

УКРАИНСКАЯ АКАДЕМИЯ АГРАРНЫХ НАУК
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ ЖИВОТНЫХ

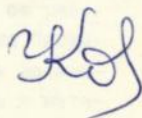
На правах рукописи

КОВАЛЬ
Леся Васильевна

**НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ
ШЕРСТИ ОВЕЦ**

03.00.04 — биохимия
03.00.07 — микробиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук



Львов — 1992

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00825539 (W)

№ 26, 436

Работа выполнена в лаборатории биохимических основ шерстеобразования Института физиологии и биохимии животных УААН и кафедре микробиологии Львовского госуниверситета им. И. Франко.

Научные руководители: доктор биологических наук, член-кор. УААН, профессор И. А. МАКАР; кандидат биологических наук, доцент Р. А. КУЗНЕЦОВА.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, академик УААН и РСХА, профессор Ф. Ю. ПАЛФИИ; кандидат ветеринарных наук, доцент Б. Д. ИВАСЬК.

Ведущее учреждение — Институт земледелия и животноводства западных регионов УААН.

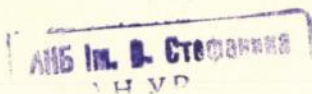
Защита состоится «23» февраля 1993 г. в 10 часов на заседании специализированного совета Д 020.14.01 при Институте физиологии и биохимии животных УААН, 290034, г. Львов, ул. В. Стуса, 38.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии и биохимии животных УААН.

Автореферат разослан «22» января 1993 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
кандидат биологических наук

В. Е. РОБАК



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Шерсть является ценнейшим и незаменимым сырьем для текстильной промышленности. Поэтому вопрос об сохранении, а тем более улучшении ее качества по-прежнему остается одним из самых главных на повестке дня научных сотрудников и специалистов сферы овцеводства.

Среди многочисленных факторов, определяющих качество шерсти, особенно таких, как наследственность, уровень кормления овец, условия их ухода и содержания, организация и техника проведения стрижки, сортировка, хранение и т.п., особое место отводится деятельности микроорганизмов / Шапошников В.Н., 1964; Уансен Ф. Хауес М., 1983 /. Именно они в процессе своей жизнедеятельности вызывают повреждение шерстного волокна вплоть до его полного распада. И вообще микробиологическое разрушение - один из наиболее распространенных видов разрушения текстильных материалов. Около 40 % повреждений происходит под действием микроорганизмов, в результате чего текстильные изделия если не полностью, то в значительной мере приходят в непригодность. Потери, вызываемые биоразрушением волокнистых материалов, исчисляются ежегодно сотнями миллионов рублей. Источники микробного поражения шерсти и текстильных материалов весьма многообразны. Поэтому проблема предохранения ее от биоповреждений является проблемой большой экономической важности. Однако, микробный характер повреждений, глубина и характер деструкции волокна как в процессе его морфогенеза, так и при хранении и переработке шерсти исследованы крайне недостаточно. Отсутствуют также необходимые сведения о видовом составе микрофлоры шерсти, ее морфологических, культуральных и биохимических особенностях, отношении к факторам внешней среды и др.

В связи с вредным влиянием, оказываемым микроорганизмами на шерсть, закономерно встает вопрос о защите этого вида сырья. Однако, применение эффективных методов защиты текстиля от разрушения микроорганизмами требует, прежде всего, познания биохимических, а в ряде случаев просто химических механизмов взаимодействия между микроорганизмами-деструкторами, биоцидом и материалом. Эта сложная система взаимосвязи находится под непрерывным влиянием факторов внешней среды, условий эксплуатации изделий и представляет в научном и практическом плане эколого-технологическую проблему.

Цель и задачи исследований. Целью настоящей работы было с одной стороны, изучить некоторые биохимические аспекты микробиологической деструкции шерстных волокон, а с другой — выяснить характер влияния антибактериального агента на активные микробы-разрушители.

Для решения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить микрофлору шерсти у овец разных пород.
2. Выделить накопительные и чистые культуры микробов-деструкторов шерсти, изучив при этом их биологические особенности.
3. Установить структурно-химические изменения шерстного волокна.
4. Исследовать влияние антимикробного вещества на рост активных микробов-разрушителей.

Научная новизна работы. В работе впервые дана принципиально новая биохимическая интерпретация механизмам микробиологической деструкции шерстных волокон, особенностям распада разных морфологических типов волокон под влиянием активных микробов-разрушителей с использованием выделенных с нативной шерсти ее структурных компонентов — кератоз.

Впервые показано ингибирующее влияние полиароматического соединения естественного происхождения в качестве антибактериального агента против бактерий-деструкторов шерстного волокна.

Практическая ценность работы. Полученные экспериментальные результаты с успехом могут быть использованы в научно-исследовательской работе по изучению биохимических и микробиологических основ деструкции текстиля вообще, и, в частности, шерстных волокон. Сведениями о влиянии полиароматического соединения естественного происхождения в качестве антибактериального агента против бактерий-деструкторов шерсти можно руководствоваться при организации защитных мер в борьбе с биоразрушениями.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены на:

- научно-теоретической конференции молодых ученых и аспирантов /Каменец-Подольский, 1989/;
- XVIII зональной конференции молодых ученых "Вклад моло-

дых ученых в развитие АПК УССР" / Аскания-Нова, 1989 /.

Публикация результатов исследований. По материалам диссертационной работы опубликовано 9 работ, в том числе рационализаторское предложение. По результатам исследований, особенно о влиянии антимикробного агента на активные микробы-деструкторы шерстного волокна получена приоритетная справка № 4618693/13 на авторское свидетельство.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 101 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований / материал и методы, результаты исследований /, обсуждения результатов исследований, выводов, практических предложений, списка литературы. Последний включает 162 источника, из них 80 - на иностранных языках. Диссертация содержит 2 схемы, 14 таблиц и 5 рисунков.

Материал и методы. Для изучения микрофлоры руна использовали немытую годовичного роста шерсть, образцы которой отбирали весной /при бонитировке/ у баранов-производителей следующих пород: советская мясо-шерстная /горный тип/, пугайская, асканийская кроссбредная, горнокарпатская. Животные находились в одинаковых условиях содержания зональной Горнокарпатской опытной станции. Шерсть пород меринофляйш, латвийская темноголовая, новозеландский корридель, асканийская черноголовая, полварс х прекос, австралийский корридель х прекос взята от животных колхоза "Більшовик" Сокальского района, Львовской области. Образцы шерсти австралийского мериноса получены из опытного хозяйства "Аскания-Нова" Украинского НИИ животноводства степных районов им. М.Ф.Иванова.

Для исследований использовали штапель или косицу из бока животного, которые затем разделяли на верхнюю и нижнюю зоны.

Микроорганизмы шерсти выделяли по модифицированной нами методике /Коваль Л.В., 1988/. Накопительные культуры микроорганизмов-деструкторов шерсти были получены из образцов тонкой и полугрубой шерсти. Пораженные волокна переносили на следующие питательные среды: мясо-пептонный агар - для выделения бактерий, сусло-агар - грибов, крахмально-аммиачный агар - для обнаружения актиномицетов. Среда для различных групп микроорганизмов готовили общепринятым методом.

Чистые культуры получали из накопительных методом Коха. Био-

логические особенности выделенных культур бактерий-деструкторов изучали общепринятыми методами.

Биомассу бактерий определяли турбидиметрически на фотоэлектроколориметре ФЭК-М /кювета 3 мм, зеленый светофильтр/.

Структуру шерсти /соотношение кератоз/ изучали модифицированным методом И.А.Макара /1977/, в основу которого положен метод Корфилда / *Cogfield M.C. 1963/*.

Общий азот в шерсти определяли методом Кьельдаля, а серу - методом, разработанным в лаборатории биохимических основ шерстеобразования Украини физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных /Макар И.А., 1977/.

Содержание цистина в шерсти определяли по методу Фолина и Марензи в модификации Цана и Траумана /*Zahn A., Traumann U., 1954/*. гексозамины - по методу Боас /*Boas N.P., 1965/*.

Количество жиропота определяли весовым методом после экстракции воска органическим растворителем в аппарате Соклетта, а содержание пота - водной вытяжкой. рН пота измеряли на иономере универсальном ЭВ-74.

Прочность шерсти определяли по методу В.В.Калинина с соавторами /1970/ с помощью динамометра ДШ-3М.

Полученные результаты обрабатывали статистически по Ойвину /1960/.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение микрофлоры шерсти у овец разных пород

Результаты исследований /Табл. I/ показали, что микрофлора руна овец разных пород довольно разнообразна и широко колеблется в количественном отношении. Наибольшая бактериальная обсемененность шерсти обнаружена у овец породы новозеландский корридель и полварс х прекос /соответственно 91333×10^6 и 47666×10^6 / г шерсти верхней зоны штапеля. Значительно меньше микроорганизмов выявлено в нижней зоне штапеля шерсти овец этих пород. Наименьшая обсемененность верхней зоны штапеля обнаружена у овец породы австралийский меринос 190×10^6 / г шерсти/. Обсемененность нижней зоны штапеля шерсти овец всех исследуемых пород /за исключением австралийского мериноса/ значительно ниже и составляет 0,005 % от обсемененности верхней зоны штапеля у овец породы советская мясо-шерстная до 6 % - у овец полварс х прекос. У австралийских мериносов количество мик-

роорганизмов в нижней зоне штапеля составляет 52 % от числа их, обнаруженного в верхней зоне.

Таблица I

Количество микроорганизмов в шерсти овец
разных пород.

$M \pm m, n=3$

№ п/п	П о р о д а	Количество микроорганизмов в 1 г шерсти $\times 10^6$	
		верхняя зона шта- пеля, косицы	нижняя зона штапе- ля, косицы
I.	Советская мясо-шерстная	14433 \pm 88,2	0,73 \pm 0,03
2.	Цыгайская	7000 \pm 435,9	0,40 \pm 0,01
3.	Горнокарпатская	4533 \pm 176,4	0,29 \pm 0,02
4.	Асканийская кроссbredная	2066 \pm 145,3	0,40 \pm 0,02
5.	Австралийский меринос	90 \pm 4,3	47,00 \pm 0,57
6.	Новозеландский корридель	91333 \pm 1202,2	390,00 \pm 15,27
7.	Асканийская черноголовая	37333 \pm 881,9	330,00 \pm 15,27
8.	Полварс \times прекос	47666 \pm 882,0	2937,00 \pm 17,60
9.	Меринофляйш	5210 \pm 5,9	44,00 \pm 0,90
10.	Австралийский корридель \times прекос	637 \pm 21,9	1,20 \pm 0,03
II.	Латвийская темноголовая	197 \pm 8,8	0,45 \pm 0,03

Можно полагать, что такое четко выраженное распределение микрофлоры по зонам штапеля или косицы у неоднородной шерсти объясняется, в первую очередь, микроклиматом самого руна - температурой и влажностью, количеством пота, значением его pH.

С другой стороны, различия в обсемененности руна могут быть частично объяснимы разными условиями содержания животных, санитарно-гигиеническим состоянием помещений и т.п. Однако, в колхозе "Більшовик" Сокальского района, Львовской области овцы таких пород, как новозеландский корридель и латвийская темноголовая, асканийская черноголовая и помесь австралийский корридель \times прекос, меринофляйш и полварс \times прекос содержались в одинаковых условиях и, тем не менее, по бактериальной обсемененности их шерсть резко отличалась. Аналогичная картина наблюдалась и у овец опытного хозяйства зональной Горнокарпатской опытной станции /породы советская мясо-шерстная и асканийская кроссbredная/. Все это дает нам

право сделать заключение о том, что степень бактериальной обсемененности шерсти различных пород овец, находящихся даже в одинаковых условиях содержания, различна. И, кроме того, во всех без исключения случаях шерсть верхней зоны штапеля /или косицы/ отличается наибольшей бактериальной обсемененностью.

Изучение составе жиропота шерсти и его pH также позволили установить некоторые различия по этим показателям у исследованных пород. В частности, наибольшее количество воска /не зависимо от зоны штапеля/ содержится в шерсти таких пород, как австралийский меринос, новозеландский корридель и полварс х прекос. В шерсти овец остальных пород количество жира в целом ниже установленного для каждой из них среднего уровня. Особенно это касается цигайских овец, асканийских кроссбредов и советской мясошерстной.

Возможно, это результат специфических условий горного климата, в которых содержались эти группы животных. Содержание пота в обеих зонах штапеля шерсти колеблется в широких пределах у различных пород овец и его влияние на обсемененность шерсти, по-видимому, маловероятно. Аналогичное заключение можно сделать и в отношении pH пота. Этот показатель находится в пределах нормы у всех исследованных пород.

Полученные данные позволяют выявить некоторую взаимосвязь между количественной характеристикой жиропота и бактериальной обсемененностью шерсти овец. Особенно четко эта связь прослеживается в отношении содержания воска в составе жиропота обеих зон штапеля шерсти у овец породы новозеландский корридель и помесей полварс х прекос. В то же время, шерсть австралийского мериноса, характеризующаяся высоким содержанием воска в жиропоте, но более низким значением его pH, оказалась слабо обсемененной.

Микробиологическая деструкция шерстного волокна

Не лишним будет напомнить, что воздействие микроорганизмов на шерсть в ракурсе новых подходов изучения текстиля вообще начало привлекать внимание исследователей лишь в последнее время. По этой причине ряд вопросов на сегодня остается так и не решенными. Это касается, в частности, влияния микроорганизмов на структурную организацию волокна, его состав, а значит и физико-механические свойства. Именно это обстоятельство и побудило нас к постановке такого рода исследований.

Итак, преобладающими деструкторами шерсти, выделенными нами в условиях моделированных опытов с использованием различных типов шерстных волокон, оказались бактерии /получено 22 чистые культуры/. Клетки большинства культур палочковидные, у некоторых из них они соединены в цепочку различной длины. В остальных клетки сферические, одиночные, а также соединенные в диплококки и стафилококки. Большинство выделенных культур - это грамположительные бактерии, грамотрицательные виды встречаются значительно реже.

Преобладающее большинство выделенных бактерий образуют овальные эндоспоры, расположенные в разных частях клетки. Есть подвижные и неподвижные формы.

Рост культур на мясо-пептонном бульоне /МПБ/ характеризуется обильным помутнением среды, образованием тонкой сплошной пленки или образованием осадка. Характер роста на мясо-пептонном агаре /МПА/ весьма разнообразный /ризонидный, сплошной, четковидный и т.д./, однако не обильный. Некоторые культуры образуют желтый пигмент, остальные - бесцветны. Рост на молоке сопровождается либо коагуляцией, либо пептонизацией казеина.

Часть выделенных культур бактерий интенсивно разжижала мясо-пептонную желатину /МПЖ/. Отсутствие роста на среде Эмби указывает на то, что бактерии-деструкторы не способны фиксировать молекулярный азот. Ни одна из исследованных культур не образует газ при росте на МПБ с глюкозой. Часть культур способны использовать в качестве конечного акцептора электронов в дыхательной цепи не только молекулярный кислород, но и нитраты. Почти все культуры являются каталазоположительными.

В процессе роста на МПБ выделенные культуры бактерий вызывают аммонификацию белков субстрата, о чем свидетельствует более, или менее интенсивное образование аммиака.

Идентификация выделенных бактерий-деструкторов по "Краткому определителю бактерий Берги" /1980/ позволила нам отнести их к родам *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micococcus*, *Staphylococcus*. Для большинства выделенных культур бактерий свойственна высокая протеолитическая активность, что, в принципе, находится в соответствии с заключениями других исследователей /Закиров И.З., 1975; Толмачева Р.И., Стерлядкина И.Р., 1982/. Что же касается данных о приоритете различных групп микроорганизмов /бактерий, грибов, актиномицетов/ в процессе деструкции шерсти, то они до-

вольно противоречивы. Тем не менее, большинство авторов склонны считать, что микробы-разрушители в комплексе с факторами внешней среды своей жизнедеятельностью вызывают порчу шерсти, в результате чего происходит серьезное нарушение структуры волокна вплоть до его полного распада. Разумеется, в естественных условиях к частичному, в специально созданных - к полному. В условиях наших опытов мы подвергали шерсть /различные типы волокон/ воздействию культур, условно обозначенных № 69, 70 и 72 /наиболее активные продуценты протеолитических ферментов/, и их смесь в пробирках, содержащих кроме волокон K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $NaCl$.

Рассматривая процесс распада шерсти в динамике, было зафиксировано, что он поначалу проявляется в отслоении чешуек кутикулярного слоя, а затем заметно углубляется, захватывая кортекс. В результате этого в поле зрения микроскопа отчетливо видна картина "рассыпанных" веретенообразных клеток, что может свидетельствовать о почти полном расщеплении нативной структуры шерстного волокна.

Оказалось, что скорость деструкции шерсти менялась в зависимости от используемой культуры бактерий. Так, при действии чистой культуры № 70 уже через пять дней наблюдалось полное разрушение пуха однородной шерсти и ости полугрубой. Культура № 72 в такой же степени оказалась энергичным деструктором, вызвав в течение пяти дней деструкции полный распад пуховых волокон однородной шерсти, а также пуха и ости полугрубой. Сравнительно слабее разрушала шерсть культура № 69.

Следует подчеркнуть, что во всех случаях полугрубая неоднородная шерсть, как правило, подвергалась разрушению гораздо быстрее, чем тонкая, что, по всей вероятности, объясняется различием в структурной организации разных морфологических типов волокон, в частности, наличием в остевых волокнах сердцевины как рыхлой ткани. Пуховые волокна разрушались несколько медленнее.

Особого внимания заслуживает следующий факт: в течение эксперимента, продолжительностью 15 дней, сами чешуйки не подвергались микробному разложению. Можно полагать, что потеря прочности шерстного волокна, наблюдаемая в таких случаях, происходила за счет распада межклеточного вещества, то есть его матрикса /гамма-кератозы/. Разрывное усилие шерстных волокон, поврежденных микроорганизмами, уже через пять дней деструкции заметно снизилось / на 2,68 км - у пуховых волокон однородной шерсти и на

3,90 км - в остевых волокон смешанной.

Важно отметить, что применение смеси бактерий-деструкторов не проявляло суммарного эффекта в ускорении распада шерсти. Скорость разложения шерстного волокна практически не возрастала.

Биохимическая характеристика поврежденной
микроорганизмами шерсти

Как уже упоминалось, если морфологические изменения шерстного волокна под влиянием бактерий и грибов в литературе частично и описаны /Санков Е.А. и др., 1972 ; Вигдэль Э., 1924 /, то биохимические механизмы микробиологической деструкции шерсти почти или совсем не изучены. Поэтому, с целью получения хотя бы приближенного представления о глубине и характере процессов, протекающих при деструкции шерсти, мы исследовали структуру разных типов волокон, положив в основу такой интегральный показатель, как количественные соотношения кератоз.

Из данных, представленных в таблице 2 видно, что неповрежденные пуховые волокна однородной шерсти /контроль/ по своей структуре отличаются от таких же неповрежденных смешанной полугрубой шерсти, причем различия эти происходят в основном за счет перераспределения альфа- и бета-кератоз.

Таблица 2

Соотношение кератоз в различных типах шерстных
волокон / % на сухое вещество/

$M \pm m, n=3$

Тип волокон	К е р а т о з ы		
	альфа-	бета-	гамма-
Пух однородной шерсти	59,16 \pm 0,58	11,50 \pm 0,14	29,34 \pm 0,44
Пух неоднород- ной шерсти	44,77 \pm 0,17	25,93 \pm 0,08	28,99 \pm 0,42
Ость неоднород- ной шерсти	45,06 \pm 0,85	24,49 \pm 0,31	29,79 \pm 0,13

Так, пух однородной шерсти содержит значительно меньше бета-кератозы и сравнительно больше альфа-фракции, то есть белка макро- и микрофибрилл. Результаты, представленные в таблице 3, характеризуют количественное соотношение кератоз в образцах

Таблица 3

Соотношение кератоз в поврежденной микроорганизмами шерсти
/ % на сухое вещество /

M ± m, n = 3

Тип волокон	№	Через 5 дней деструкции			Через 10 дней деструкции		
		Кератозы			Кератозы		
		альфа-	бета-	гамма-	альфа-	бета-	гамма-
Пух однород- ной шерсти	№ 69	59,44±0,15	11,84±0,01	28,71±0,15	56,75±0,22	12,51±0,01	30,73±0,24
	№ 70	Полное разрушение			Полное разрушение		
	№ 72	Полное разрушение			Полное разрушение		
	Смесь	59,39±0,22	10,66±0,29	29,95±0,10	Полное разрушение		
Пух неоднород- ной шерсти	№ 69	52,77±1,13	16,75±0,06	30,48±1,09	56,82±0,27	16,86±0,01	26,32±0,27
	№ 70	54,62±0,79	17,07±0,10	28,31±0,69	Полное разрушение		
	№ 72	Полное разрушение			Полное разрушение		
	Смесь	56,56±0,21	15,36±0,12	28,08±0,33	Полное разрушение		
Ость неоднород- ной шерсти	№ 69	55,34±0,04	16,09±0,13	28,57±0,17	Частичное разрушение		
	№ 70	Полное разрушение			Полное разрушение		
	№ 72	Полное разрушение			Полное разрушение		
	Смесь	Частичное разрушение			Полное разрушение		

Примечание: · - P < 0,05 ; ··· - P < 0,01
 ·· - P < 0,02 ; ···· - P < 0,001

шерсти, поврежденной бактериями-деструкторами в процессе ее разрушения. Как видно, культура № 69 более слабо разрушала испытуемые типы волокон. Поэтому мы еще смогли зафиксировать хотя и видоизмененную, но все же свойственную неповрежденному волокну структуру. Последняя изменялась, главным образом, за счет бета-фракции. Совсем иную картину наблюдали в случае применения культуры № 70. Последняя, как это отчетливо видно из приведенных данных, уже через пять дней вызвала полное разрушение пуха однородной шерсти и ости полугрубой. Такой же "эффект" по отношению пуха однородной шерсти, пуха и ости неоднородной полугрубой шерсти проявляла и культура № 72.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что структура шерсти в процессе деструкции претерпевает ряд характерных изменений, что подтверждается изменением соотношения кератоз. Исследованиями также установлено, что различные культуры бактерий-деструкторов проявляют не только существенное, но и четко выраженное специфическое воздействие на различные морфологические типы шерстинок. Например, оказалось, что уже 5-ти дневной инкубации культур № 70 и № 72 было достаточно для полной деструкции шерсти, а значит ее структурной организации.

Как известно, одним из наиболее важных элементов, принимающих самое непосредственное участие в процессах шерстеобразования, а значит и в формировании структуры волокна, является сера. Наши исследования /Табл.4/, в первую очередь, подтвердили ранее установленные сведения о том, что различные типы волокон различаются по содержанию общей серы: у пуховых волокнах содержание ее несколько больше, чем в ости. Среди испытуемых культур бактерий особенно заметное влияние на содержание общей серы оказывала культура № 72. Ее развитие вызвало уменьшение серы в пуховых волокнах однородной шерсти в среднем на 9,1 %, а неоднородной - 7,2 %. Различные культуры по-разному влияли на содержание серы в волокнах в процессе их деструкции. Если культура № 69 почти не вызвала резкого уменьшения содержания этого элемента в шерстинках, то культура № 70, наоборот, проявляла в этом отношении особенно агрессивное воздействие, причем по отношению остевых волокон спустя десять дней их инкубации. Хотелось бы отметить суммарный эффект воздействия смеси микроорганизмов на содержание серы, который наиболее отчетливо просматривался через десять дней культивирования бактерий на субстратах пуховых волокон. Со-

Таблица 4

Содержание общей серы в неповрежденных / контроль / и поврежденных / опыт / микроорганизмами шерстных волокнах / % на сухое вещество / факторы

M±m, n = 3

№ бак. факторы	Морфологические типы волокон		
	Пух однородной шерсти	Пух неоднородной шерсти	Ость неоднородной шерсти
Контроль	2,63±0,03	2,75±0,01	2,55±0,03
Через 5 дней деструкции			
№ 69	2,61±0,03	2,59±0,01.....	2,52±0,04
№ 70	2,62±0,05	2,75±0,02	2,51±0,05
№ 72	2,44±0,10	2,50±0,01.....	2,54±0,03
Смесь	2,53±0,08	2,75±0,03	2,52±0,04
Через 10 дней деструкции			
№ 69	2,63±0,03	2,53±0,03.....	2,50±0,07
№ 70	2,60±0,04	2,73±0,03	2,19±0,01.....
№ 72	2,41±0,04.....	2,50±0,03.....	2,53±0,02
Смесь	2,49±0,05	2,42±0,03.....	2,50±0,09

вопрос о количественном изменении серы, нельзя пройти мимо такого показателя, как цистин. Ведь известно, что последний в шерсти, поперечно соединяя главные полипептидные цепи кератина, образует дисульфидные связи. Да и вообще следует напомнить, что кератинизация шерстного волокна в буквальном смысле этого слова заключается в окислительном замыкании тиоловых групп в дисульфидные связи. При кератинизации освобождается энергия, способная обеспечить синтез более 1 % пептидных связей кератина. Не исключено, что микроорганизмы обладают способностью разрывать эти связи, нарушая тем самым нативную структуру шерстного волокна. Нашими исследованиями подтверждено снижение уровня цистина в шерсти, поврежденной микроорганизмами / Табл. 5 /. При этом оказалось, что по характеру и уровню деструкции различные культуры неодинаково влияли на показатели цистина. Так, культура № 72 за десять дней деструкции вызвала уменьшение цистина в пуховых волокнах однородной и особенно неоднородной шерсти. Культура № 70 резко уменьшила цистин в остевых волокнах, а смесь микроорганизмов - значительно уменьшила содержание его

Таблица 5
Содержание цистина в неповрежденной /контроль/ и поврежденной /опыт/ бактериями-деструкторами шерсти / % на сухое вещество /

№№ Бактерии- деструк- торы	Морфологические типы волокон		
	Пух однородной шерсти	Пух неоднородной шерсти	Ость неоднородной шерсти
Контроль	9,86 \pm 0,14	10,31 \pm 0,10	9,56 \pm 0,15
Через 5 дней деструкции			
№ 69	9,78 \pm 0,19	9,71 \pm 0,18	9,45 \pm 0,11
№ 70	9,82 \pm 0,16	9,60 \pm 0,20	9,42 \pm 0,17
№ 72	9,15 \pm 0,06	9,37 \pm 0,12	9,52 \pm 0,10
Смесь	9,67 \pm 0,10	9,67 \pm 0,09	9,45 \pm 0,08
Через 10 дней деструкции			
№ 69	9,78 \pm 0,08	9,48 \pm 0,17	9,41 \pm 0,16
№ 70	9,60 \pm 0,11	9,48 \pm 0,13	8,21 \pm 0,10
№ 72	9,03 \pm 0,06	9,18 \pm 0,06	9,03 \pm 0,11
Смесь	9,33 \pm 0,09	9,07 \pm 0,11	9,37 \pm 0,16

Таблица 6
Содержание осевого азота в неповрежденной /контроль/ и поврежденной /опыт/ бактериями-деструкторами шерсти / % на сухое вещество /

№№ Бактерии- деструк- торы	Морфологические типы волокон		
	Пух однородной шерсти	Пух неоднородной шерсти	Ость неоднородной шерсти
Контроль	14,92 \pm 0,03	15,44 \pm 0,05	15,24 \pm 0,04
Через 5 дней деструкции			
№ 69	14,51 \pm 0,03	14,15 \pm 0,09	13,79 \pm 0,04
№ 70	14,27 \pm 0,06	14,00 \pm 0,08	14,15 \pm 0,02
№ 72	14,43 \pm 0,13	14,15 \pm 0,05	14,43 \pm 0,08
Смесь	14,43 \pm 0,03	13,95 \pm 0,00	14,27 \pm 0,05
Через 10 дней деструкции			
№ 69	13,27 \pm 0,09	13,95 \pm 0,04	13,27 \pm 0,01
№ 70	12,67 \pm 0,05	13,05 \pm 0,21	12,98 \pm 0,06
№ 72	13,23 \pm 0,05	13,27 \pm 0,01	13,88 \pm 0,02
Смесь	13,59 \pm 0,01	13,03 \pm 0,00	13,25 \pm 0,13

лишь в пуховых волокнах неоднородной шерсти. Таким образом, приведенные данные дают нам право высказать следующее предположение: микробы-деструкторы способны использовать цистин шерсти в процессе своей жизнедеятельности.

Из других показателей, исследуемых нами в настоящих опытах, следует назвать азот шерсти. Установлено, что категории шерстных волокон не всегда различаются по содержанию этого элемента, а если же и имеются некоторые различия, то они скорее всего являются результатом действия на шерсть внешних факторов. Определение общего азота в образцах разрушенной деструкторами шерсти показало / Табл. 6 /, что наиболее заметные изменения этого показателя произошли в остевых волокнах и пухе неоднородной шерсти. Причем, изменения эти были уже зафиксированы на пятый день деструкции. По ходу развития процесса распада обоих типов волокон количество азота продолжало уменьшаться. Особенно заметное влияние на этот показатель оказывала культура № 70. В результате разрушительного ее воздействия содержание азота в остевых волокнах уменьшилось с 15,24 % до 12,98 %; в пухе неоднородной шерсти - с 15,44 % до 13,03 %, а в пухе однородной шерсти с 14,92 % до 12,67 %. Почти такое же влияние на этот показатель оказывала и смесь микроорганизмов.

Уменьшение содержания общего азота шерстного волокна подтверждает мысль об утилизации его бактериями-деструкторами.

Важная роль в формировании структурной организации шерстного волокна, особенно его кутикулярного слоя, принадлежит мукополисахаридам. Как известно, составным компонентом этих биополимеров являются гексозамины. Анализируя данные таблицы 7, не трудно заметить, что в первый период деструкции шерсти, то есть первые пять дней инкубации, этот показатель почти не подвергался количественным изменениям. С течением времени, а точнее уже через десять дней культивирования бактерий-деструкторов на шерсти, наблюдалось значительное уменьшение гексозаминов, причем во всех типах волокон. Однако, следует отметить, что наиболее заметное влияние на гексозамины пуха однородной шерсти оказывали культуры № 70 и № 72, в то время, как гексозамины пуха и ости неоднородной шерсти использовали почти одинаково все три культуры.

Для выяснения вопроса о том, какие из структурных компонентов шерсти и в какой мере подвергаются воздействию микробов-деструкторов, были использованы чистые препараты кератоз / альфа-

Таблица 7

Содержание гексозаминов в неповрежденной /контроль/ и поврежденной /опыт/ различными мик. организмами шерсти / мг% на сухое вещество /

$$M \pm m, n = 3$$

№ Бактерии- деструк- торы	Морфологические типы волокон		
	Пух однородной шерсти	Пух неоднородной шерсти	Ость неоднородной шерсти
Контроль	129,57±0,04	143,21±0,00	153,44±0,00
Через 5 дней деструкции			
№ 69	122,98±5,91	133,44±0,00	143,89±0,00
№ 70	110,21±0,00	139,89±5,90	147,08±0,74
№ 72	115,44±5,91	132,98±0,00	122,75±0,00
Смесь	119,88±5,90	143,24±5,91	150,44±5,91
Через 10 дней деструкции			
№ 69	103,99±0,49	93,76±15,16	81,83±5,91
№ 70	56,25±2,95	115,93±14,86	81,83±5,91
№ 72	61,37±0,00	102,29±5,91	92,06±5,91
Смесь	97,18±8,86	92,06±11,81	102,29±11,81

бета-, гамма-, пол. ленные в процессе фракционирования шерстного волокна. Как известно, кератозы существенно различаются по химическому составу, особенно количественному соотношению аминокислот, содержанию общей серы, мукополисахаридов и др. Так, содержание пистина, а значит и общей серы, наибольшее в гамма-кератозе, или же в цементирующем веществе - матриксе /Макар И.А., 1977/.

Степень использования кератоз оценивали по нарастанию биомассы бактерий-деструкторов. Из результатов, представленных на Рис. 1 видно, что биомасса бактерии-деструктора № 72 наиболее интенсивно нарастала тогда, когда в качестве субстрата служили бета- и гамма-кератозы. Более скромный рост этих бактерий обеспечивала альфа-кератоза /белок макро- и микрофибрилл/. Результаты, аналогичные таковым, представленным на Рис. 1, выявлены и в отношении других бактерий-деструкторов.

Как показали наши предыдущие исследования, микробиологическая деструкция шерстного волокна поначалу сопровождается отслоением чешуек кутикулярного слоя. Настоящие исследования в принципе подтвердили эти результаты, показав при этом довольно интенсивное нарастание биомассы деструктора на бета-кератозе,

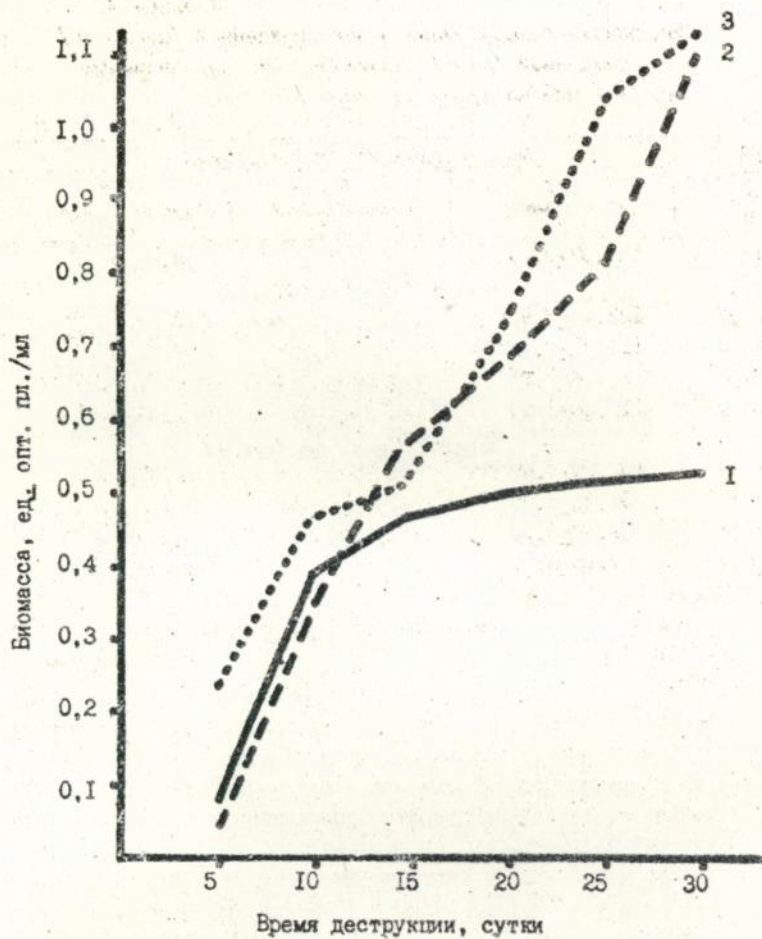


Рис. 1. Рост штамма № 72 на кератозах шерсти

- I — — — — — альфа-кератоза
- 2 - - - - - бета-кератоза
- 3 - ······ - гамма-кератоза

которая, как известно, представляет нерастворимую часть волокна - ее кутикулу и клеточные мембраны. В дальнейшем разрушительный процесс заметно углубляется, охватывая белок акро- и микрофибрилл клеток коркового слоя, то есть альфа-кератозу.

Из всего вышеизложенного следует, что выделенные нами микроорганизмы-деструкторы используют кератин шерсти как питательный субстрат, извлекая из него азот, серу и, по-видимому, другие химические элементы. Можно также предположить, что микроорганизмы вызывают протеолиз кератина шерсти до аминокислот, используя их для синтеза собственных белков клетки. Не исключено, что в этом процессе имеет место еще более глубокая деструкция с образованием, например, сероводорода, который также может быть использован в анаболических целях клетки, в частности для образования различных серусодержащих компонентов /цистеина, метионина, тиамина, кофермента А, биотина, липоевой кислоты/.

Исследование влияния антимикробного препарата
на рост микробов-деструкторов

Для предотвращения микробиологической деструкции шерсти предложен целый ряд препаратов. В своих исследованиях в качестве антимикробного препарата мы использовали полиароматическое соединение, выделенное из растительного сырья.

Результаты, представленные в таблице 8, свидетельствуют о том, что испытуемый препарат угнетает рост всех трех изучаемых культур бактерий-деструкторов, причем отмечена прямая зависимость ингибирования роста от концентрации самого агента. Наиболее чувствительной к нему оказалась культура № 72: при концентрации 0,1 % ее рост угнетался по сравнению с контролем на 92,7 %.

Токсичность антимикробного препарата исследована ранее на белых мышах /Струбицкий И.В., 1986/. Оказалось, что LD_{50} препарата больше 5 г/кг массы животных, то есть фактически нетоксичен.

Таким образом, впервые показано, что исследуемое полиароматическое соединение естественного происхождения угнетает рост активных микробов-разрушителей шерстного волокна. Это вещество может найти широкое применение в качестве антимикробного агента против микробов-деструкторов шерсти, благодаря его высокому антибактериальному эффекту и абсолютной нетоксичности.



Таблица 8

Влияние антибактериального агента на рост бактерий-деструкторов

№ Бактерии- деструк- торы	Вариант	Биомасса, ед.опт.пл./ мл				
		Концентрация антибактериального агента, %				
		0,005	0,01	0,05	0,075	0,1
№ 69	Контроль	0,370±0,010	0,370±0,010	0,370±0,010	0,370±0,010	0,370±0,010
	Опыт	0,327±0,014	0,270±0,008	0,083±0,005	0,073±0,004	0,055±0,002
	% ингибирования	11,60	27,00	76,20	80,50	85,10
№ 70	Контроль	0,455±0,004	0,455±0,004	0,455±0,004	0,455±0,004	0,455±0,004
	Опыт	0,383±0,034	0,315±0,003	0,248±0,002	0,146±0,003	0,045±0,003
	% ингибирования	15,80	37,80	45,50	67,80	90,10
№ 72	Контроль	0,315±0,003	0,315±0,003	0,315±0,003	0,315±0,003	0,315±0,003
	Опыт	0,235±0,003	0,183±0,009	0,180±0,014	0,101±0,009	0,023±0,003
	% ингибирования	25,40	41,90	42,90	67,80	92,70

ВЫВОДЫ

1. Исследована микрофлора руна различных пород овец. Установлено, что обсемененность шерстного волокна микроорганизмами колеблется в широких пределах и различна у овец разных пород. Микрофлора руна четко распределена по зонам штапеля: верхняя зона всегда содержит большее количество микроорганизмов.

2. В условиях наших опытов не выявлена корреляция между количественным содержанием жиропота и бактериальной обсемененностью шерсти.

3. Из поврежденной микроорганизмами шерсти выделено 22 чистые культуры бактерий и на основании учета их биологических признаков проведена идентификация до рода. По характеру протеолитической активности отобраны культуры для моделирования процесса деструкции шерсти.

4. В модельных опытах разрушение структуры шерстного волокна под воздействием бактерий начинается с отслоения чешуек кутикулярного слоя и, по мере "захватывания" кортекса, часто завершается полным его расщеплением до веретенообразных клеток.

5. Скорость деструкции шерсти различна у разных культур. При этом бактерии интенсивно утилизируют альфа-, бета- и гамма-кератозы всех морфологических типов шерстных волокон.

6. В процессе деструкции бактерии для своей жизнедеятельности используют азот и серу шерстного волокна. Нарастание биомассы на различных типах шерстинок сопровождается уменьшением содержания этих и других элементов шерсти.

7. Испытанное нами полиароматическое соединение естественного происхождения в значительной степени ингибирует рост деструкторов шерсти и может быть рекомендовано в качестве эффективного препарата для защиты шерсти от биоповреждений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Результаты диссертации можно использовать как справочный материал в научной и учебной работе, особенно по разделу шерстведения курса "Овцеводство", химизме и микробиологии текстиля.

2. Полученные данные после широкой апробации могут стать основанием для рекомендации полиароматического соединения естественного происхождения в качестве антибактериального агента против бактерий-деструкторов шерсти.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ ИЗЛОЖЕНЫ В СЛЕДУЮЩИХ
ПУБЛИКАЦИЯХ:

1. КОВАЛЬ Л.В., МАКАР И.А., КУЗНЕЦОВА Р.А. Изучение биохимических аспектов микробиологического повреждения шерстяного волокна // Научно-технический бюллетень Украинской физиологии и биохимии с/х животных. - 1986. - Вып. 8/1/. - С. 41-43.

2. КОВАЛЬ Л.В., МАКАР И.А., КУЗНЕЦОВА Р.А., СУЛЫМА Я.Ф. Изучение микрофлоры шерсти овец разных пород // Научно-технический бюллетень Украинской физиологии и биохимии с/х животных. - 1987. - Вып. 9/2/. - С. 49-51.

3. КОВАЛЬ Л.В. Роль мікроорганізмів в біологічній деградації вовняного волокна // Укр. біохім. з'їзд. Тези доповідей. Івано-Франківськ, вересень, 1987. - Київ, 1987. - С. 352.

4. КОВАЛЬ Л.В., КУЗНЕЦОВА Р.А. Микроби-деструкторы шерстного волокна // VII съезд Укр. микробиол. общества. Тезисы докладов. Черновцы, сентябрь, 1989. - Ч. I. - С. 113.

5. КОВАЛЬ Л.В. Біодеградація вовняного волокна - II причини і наслідки // Тези доповідей науково-теоретичної конференції молодих вчених і аспірантів. - Кам'янець-Подільський, 16-18 травня 1989. - С. 88.

6. КОВАЛЬ Л.В. Вопросы биодеградации и проблема качества шерсти // Тезисы докладов XVIII зональной конференции молодых ученых "Выход молодых ученых в развитие агропромышленного комплекса УССР" - Аскания-Нова, 12-13 сентября 1988 г. - Херсон, 1989. - С. 69.

7. Изучение взаимосвязи микрофлоры и жиропота рума овец разных пород / Стапай П.В., Коваль Л.В., Кузнецова Р.А., Сулыма Я.Ф. // Овцеводство. Республиканский сборник. - 1989. - Вып. 25. - С. 33-35.

8. Становление метаболизма в коже овец в связи с морфогенезом шерсти / Макарь И.А., Гуменюк В.В., Гуменюк А.Д., Коваль Л.В. и др. // У Всесоюз. биохимич. съезд. Тезисы докладов. М.: Наука, 1986. - С. 267-268.

9. КОВАЛЬ Л.В. Методический прием обнаружения и количественного учета бактерий шерсти // Удостоверение на рационализаторское предложение Украинской физиологии и биохимии с/х животных. - 1988. - № 44.

Подписано к печ. 9.07.92. Формат 60×84/16. Печать офсет. Бумага офс.
Усл. печ. л. 1,16. Усл. кр.-отт. 1,38. Уч.-изд. л. 1,08. Тираж 100 экз. Зак. 2901.

Областная книжная типография, 290000, Львов, ул. Стефаника, 11.

46.9406

Ав 26.436

Ав 26.436

Бесплатно.

1. [Faint text]

2. [Faint text]

3. [Faint text]

4. [Faint text]

5. [Faint text]

6. [Faint text]

7. [Faint text]

8. [Faint text]

9. [Faint text]

10. [Faint text]

11. [Faint text]

12. [Faint text]

13. [Faint text]

14. [Faint text]

15. [Faint text]

16. [Faint text]

17. [Faint text]

18. [Faint text]

19. [Faint text]

20. [Faint text]

21. [Faint text]

22. [Faint text]

23. [Faint text]

24. [Faint text]

25. [Faint text]

26. [Faint text]

27. [Faint text]

28. [Faint text]

29. [Faint text]

30. [Faint text]

31. [Faint text]

32. [Faint text]

33. [Faint text]

34. [Faint text]

35. [Faint text]

36. [Faint text]

37. [Faint text]

38. [Faint text]

39. [Faint text]

40. [Faint text]

41. [Faint text]

42. [Faint text]

43. [Faint text]

44. [Faint text]

45. [Faint text]

46. [Faint text]

47. [Faint text]

48. [Faint text]

49. [Faint text]

50. [Faint text]

1

Одобрено и выдано [Faint text]

1900 г. [Faint text]