания навоза различного вида и состава.

Различные конструктивные и технологические решения относятся к так называемым реакторам первого поколения – традиционным метантенкам, имеющим две или более секций, в которых осуществляется частичное разделение стадий анаэробного сбраживания.

Конструкции метантенков достаточно разнообразны, отличаются главным образом гидравлическим режимом (проточные или периодического наполнения) и способами загрузки (непрерывный или периодический).

При непрерывной (проточной) схеме навоз загружают через определенные промежутки времени (до 10 раз в сутки), удаляя такое же количество сброженной массы. При соблюдении всех условий сбраживания такая схема позволяет получить максимальный выход биогаза.

При периодической схеме метантенки (их обычно два) загружают по очереди. При этом свежий навоз смешивают с остатками сброженного навоза. Газ начинает образовываться по истечении 5-10 суток и при достижении максимального количества постепенно снижается до минимума. Затем сброженный навоз выгружают и метантенки снова загружают свежим навозом.

Задание 2. Зарисовать схему биогазовой установки (рисунок 11).

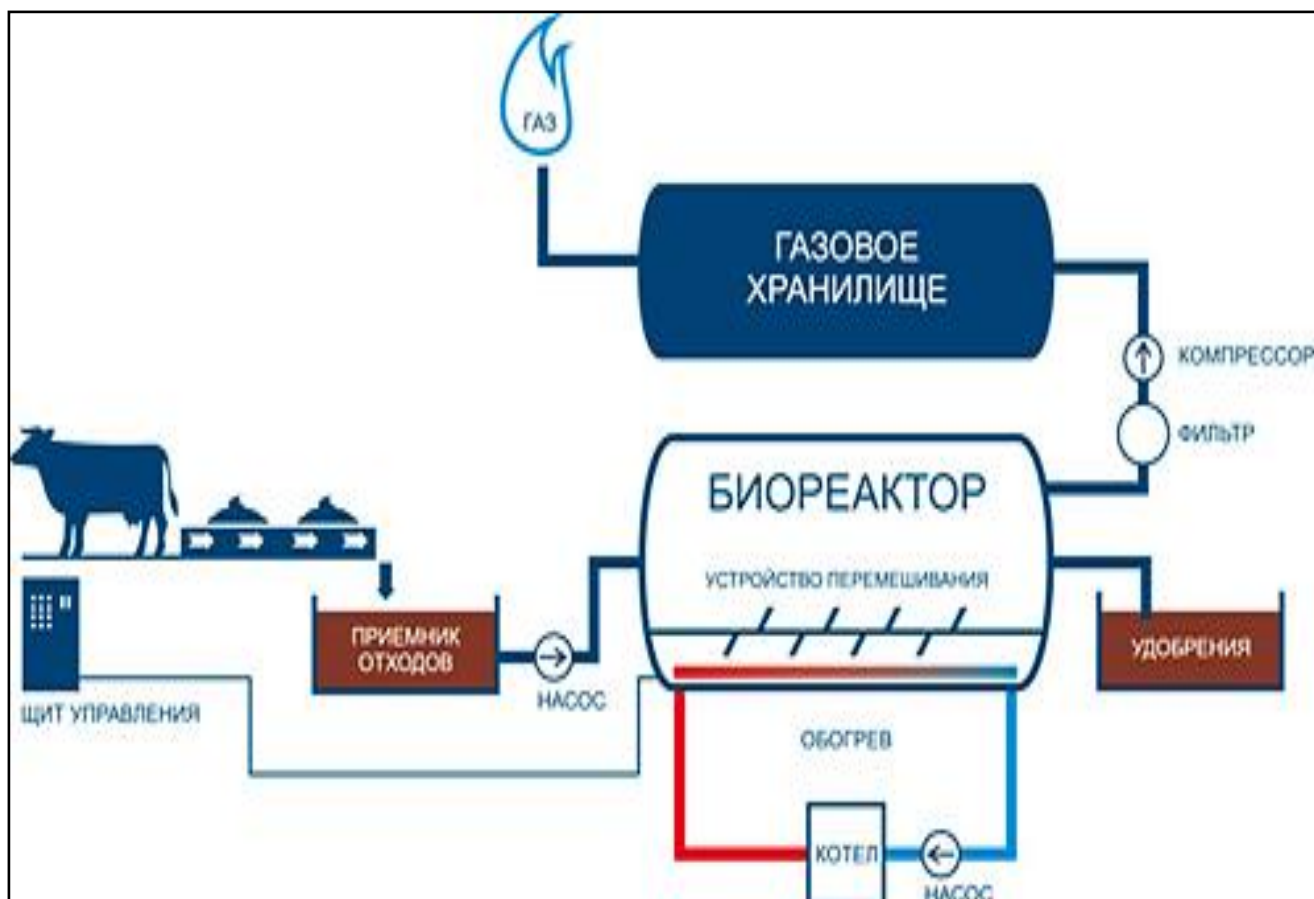


Рисунок 11 - Схема биогазовой установки
(<https://sudremkomplekt.ru/assets/nico>)

Задание 3. Изучить классификацию биогазовых установок (рисунок 12).



Рисунок 12 – Классификация биогазовых установок (по Ю.А. Горбунову)

Задание 4. Изучить и заполнить таблицу 21.

Таблица 21 – Показатели выхода биогаза из навоза животных и птицы

Показатель	Крупный рогатый скот	Птица	Свиньи	Кони	Овцы
Выход навоза, кг/гол./сут.	55,0	0,2	3,5	30,0	3,0
Выход биогаза, м ³ /гол./сут.	0,20-0,340	0,31-0,620	0,340-0,580	0,200-0,300	0,300-0,620
Содержание метана, %	65	60	65-70	60	70

Задание 5. Запишите ответы на вопросы в рабочую тетрадь.

Запись оформите в виде таблицы.

№ вопроса	Ответ
1	
2	
...10	

1. Наука, которая изучает процессы превращения органических веществ в энергию в живых организмах, называется:

- а) биотрансформация;
- б) биоэнергетика;
- в) биометрия.

2. Органическое вещество, генерируемое растениями в процессе фотосинтеза:

- а) биомасса;
- б) биогаз;
- в) биоэтанол.

3. Назовите способы утилизации навоза.

- а) механические, биологические, захоронение;
- б) первичные, вторичные, радиоактивные;
- в) компостирование, получение удобрения в виде брикетов и гранул, получение биогаза из навоза.

4. Переработка твердых отходов включает:

- а) получение биогаза;
- б) ферментативный гидролиз;
- в) захоронение.

5. Биогаз – это:

- а) продукт разложения органических веществ растительного и животного происхождения под воздействием бактерий;
- б) продукт адсорбции ферментов на нерастворимых носителях;
- в) смесь, содержащая отходы сельскохозяйственного производства, сахарных и спиртовых заводов.

6. Стадии биометаногенеза:

- а) механическая, химическая, ферментативная;
- б) ферментативный гидролиз, тепловая, метаногенез;
- в) ферментативный гидролиз, кислотообразование, метаногенез.

7. Основные источники загрязнения и засорения поверхностных и подземных вод:

- а) механическое, химическое, биологическое, тепловое, радиоактивное;
- б) первичное, вторичное, третичное;
- в) химическое, радиоактивное, вторичный отстой сточных вод.

8. Основные задачи биотехнологии переработки органических отходов:

- а) использование ферментативной активности клеток микроорганизмов, получение биогаза;
- б) защита окружающей среды от токсических отходов животноводства, получение удобрения – зоогумуса;
- в) производство кормовых дрожжей, получение биогаза.

9. Биологическая очистка сточных вод включает:

- а) захоронение, окисление, адсорбцию;

б) добавление в сточные воды реагентов, вступающих в реакцию с загрязнителями;

в) использование физиологического самоочищения рек и других водоемов.

10. Химическая очистка сточных вод включает:

а) добавление в сточные воды реагентов, вступающих в реакцию с загрязнителями;

б) адсорбцию, электролиз, фильтрацию;

в) удаление механических примесей, экстракцию.

11. Механическая очистка сточных вод включает:

а) использование физиологического самоочищения рек и других водоемов;

б) удаление механических примесей, отстаивание, фильтрацию;

в) окисление, адсорбцию, добавление в сточные воды реагентов.

12. Физико-химическая очистка сточных вод включает:

а) отстаивание, улавливание частиц песколовками, нефтеловушками;

б) окисление, адсорбцию, ультразвук, высокое давление;

в) ультразвук, электролиз, фильтрацию, отстаивание.

Список рекомендуемой литературы

ОСНОВНАЯ

1. Основы генетической инженерии и биотехнологии : учебник для студентов учреждений высшего образования по специальности «Зоотехния» / Ю. А. Горбунов [и др.] ; ред. Ю. А. Горбунов. – Минск : ИВЦ Минфина, 2016. – 344 с. – Библиогр.: с. 329–330.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ

1. Базылев, С. Е. Словарь терминов и определений по биотехнологии : учебно-методическое пособие для студентов по специальностям: «Зоотехния», «Ветеринарная медицина», «Ветеринарная санитария и экспертиза», «Ветеринарная фармация» / С. Е. Базылев, В. В. Скобелев ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. - Витебск : ВГАВМ, 2020. –39 с.

2. Вербицкий, А. А. Основы ветеринарной биотехнологии : учебно-методическое пособие для студентов по специальности «Ветеринарная медицина» / А. А. Вербицкий [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Кафедра микробиологии и вирусологии. - Витебск : ВГАВМ, 2019. – 131 с.

3. Лебедько, Е. Я. Биотехнология в животноводстве : учебник / Е. Я. Лебедько, П. С. Катмаков, А. В. Бушов, В. П. Гавриленко. – Санкт-Петербург ; Москва ; Краснодар : Лань, 2020. – 159 с.

4. Чхенкели В. А. Биотехнология : учебное пособие для студентов высших аграрных учебных заведений, обучающихся по направлению "Зоотехния" и специальности «Ветеринария» / В. А. Чхенкели. – Санкт-Петербург : Проспект науки, 2014. – 335 с.

5. Якупов, Т. Р. Молекулярная биотехнология : учебник / Т. Р. Якупов, Т. Х. Фаизов. – 3-е изд. стер. – Санкт-Петербург ; Москва ; Краснодар : Лань, 2021. – 158 с.

6. Тузова, Р. В. Молекулярно-генетические механизмы эволюции органического мира. Генетическая и клеточная инженерия / Р. В. Тузова, Н. А. Ковалев ; Национальная академия наук Беларуси, Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. – Минск :Беларуская навука, 2010. – 395 с. : ил.

Учебное издание

Вишневец Андрей Васильевич,
Видасова Татьяна Викторовна,
Зяц Олег Викторович,
Яцына Ольга Алексеевна

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Методические указания

Ответственный за выпуск А. В. Вишневец
Технический редактор Е. А. Алисейко
Компьютерный набор О. А. Яцына
Компьютерная верстка Ю. Ю. Корнишкова
Корректор Е. В. Морозова

Подписано в печать 06.02.2026. Формат 60×84 1/8.

Бумага офсетная. Ризография.

Усл. печ. л.5,25. Уч.-изд. л. 4,83. Тираж 85 экз. Заказ 2611.

Издатель: учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/ 362 от 13.06.2014.

Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.

Тел.: (0212) 48-17-70.

E-mail: rio@vsavm.by

<http://www.vsavm.by>

ISBN 978-985-591-274-4

