

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**  
(НИУ «БелГУ»)

**ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК**  
**Кафедра экологии, физиологии и биологической эволюции**

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ  
ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ  
ДРОЗОФИЛЫ (*DROSOPHILA MELANOGASTER*)**

**Выпускная квалификационная работа бакалавра**  
очной формы обучения 4курса группы 07001214  
направление подготовки 06.03.01 Биология  
Байбиковой Анны Романовны

Научный руководитель  
д.б.н, профессор  
Батлуцкая Ирина Витальевна

БЕЛГОРОД 2016

## Содержание

Введение.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	6
1.1. Применение <i>Dr. melanogaster</i> в биологическом контроле воздействия микроорганизмов на эукариотические системы.....	6
1.2. Продолжительность жизни на примере <i>Dr.</i> <i>melanogaster</i> .....	7
1.2.1. Половая активность и плодовитость <i>Dr.</i> <i>meanogaster</i> .....	7
1.2.2. Жизнеспособность <i>Dr. melanogaster</i> .....	11
1.3. Мутагенез. Классификация мутаций.....	12
1.4. Пробиотики. Современные проблемы пробиотических препаратов. Классификация пробиотиков.....	19
Глава 2. Материалы и методы.....	27
2.1. Материалы.....	27
2.1.2. Общая характеристика <i>Dr. melanogaster</i> . Характеристика линии D-32.....	27
2.1.3. Описание пробиотика Betom 1.1.....	32
2. 2. Методы.....	34
2.2.1. Проверка микробиологического состава пробиотика Biotom 1.1... 34	34
2.2.2 Приготовление питательной среды для разведения и культивирования <i>Dr. melanogaster</i> .....	34
2.2.3 Метод оценки влияния пробиотика Betom 1.1 на жизнеспособность <i>Dr. melanogaster</i> линии D-32.....	36
2.2.4. Метод учета доминантных летальных мутаций у <i>Dr.</i> <i>melanogaster</i> линии D-32.....	38
2.2.5. Статистическая обработка данных.....	40
2.2.5.1 Оценка влияния пробиотика Betom 1.1 на жизнеспособность дрозофилы ( <i>Dr. melanogaster</i> ) линии D-32.....	40

2.2.5.2 Учет ДЛМ у <i>Dr. melanogaster</i> .....	43
Глава 3. Результаты и их обсуждения.....	45
Заключение.....	65
Выводы.....	67
Список литературы.....	68
Приложение.....	72

## ВВЕДЕНИЕ

В последнее время активно используется биологический контроль с участием тест-организмов для оценки воздействия на эукариотические организмы того или иного фактора среды.

Этот контроль используется как для оценки степени загрязнения различных природных объектов химическими и другими веществами, так и для оценки влияния различных химических и биологических веществ на жизнедеятельность тест-объекта.

На сегодняшний день эти методы оценки влияния того или иного фактора на жизнедеятельность тест-объекта совершенствуются. Продолжается активный поиск и внедрение в практику методов генетического анализа с использованием *Dr. melanogaster* различных линий на мутагенность с дальнейшим использованием их в доклинических испытаниях различных лекарственных и пробиотических препаратов.

Для учета влияния различных химических и природных веществ и микроорганизмов, содержащихся в препаратах используется метод доминантных летальных мутаций. Также с этой целью активно используется метод оценки влияния различных веществ, содержащихся в препаратах, на жизнеспособность *Dr. melanogaster*. Данные методы не были использованы в научных исследованиях с применением пробиотика Vetom 1.1. и лекарственного средства кофеин-бензоат натрия, используемых в нашем исследовании.. Это свидетельствует о том, что наше исследование имеет новизну.

Цель – изучить влияние пробиотического препарата Vetom 1.1. на жизнеспособность *Dr. melanogaster*.

Задачи:

1. Освоить методы мониторинга на эукариотических организмах с *Dr. melanogaster*.

2. Оценить влияние пробиотика на продолжительность жизни *Dr. melanogaster*.
3. Оценить влияние пробиотика на генетический аппарат *Dr. melanogaster*, методом учета ДЛМ. Произвести учет доминантных летальных мутаций.

Объект – *Dr. melanogaster* линии D-32

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Применение *Dr. melanogaster* в биологическом контроле воздействия микроорганизмов на эукариотические системы

Микроорганизмы находятся в непрерывном взаимодействии с окружающей средой, подвергаются воздействию разнообразных экологических факторов. В то же время, сами микроорганизмы, обладая узким, зачастую специфическим метаболизмом, последствиями которого является продуцирование химических, органических веществ с характерным воздействием на среду, возможно рассматривать как самостоятельный средовой фактор. Данные обстоятельства определили необходимость мониторинга воздействия микроорганизмов, в частности, входящих в состав биопрепаратов на эукариотические организмы. *Dr. melanogaster* представляет собой удобный тест-объект в изучении таких влияний, поскольку сопоставление результатов расшифрованных геномов человека и дрозофилы показало, что более 78% генов, ответственных за возникновение патологических состояний у человека, обнаруживают гомологию в геноме дрозофилы.

Для того чтобы учесть все возможные эффекты физического или химического агента, при его проверке используют батареи (набор) тестов, которые должны удовлетворять определенным требованиям. Включаемые в одну батарею тесты должны быть:

- Взаимодополняющими;
- верифицированными на соединениях с известной мутагенной активностью;
- высокочувствительными, специфичными;
- Обладать высокой пропускной способностью.

Батареи тестов не являются жестко фиксированными, и для выявления одних и тех же эффектов существует ряд равноценных взаимозаменяемых тестов.

Дрозофила как модельный объект генетической токсикологии широко используется при тестировании различных по механизмам действия агентов по следующим причинам:

- простота разведения в лабораторных условиях и относительно недорогая стоимость компонентов питательных сред;
- короткий жизненный цикл, позволяющий оценивать последствия воздействий в ряду поколений;
- наличие разработанных тест-систем для учета различных типов генетических повреждений;
- возможность тестировать агенты, находящиеся в твердом, жидком и газообразном состоянии;
- наличие линий, различающихся по чувствительности к мутагенам, что позволяет оценивать роль генотипа в мутационном процессе (Бондаренко и др., 2007; Шварцман, 1975).

Тесты на основе дрозофилы являются более экономичными, а по информативной ценности не уступают результатам на млекопитающих. В современной литературе недостаточно освещен вопрос об изучении влияния микроорганизмов на эукариотические организмы с использованием тест-батарей *Dr. melanogaster* (Vogel, 1987).

## **1.2. Продолжительность жизни на примере *Dr. melanogaster***

### **1.2.1. Половая активность и плодовитость**

Плодовитость – число потомков насекомого, полученное за некоторый промежуток времени. Самки и самцы *Dr. melanogaster* становятся половозрелыми на 2-е сутки после вылупления, а максимальная половая активность и плодовитость характерна для 4-6-дневных мух. Самцы могут

спариваться и менее чем через 6 часов после вылупления. Но по данным Стромнес и Квилланд, в первые сутки спаривания 67,2 % самцов бывают стерильными, в то время как у трехсуточных самцов частота стерильных спариваний 33 %. Причина этого явления заключается в том, что и у самцов и у самок в этом возрасте часто еще нет зрелых половых клеток.

У *Dr. melanogaster* нормальную половую активность имеют самцы, совсем не образующие спермы. Это самцы с нарушениями в Y-хромосоме, межвидовые гибриды, облученные ультрафиолетовыми лучами на стадии яйца. Самки с неразвитыми яичниками и с различными нарушениями половой системы также могут спариваться. С возрастом половая активность быстро меняется: 1-2-дневные самцы спариваются не более двух раз в сутки, 3-5-дневные – 5-6 раз в сутки, 9-10-дневные – два – три раза. Более активны «виргинные» самцы не моложе трех дней, чем самцы, спаривающиеся беспрепятственно. «Виргинные» самцы в первый день осеменяют 7-10 самок. Самцы, которым предоставляли по пять самок ежедневно на четвертый день осеменяли не больше четырех самок, в то время как самцы, которым предоставляли по одной самке ежедневно, на четвертый день осеменяли семь самок. Нельзя не отметить, что число спариваний самца увеличивается, достигая максимума на 8-9 день и составляя 12 спариваний за 24 часа, а число фертильных спариваний не превышает шести и начинает заметно уменьшаться с 6-7 дня.

Самец способен совершать 4-5 фертильных спариваний за 3 часа. Если он спаривается еще, то спаривания эти обычно стерильны, так как половая активность самца снижается. Установлено, что фактором ограничивающим число фертильных спариваний является количество секрета этих желез. Восстановление спаривания наблюдается через 12 часов.

С увеличением числа спариваний самца, увеличивается число потомков. Но, спариваясь с активным самцом, самки оставляют меньше потомков, чем спариваясь с менее активными самцами.



Половая активность тесно связана с репродуктивным статусом самки, зависит от состояния всего нейро-эндокринного комплекса и гонад. Экспериментально показано, что 15 % самок спаривается через 1-2 дня после первого спаривания, 37 % через 3-4 дня, 50 % 5-6 дней.

Репродуктивный период *Dr. melanogaster* длится 20-50 дней у самцов, 30-80 дней у самок. За это время самец способен спариться до 120 раз и оставить 7-14 тысяч потомков. Самки же за репродуктивный период спариваются до 10 раз, а количество потомков от одной самки может достигать 1-3 тысяч.

Самки начинают откладывать яйца на 2-3 день после вылупления. Интенсивность откладки, быстро увеличиваясь, достигает максимума на 5-6 день и около недели остается на этом же уровне. В это время самки откладывают 50-70 яиц в сутки. Затем интенсивность откладки медленно и неуклонно уменьшается в течение двух – трех недель.

Виргинные самки начинают откладывать яйца в 5-6-дневном возрасте. Интенсивность откладки у них значительно ниже, чем у осемененных самок. Она достигает максимума на 10-15 день и сохраняется такой около двух недель. Одна самка может отложить до 200 яиц.

Предполагают, что плодовитость должна зависеть от скорости овогенеза. Для подтверждения этого были проведены исследования репродуктивных особенностей самок ряда линий из коллекции ЛГУ. Исследовали одновременно по 20 осемененных и виргинных самок разных линий, содержащихся индивидуально. Было предположено, что отношение плодовитости (число яиц на одну самку за 10 дней) осемененных самок к плодовитости виргинных самок характеризует некоторые особенности регуляции (способность к задержке овуляции). Линии распались на три группы, в которых это отношение было близко к одному, двум или трем. Показано, что число овариол, скорость овуляции и откладки яиц генетически детерминированы и существуют различные комбинации наследственных особенностей.

Но сравнение плодовитости, определенной за некоторый ограниченный промежуток времени, может привести к ошибке, а полное изучение кладки трудоемко. Выход из этого положения возможен при использовании математической модели откладки яиц *Dr. melanogaster*, предложенной Миланом и Фитц-Ирли. Они исходили из предположения, что динамика откладки определяется двумя противоположными и независимо действующими факторами: один обуславливает асимптотический рост интенсивности откладки и является гормональным фактором, регулирующим скорость овогенеза и овуляции; другой ведет к экспоненциальному падению ее и отражает возрастные изменения функционирования половой системы. Интенсивность откладки описывается уравнением:

$$N(t) = (1 - e^{-s \times (t-t_0)}) \times e^{-a \times (t-t_q)}$$

где  $t_0$  и  $t_q$  – возраст самок в моменты начала и прекращения откладки яиц;  $s$  и  $a$  – скорость возрастания и уменьшения интенсивности ее.

Максимальная частота развивающихся яиц характерна на 4-9 день, время наиболее интенсивной откладки. Затем она уменьшается, и в конце жизни самки откладывают только не развивающиеся яйца.

Для полной активации откладки *Dr. melanogaster* кроме комплекса стимулов спаривания требуется соответствующая пища и некоторые химические стимулы от источников питания, определенные физические условия и др. Хорошо выражен циркадный ритм откладки: больше всего яиц самки откладывают в первые часы темноты.

Плодовитость мух зависит от температуры в личиночный период развития. Плодовитость меньше, чем ниже температура. Давид и Клавель наблюдали максимальную интенсивность откладки при 28°C, но максимальную плодовитость при 24°C, наибольшую длительность

репродуктивного периода при 21°C, наименьшую частоту неразвившихся яиц при 17°C. При этом мухам комфортна температура 24°C. Как они утверждают, ни одно яйцо не будет отложено при температуре ниже 11°C и выше 32,5°C . (Литвинова, 1977).

### 1.2.2. Жизнеспособность *Dr. melanogaster*

В лабораторных условиях нормальной температурой для развития *Dr. melanogaster* надо считать 24-25 °C. При этой температуре цикл развития ее от яйца до взрослой мухи длится приблизительно 10 суткам. Развитие яйца длится 20 часов, а развитие личинки и куколки - 8 суток. (Медведев, 1968).

При температуре ниже 20°C жизнеспособность мух понижается, а при температуре выше 25°C ведёт к уменьшению плодовитости (Козак, 2007). В лабораторных условиях при температуре, несколько превышающей 31°C она становится бесплодной полностью или частично. Однако будучи обитателем тропического климата, она в природных условиях переносит более высокую температуру, что связано с усиленным испарением влаги с поверхности земли и понижением температуры нижних слоев воздуха, в которых обитает дрозофила (Медведев, 1968).

С понижением температуры развитие сильно замедляется. Так, при 10 °C личиночный период растягивается до 57 дней, а куколочный - до 13-14 дней, а при 20°C сроки соответственно равны 8 и 6,3 дня. Продолжительность жизни взрослой мухи, то есть с момента вылупления её из куколки, в лабораторных условиях равна 3 - 4 неделям и в значительной мере зависит от условий содержания (температуры, влажности, пищи, плотности населения, наличия в питательной среде бактерий). В специальных опытах дрозофилы жили до 152 дней (Боготова и др., 2009).

На жизнеспособность *Dr. melanogaster* влияют мутации. Они снижают жизнеспособность в природных условиях существования. Опыты с выпуском мутантных мух-дрозофил на волю показали их быстрое исчезновение. Кроме

того, мутации значительно снижают плодовитость мутантных мух. Но даже в оптимальных условиях лабораторных культур плодовитость и «жизнеспособность» большинства мутаций оказывается более или менее значительно пониженной (Шмальгаузен, 1968).

### 1. 3. Мутагенез. Классификация мутаций

Мутагенез — внесение изменений в нуклеотидную последовательность ДНК (мутаций).

Мутационная теория зародилась в начале 20-го века в работах Г. Де Фриза, после переоткрытия законов Менделя. К представлениям о скачкообразном изменении наследственных свойств пришел русский ботаник С.И. Коржинский. По Де Фризу мутация – это скачкообразное, прерывистое изменение наследственного признака. Многочисленные примеры скачкообразных изменений различных признаков наследующихся в ряду последовательных поколений были известны еще и Ч. Дарвину, который называл их неопределенными изменениями и придавал им большое значение в эволюции. Однако, теория мутации была сформулирована позже Г. Де Фризом. Положения мутационной теории Де Фриза:

1. Мутации возникают внезапно как дискретные изменения признаков.
2. Новые формы устойчивы.
3. В отличие от наследственных изменений мутации не образуют непрерывных рядов, не группируются вокруг какого либо среднего типа. Они представляют собой качественные изменения.
4. Мутации проявляются по-разному и могут быть как полезными, так и вредными.
5. Вероятность обнаружения мутаций зависит от числа исследованных особей.
6. Сходные мутации могут возникать неоднократно.

Наиболее подробно изучены мутации у плодовой мушки дрозофилы. Они касаются наследственной изменчивости различных признаков окраски и формы тела, крыльев, глаз, ног, щетинок, размера тела и его частей, половых признаков плодовитости и т.д. Первым спонтанным мутантом, обнаруженным Морганом при разведении этой мушки, был белоглазый самец (мутация white). Так как все мухи в природных условиях имели красные глаза, ген, определяющий красный цвет глаз, был назван геном дикого типа, а ген, определяющий белый цвет – мутантным геном (Гуляев, 1984).

Классификация мутаций.

- 1.1. Генные мутации или точечные
- 1.2. Изменения хромосом или хромосомные перестройки
- 1.3. Изменения числа наборов хромосом.
2. По характеру изменения фенотипа:
  - 2.1. Морфологические
  - 2.2. Физиологические
  - 2.3. Биохимические
3. По проявлению в гетерозиготе:
  - 3.1. Рецессивные
  - 3.2. Доминантные
4. В зависимости от причин, вызывающих мутации:
  - 4.1. Спонтанные
  - 4.2. Индуцированные
5. По степени отклонения от нормального фенотипа (Г. Меллер):
  - 5.1. Гипоморфные
  - 5.2. Аморфные
  - 5.3. Антиморфные
  - 5.4. Неоморфные
  - 5.5. Гиперморфные
6. По локализации в клетке:

6.1. Ядерные

6.2. Цитоплазматические (мутации внеядерных генов)

7. По возможности наследования:

7.1. Генеративные

7.2. Соматические

По адаптивному значению:

8.1. Полезные

8.2. Нейтральные

8.3. Вредные (летальные и полуметальные)

9. По отклонению от нормы или дикого типа:

9.1. Прямые

9.2. Обратные (Инге-Вечтомов, 1989; Гершензон, 1991)

Мутации по генотипу.

Генные (точковые) мутации – изменения структуры молекулы ДНК на участке определенного гена, кодирующего синтез соответствующей белковой молекулы. Генные мутации по характеру действия могут быть доминантными или рецессивными. Чаще мутантный ген обладает рецессивным эффектом. Нормальный аллель подавляет при этом действие измененного гена. Подразделяются на 3 группы:

1. Транзиции такие замены нуклеотидов АТ ↔ СГ, которые не изменяют ориентации: пурин – пиримидин в пределах пары.

2. Трансверсии – замены пар нуклеотидов (АТ ↔ ГС, АТ ↔ ТА, ГС ↔ СГ) изменяющие ориентацию.

3. Вставка лишней пары нуклетидов.

4. Выпадение пары нуклеотидов (Инге-Вечтомов, 1987; Бакай и др., 2010; Сингер и др., 1998).

Геномные мутации

К этому классу мутаций относятся изменения кариотипа, выражающиеся в уменьшении или увеличении числа хромосомных наборов либо числа отдельных хромосом. Типы геномных мутаций:

1. Гаплоидия – уменьшение числа хромосом в кариотипе вдвое. Соматические клетки гаплоидного организма содержат одинарный гаплоидный набор хромосом ( $n$ ). В жизненном цикле спорообразующих грибов, бактерий и одноклеточных водорослей встречается естественная гаплоидия. Впервые гаплоид у высших растений был обнаружен у дурмана, затем гаплоиды были обнаружены у пшеницы, кукурузы и некоторых других растений. У некоторых видов членистоногих и насекомых гаплоидными являются самцы, развивающиеся из неоплодотворенных клеток. Фенотип гаплоидов имеет следующие особенности: 1. у них проявляются рецессивные гены; 2. Гаплоидные организмы меньше диплоидных поскольку их клетки вследствие уменьшения дозы генов имеют меньший размер; 3. Гаплоиды по внешнему виду сходны с соответствующими диплоидными организмами. 4. Гаплоиды перекрестноопылителей маложизнеспособны в отличие от гаплоидов самоопылителей. 5. Гаплоиды бесплодны, т.к. у них в мейозе не образуются полноценных гамет. Растения, полученные от гаплоида путем вегетативного размножения, имеют фенотип, полностью соответствующий генотипу (И.Ф. Жимулев, 1998), (Иванов, 2006; Мюнтцинг, 1967).

2. Полиплоидия - мутация состоящая в увеличении числа хромосом, кратном гаплоидному. Клетки с разным числом гаплоидных наборов хромосом называются  $3n$  – триплоидные,  $4n$  – тетраплоидные и т.д. Организмы развивающиеся из полиплоидных клеток будут называться соответственно триплоидами, тетраплоидами и т.д. Полиплоидными являются все или большинство культивируемых сортов пшеницы, овса, риса, сахарного тростника, и др. Полиплоидия возникает в следующих случаях: 1. Неравное расхождение хромосом к полюсам в анафазе. 2. Деление ядра без деления клетки. 3. Удвоение хромосом без их деления (Жимулев, 1998), (Лобашев и др., 1970; Иванов, 2006).

3. Автополиплоидия. Автополиплоиды - полиплоиды, возникающие на основе умножения геномов одного вида. В естественных условиях автополиплоиды возникают у организмов с любым способом размножения.

Если исходная форма была гетерозиготной, при половом размножении автополиплоиды дают наследственно разнообразные формы,

4. Аллополиплоидия. Аллополиплоиды - полиплоиды, возникающие на основе умножения геномов разных видов называют. Образуются на основе скрещивания различных видов (Гуттман, 2004).

5. Анеуплоидия (анеусомия) – не кратное гаплоидному набору изменение числа хромосом в клетках организма за счет потери или добавления отдельных хромосом. К. Бриджесом впервые обнаружил это явление генетическими методами при изучении у дрозофилы наследования признаков, сцепленных с полом. В соматических клетках самок XXУ была обнаружена лишняя Y-хромосома, а у самцов X0 не доставало Y-хромосомы. Разновидности анеуплоидии:

Трисомия - прибавка четвертой хромосомы. Вызывает изменения ряда признаков. Если потеря одной маленькой четвертой хромосомы не приводит к гибели мухи, то недостача одной из крупных хромосом второй или третьей пары летальна (Иванов, 2006).

Нуллисомия – отсутствие обоих гомологов, какой либо одной (или редко большего числа) пар хромосом. Общее число хромосом в такой клетке равно  $(2n-2)$ . Нуллисомия характерна для некоторых сортов мягкой пшеницы *Triticum aestivum*, полученных в результате скрещивания между собой моносомных растений. Основным механизмом возникновения нуллисомии – потеря в процессе мейоза хромосомы, не имеющей партнера. У других растений нуллисомии считаются нежизнеспособными.

Моносомия – утрата одного из гомологов по одной или большему числу хромосом, число хромосом равно  $(2n-1)$ . Хорошо изучена на растениях табака *Nicotiana tabacum*. На дрозофиле впервые были обнаружены организмы с недостачей одной из аутосом (моносомии  $2n-1$ ), у которых четвертая маленькая хромосома присутствует в единственном числе. Рецессивные гены этой хромосомы в результате отсутствия доминантных аллелей проявились в диплоидном гибридном организме. Отсутствие этой



хромосомы сказались также в уменьшении размеров мухи. Снижению ее плодовитости, изменения ряда морфологических признаков: крыльев, щетинок, глаз и др.

Полисомия – избыточное число гомологичных хромосом на одну, реже – на большее число хромосом в наборе. Наличие одной дополнительной гомологичной хромосомы приводит к трисомии ( $2n+1$ ), двух к тетрасомии ( $2n+2$ ). У дрозофилы хорошо изучены особи с лишней точечной четвертой хромосомой и полисомики по X-хромосоме.

Явление анеуплоидии показывает, что нарушение нормального числа хромосом приводит к изменениям в строении и к снижению жизнеспособности организма. Чем больше нарушение, тем жизнеспособность меньше (Слюсарев, 1970; Лобашев и др., 1970).

#### Хромосомные мутации.

Для данного типа мутаций характерно изменение структуры хромосом: уменьшение или увеличение их размеров или изменения положения их частей. Существует несколько типов хромосомных мутаций (аббераций):

1. Делеции – утрата участка хромосомы с образованием центрального (содержащего центромеру) и ацентрического (бесцентромерного) фрагментов. Организмы гетерозиготные по делеции, гемизиготны по утраченным локусам. Поэтому все рецессивные гены соответствующих локусов в интактном гомологе проявляются фенотипически. Протяженные делеции обычно летальны в гомозиготном состоянии, а также – в гемизиготном, если делеция произошла в X-хромосоме. Делеция получившая название Notch, обнаруженная Бриджесом в 1917 году и фенотипически проявляющаяся в зазубренности крыла у дрозофилы и, является первым описанным примером хромосомной перестройки (Иванов, 2006).

2. Дубликации. Дубликация связана с включением лишнего, дублирующего участка хромосомы. Ведет к появлению новых признаков. У дрозофилы ген узких глаз (вместо круглых) обусловлен удвоением участка в одной из хромосом (Слюсарев, 1970).

Дупликации широко используются для «перекрытия» мутантного действия летелей или делеций. Так, возникновение летали или делеции в X-хромосоме дрозофилы будет приводить к гибели самцов, несущих эту хромосому в гемизиготном состоянии. Однако наличие материала X-хромосомы, содержащего нормальный аллель летали, дублированного и включенного в любую из хромосом (аутосому, X-хромосому или Y-хромосому) делает самца жизнеспособным. Он становится носителем леталем в единственной X-хромосоме и нормального аллеля в дупликации и его можно скрещивать с самками (Жимулев, 1998).

Инверсией называют поворот на  $180^{\circ}$  отдельных участков хромосомы; при этом ни число хромосом, ни число генов в каждой хромосоме не меняются. Если последовательность генов в исходной хромосоме обозначить ABCDEF и инверсии подвергся участок BCD, то в новой хромосоме гены будут расположены в последовательности ADCBEF (Алайла и др., 1987).

Инверсии могут быть: парацентрическими (не включают центромеру в инвертированный участок) и перицентрическими (захватывают центромеру). У гомозигот по инверсиям кроссинговер происходит нормально. У гетерозигот по парацентрической инверсии происходит загибание кроссинговера (Гершензон, 1991).

4. Транслокации возникают, когда участок хромосомы из одной пары прикрепляется к негомологичной хромосоме, т.е. к хромосоме из другой пары. Большинство транслокаций, затрагивающих крупные участки хромосом, делают организм не жизнеспособным. Различают транслокации: симметричные (реципрокные) – соединение центрического фрагмента одной хромосомы с ацентрическим фрагментом другой; ассиметричные – соединение центрических или ацентрических фрагментов; Робертсоновские – слияние негомологичных акроцентрических хромосом в области их центромер с образованием одной метацентрической хромосомы (Иванов, 2006; Слюсарев, 1970).

## **1.4. Пробиотики. Современные проблемы пробиотических препаратов.**

### **Классификация пробиотиков**

Сто лет назад, Илья Мечников выдвинул теорию, что бактерии молочной кислоты (БМК) способствуют улучшению здоровья и долголетию. Он предположил, что «кишечная аутоинтоксикация» и возникающие вследствие ее вещества могут быть подавлены с помощью модификации кишечных бактерий и замены протеолитических микробов, таких как *Clostridium*, производящих токсические вещества (включая фенолы, индолы и аммиак после переваривания белков), на полезные микроорганизмы. Он разработал диету с добавлением молока, ферментированного бактерией, которую он назвал «Болгарской палочкой» (*Lactobacillus bulgaricus*) (ARAYA, Magdalena и др., 2002).

В 1917 году, еще до открытия сэром Александром Флемингом пенициллина, германский профессор Альфред Ниссле изолировал непатогенный штамм кишечной палочки из фекалий солдата Первой мировой войны, который не вызывал развития энтероколита во время тяжелой эпидемии шигеллеза. Штамм кишечной палочки Ниссле 1917 – один из немногих примеров не-БМК пробиотиков.

Термин «пробиотики» впервые был введен в 1965 г. Лилли и Стиллуэллом; в противоположность антибиотикам, пробиотики были описаны как микробные факторы, стимулирующие рост других микроорганизмов. В 1989 г. Рой Фуллер подчеркнул необходимость жизнеспособности пробиотиков и выдвинул идею о их положительных действиях для пациентов (ARAYA, Magdalena и др., 2002).

Основоположником концепции пробиотиков является И. И. Мечников (Урсова, 2013).

В нашей стране пробиотики, содержащие эшерихии, стали выпускать с середины XX в. Затем в 70-х гг. были разработаны и внедрены в практику

отечественные бифидумбактерин и лактобактерин, нашедшие широкое применение в лечении дисбактериоза кишечника. В дальнейшем велась активная работа по расширению ассортимента пробиотических штаммов, входящих в биопрепараты. Новые биотехнологии, позволяющие создать препараты активного действия, были внедрены в конце XX – начале XXI в.

В настоящее время в мире происходит биотехнологическая революция. Считается, что будущее за лекарствами со щадящей терапией. Существует целый спектр таких лекарств. К самым эффективным из них относят пробиотики. Больше всего пробиотиков содержится в живом йогурте, кефире, простокваше и других кисломолочных продуктах (Каширская, 2000).

Эксперты Всемирной организации здравоохранения предложили следующую дефиницию – пробиотики – это живые микроорганизмы, которые при употреблении в необходимом количестве оказывают благоприятное воздействие на здоровье организм хозяина. Всемирная организация здравоохранения, Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных препаратов США (FDA), Организация по продуктам питания и сельскому хозяйству ООН (FAO), другие крупные общества и экспертные группы заключают, что в целом пробиотики могут считаться абсолютно безопасными, иметь статус GRAS (generally recognized as safe) и без ограничений использоваться в пищевой и фармацевтической промышленности ( ARAYA, Magdalena и др, 2002).

Препараты-пробиотики на основе молочнокислых бактерий широко используются в качестве питательных добавок, а также в йогуртах и других молочных продуктах. Входящие в состав пробиотиков микроорганизмы не являются патогенными, не токсичны, содержатся в достаточном количестве, при прохождении через желудочно-кишечный тракт и при хранении сохраняют жизнеспособность. Пробиотики не считаются лекарственными препаратами и рассматриваются как средства, полезно влияющие на состояние здоровья людей (Каширская, 2000).

Пробиотический эффект может оказывать не только жизнеспособная, но и убитая бактериальная клетка (например, при облучении), а также нежизнеспособные структурные компоненты бактерий (короткие ДНК-последовательности и др. (Урсова, 2013).

Основные группы пробиотиков:

- пробиотики на основе генно-инженерных штаммов микроорганизмов, их структурных компонентов и метаболитов с заданными характеристиками;
- пробиотики на основе живых микроорганизмов (монокультуры или их ассоциации);
- пробиотики на основе метаболитов или структурных компонентов микроорганизмов – представителей нормальной микрофлоры;
- пробиотики на основе комплекса живых микроорганизмов, их структурных компонентов, метаболитов в различных сочетаниях и соединений, стимулирующих рост представителей нормальной микрофлоры;
- пробиотики на основе соединений микробного или иного происхождения, стимулирующих рост и активность бифидобактерий и лактобацилл (Чебаева, 2010).

Исследования показали, что пробиотические бактерии могут:

- Улучшить пищеварительную функцию
- Помочь с побочными эффектами антибиотикотерапии
- Помочь снизить риск развития некоторых острых общих инфекционных заболеваний
- Повысить толерантность к лактозе
- Увеличить иммунную функцию (Gonca Pasin, 2011).

Пробиотики могут поддерживать здоровье различными способами

- Помочь иммунной системе функционировать должным образом;
- Помочь пищеварению, расщепляя некоторую пищу, которую мы не можем переварить;

- Иметь вредных микроорганизмов в узде;
- Вырабатывают витамины и оказывают помощь в усвоение питательных веществ (Giralt J, 2011).

Пробиотики оказывают воздействие на желудочно – кишечную экосистему стимулируя иммунные механизмы слизистой оболочки и неиммунные механизмы через антагонизм или соперничество с потенциальными патогенами. Предполагается, что этот феномен вызывает положительные эффекты, включающие уменьшение частоты и тяжести диареи, и является одним из наиболее признанных действий пробиотиков.

Минимальными критериями для пробиотических продуктов является то, что пробиотик должен быть:

- Определен по классу и штамму – исследования специфических пробиотических штаммов не могут применяться к любому продукту, заявленному как пробиотик.
- Живым;
- Получен в адекватной дозе к концу срока реализации;
- Обладать эффективностью, доказанной контролируруемыми исследованиями на пациентах (Francisco, 2008).

Растущий объем научных исследований указывает на то, что пробиотики могут способствовать человеческому здоровью. Пробиотики могут поддерживать здоровье пищеварительной системы и/или иммунную функцию. Это включает в себя сокращение антибиотик-ассоциированной диареи, управление пищеварительными симптомами, улучшение вашей способности бороться с простудными заболеваниями, пропаганду здорового влагалища и мочевыводящих путей, а также улучшение переваривания лактозы. Другие преимущества включают в себя лечение инфекционной диареи, а у детей раннего возраста, снижает риск экземы, симптомов колики и некротического энтероколита. Перспективными объектами в начальной

стадии изучения, включаются и гликемический контроль веса и функций мозга (Giralt J, 2011).

Интерес к проблеме клинического использования пробиотиков постоянно растет. Собранный по этому вопросу информация показывает, что пробиотики, поступающие в кишечник, изменяют не только состав, но и функции микрофлоры.

Антисептические свойства пробиотиков связаны с продукцией антимикробных факторов: органических кислот, бактериоцинов и ингибиторных протеинов. Доказана способность пробиотиков оказывать протективное действие на кишечный барьер, антогонистическое – на условно-патогенные микроорганизмы и стимулирующее – на иммунитет. Перечень основных пробиотиков, рекомендованных к использованию включает в себя препараты, содержащие представителей только одного вида бактерий (моноштаммовые), ассоциацию штаммов одного (мультиштаммовые) или нескольких видов микроорганизмов (мультивидовые), а также комбинированные пробиотики или симбиотики (Урсова, 2013; Чичерин и др., 2012).

В научной литературе последних лет существует сложившееся общее мнение о целесообразности применения пробиотиков в клинической практике, однако, по данным недавних метаанализов, препараты на основе лактобацилл и бифидобактерий не всегда оказывают позитивное действие на бактериальную экологию и метаболизм в толстой кишке (Bezkorovainy, 2001).

Важным этапом изучения позитивного воздействия пробиотиков стали исследования по сравнению функциональных возможностей моноштаммовых, мультиштаммовых и мультивидовых препаратов. Обсуждается вопрос об оптимальной пробиотической культуре, которая по мнению экспертов должна быть смешанной. Смешанные штаммы пробиотиков дополняют действия друг друга на организм человека, то есть проявляют синергические свойства. Основой для такой постановки вопроса

послужили многие исследования, показывающие, что микробиоценоз кишечника – это сложная ассоциация бактерий, поэтому топическая аппликация с адгезией будет более успешной у многоштаммового (мультивидового) пробиотика (Famularo и др., 1999).

Следует иметь в виду известную особенность современных заболеваний, какой является многофакторность их развития. В этой ситуации становится очевидным, что в качестве препаратов для выбора должны предлагаться рационально комбинированные пробиотики, имеющие широкий спектр физиологических эффектов. Именно такие пробиотики обеспечивают принципиально новую возможность предотвращать или снижать риск развития многофакторных заболеваний, поскольку пробиотические свойства являются штаммоспецифическими. Испытания *in vitro* подтверждают, что некоторые штаммы (*S. thermophilus*) пробиотиков создают анаэробные условия, которые позволяют строгим анаэробным бактериям, таким как бифидобактерии, размножаться на поверхности слизистой оболочки и оставаться жизнеспособными при прохождении через желудочно-кишечный тракт (Shankar и др., 1976).

На основании детального обзора клинических и экспериментальных исследований с анализом пробиотических свойств мультиштаммовых (мультивидовых) препаратов удалось установить, что последние будут обладать максимально высокими показателями выживаемости, ибо выживаемость принятых внутрь пробиотиков неодинакова для разных родов, видов и штаммов бактерий (Famularo и др., 1999).

Они могут быть полезны в профилактике и лечении острой диареи у взрослых и детей, профилактика антибиотик-ассоциированной диареи у взрослых и детей. Хотя предварительные результаты показывают, что пробиотики могут также быть полезными лечения лучевой болезни кишечника, вагиноза, неспецифического язвенного колита и синдрома раздраженного кишечника, существующих исследований недостаточно чтобы сказать, что пробиотики, безусловно, полезные. Еще меньше данных



доступно, чтобы рекомендовать пробиотики для терапии болезни Крона и для предупреждения сердечно-сосудистых факторов риска или других дегенеративных заболеваний (Floch и др., 2007).

Пробиотики и пребиотики издавна ценились за их положительное влияние на здоровье кишечника. Исследование механизмов и эффектов этих препаратов показывает, что их влияние выходит за пределы кишечника. Наблюдались воздействия на микробиоценоз и патологию ротовой полости, желудка и вагинального тракта. Скорее всего, опосредованы через иммунное влияние, системные эффекты, такие как снижение выраженности простуды или других респираторных заболеваний, влияние аллергии на заболеваемость и симптомы. Эти наблюдения, в частности, предполагают более широкий спектр влияния, чем это принято считать на эти уникальные вещества. (Lenoir-Wijnkoop и др., 2007).

Стресс играет важную роль в развитии симптомов, способствующих заболеванию. Стресс вызывает различные расстройства ЖКТ, физические и психологические симптомы. Пробиотики могут помочь регулировать или модулировать функции желудочно-кишечного тракта. L. Dior и другие исследователи провели исследование. Целью этого исследования являлось изучение влияния пробиотического препарата (Probio-Stick) на стресс-индуцированные симптомы у добровольцев. Двойное слепое, плацебо-контролируемое, рандомизированное исследование было проведено на добровольцах с симптомами стресса. Пациенты получали пробиотик (Probio-Stick), содержащий *Lactobacillus acidophilus* Rosell-52 and *Bifidobacterium longum* Rosell-175 ( $3 \times 10^9$  колониеобразующих единиц) или чувствительного идентичного плацебо без пробиотиков в течение 3-недельного периода. Потребление пробиотиков значительно уменьшает два стресс-индуцированных желудочно-кишечных симптома (боль в животе и тошнота/рвота) для намерения лечения или для каждого протокола популяций. Напротив, пробиотики не значительно изменили другие физические и психологические симптомы и проблемы со сном, вызванные

стрессовыми жизненными событиями для того чтобы лечить согласно протоколу. Результаты указывают на то, что Probio-Stick может обеспечить благотворное влияние на желудочно-кишечные симптомы, наблюдаемые у людей, пострадавших в результате хронического стресса (Dior и др., 2008).

Состав кишечной микрофлоры может быть различным у лиц с атопической экземой от тех, которые без этого условия, или такие различия могут предшествовать развитию экземы. Пробиотики-это живые бактерии, которые заселяют желудочно-кишечного тракта и способны принести пользу организму хозяина. Пробиотики используемые при кормлении младенца имеют потенциал для предотвращения сенсibilизации младенцев на пищевые аллергены.

Есть недостаточные доказательства, чтобы рекомендовать добавление пробиотиков для кормления младенцев, для профилактики аллергических заболеваний или пищевой гиперчувствительности. Хотя в результате исследования произошло снижение клинической экземы у грудных детей, следует соблюдать осторожность. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить, являются ли результаты воспроизводимыми (Osborn и др., 2007).

Одним из перспективных современных направлений является создание пробиотиков нового поколения – поливалентных или комбинированных с иммобилизованными бактериями различных таксономических групп при обязательном условии, что штаммы пробиотиков должны быть биологически совместимыми и оказывать синергический эффект (Timmerman и др., 2004).

Стоит отметить, что к современным тенденциям пробиотикотерапии должно относиться применение комбинированных препаратов с сочетанными аддитивными или синергическими штаммоспецифическими эффектами. Очевидна необходимость дальнейших исследований, связанных с созданием индивидуальных пробиотиков на основе аутоштаммов и аутоассоциаций симбиотических микроорганизмов (Токарева, 2011).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе научной работы были произведены эксперименты с пробиотиком Betom 1.1 и лекарственным препаратом кофеин-бензоат натрия. При проверке микробиологического состава пробиотика с указанным на упаковке, для дальнейшего использования его в эксперименте, было подтверждено, что в его состав входит *Bacillus subtilis*. Но также мы обнаружили в составе бактерий предположительно рода *Micrococcus*.

При обработке результатов полученных нами в ходе эксперимента по оценке влияния пробиотика Betom 1.1 на жизнеспособность *Dr. melanogaster*, мы установили, что наибольшая продолжительность жизни среди самок характерна для особей, находившихся на среде с добавлением 5% концентрации пробиотика в жидкую среду (56 дней). Наименьшая продолжительность жизни среди самок характерна для особей, находившихся на среде с добавлением 10% концентрации пробиотика в жидкую среду (43дня).

Наибольшая продолжительность жизни среди самцов характерна для особей из группы контроль (55 дней) Наименьшая продолжительность жизни среди самцов характерна для самцов, находившихся на среде с добавлением 5% концентрации пробиотика в жидкую среду (50 дней). Наименьшая средняя продолжительность жизни наблюдается у самок, находившихся на среде с добавлением 10% концентрацией пробиотика в жидкую среду (23.5 дня). Наибольшая продолжительность жизни наблюдается у самцов, находившихся на среде с 10% концентрацией пробиотика, добавленного в среду сверху (29 дней).

При обработке результатов полученных нами в ходе эксперимента по учету ДЛМ у *Dr. melanogaster*, мы обнаружили ПЭЛ, РЭЛ и неоплодотворенные яйца. Нами было установлено, в контрольной группе наблюдается больше всего отложенных яиц – 759 шт, в то время как в 2% концентрации кофеин-бензоат натрия наблюдается самое меньшее

количество отложенных яиц – 397шт. Также с помощью расчетов мы определили, что средний % ДЛМ у *Dr. melanogaster* линии D-32 наибольший в пробе 2% концентрации кофеин-бензоат натрия, а наименьший в 10% концентрации пробиотика. Эти данные после обработки их с помощью критерия Стьюдента, оказались не значимыми.

При получении результатов эксперимента нами на 4 сутки были обнаружены мертвые предкуколки. Можно предположить, что это связано с присутствием в среде инородных химических веществ, которые находятся в составе использованного нами лекарственного вещества.

Обобщая выше сказанное, можно говорить о том, что кофеин-бензоат натрия увеличивает процент ДЛМ, тем самым отрицательно влияя на жизнедеятельность *Dr. melanogaster*.

Пробиотик Vetom 1.1 уменьшает процент ДЛМ с увеличением концентрации, но на продолжительность жизни *Dr. melanogaster* влияет неоднозначно, в одних случаях увеличивает ее продолжительность жизни, в других уменьшает ее продолжительность жизни.

## ВЫВОДЫ

1. Освоены методы мониторинга на эукариотических организмах с *Dr. melanogaster*.
2. Произведена оценка влияние пробиотика на продолжительность жизни *Dr. melanogaster*.
3. Оценено влияние пробиотика на генетический аппарат *Dr. melanogaster*, методом учета ДЛМ.
4. Произведен учет доминантных летальных мутаций.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова З.В., Карлинский О.А. Практикум по генетике , 3-е изд., перераб. и доп. Л.: Колос, 1979. 192 с.
2. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. Т. 2. М: Мир, 1987. 335 с.
3. Бакай А.В., Кочиш И.И., Скрипниченко Г.Г., Бакай Ф.Р. Практикум по генетике. Учебное пособие для вузов. Москва, КолосС, 2010. 301с
4. Батлущая И.В., Хорольская Е.Н., Глотов В.А. Практикум по общей, физиологической и экологической генетике: учеб.- метод. пособие . Белгород: БелГУ, 2009. 144с.
5. Боготова З.И., Биттуева М.М., Керефова М.К. Генетический анализ на *Drosophila melanogaster*: Методические указания к практическим занятиям по большому практикуму. Нальчик: Каб. -Балк. ун-т, 2009. 54 с.
6. Бондаренко Л.В., А. В. Дукельская, Экологическая генетика. Том V №1. Санкт – Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 2007. 448 с.
7. Второва М.А. Насекомые в биологических исследованиях. IV Международная студенческая электронная научная конференция «Студенческий научный форум», Волгоград, Россия, 2012 . 3с.
8. Гершензон С.М. Мутации. Киев, Наукова Думка I-III, 1991. 111 с.
9. Гуляев Г. В. Генетика. Москва. «Колос», 1984. 351с.
10. Гуттман Бартон, Энтони Гриффитс, Дэвид Сузуки, Тара Куллис. Генетика. М.: ФАИР-ПРЕСС, 2004. 448 с.
11. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: Новосибирский государственный университет, 1998. 430с.
12. Иванов В.И. Генетика. Учебник для вузов. М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. 638с.
13. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. Москва: «Высшая школа», 1989. 591 с.

14. Каширская Н.Ю. Значение пробиотиков и пребиотиков в регуляции кишечной микрофлоры // Русский медицинский журнал. Москва. 2000. №13. С. 3-6.
15. Козак М.Ф. Дрозофила – модельный объект генетики. Учебно-методическое пособие. Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2007. 87 с.
16. Корочкин Л.И. Введение в генетику развития. М: «Наука», 1999. 229 с.
17. Литвинова Е.М. Биология размножения дрозофилы // Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. Новосибирск: «Наука», 1977. С. 19-61.
18. Лобашев М. Е. и др. Генетика с основами селекции. Учебник для пединститутов. М., «Просвещение», 1970. 431.
19. Медведев Н. Н. Практическая генетика. Издательство «Наука». Москва 1968. 294с.
20. Мелашенко Е. С. Содержание лабораторных линий *Drosophila Melanogaster*. Журнал «Инновации в науке». Выпуск № 1 (38) . 2015. С. 18-21
21. Мюнтцинг. А. Генетика, общая и прикладная. Москва, Мир, стр. 1- 610, 1967.
22. Нехаева. В.И. Практический курс общей генетики. Учебное пособие для студентов биологических специальностей педагогических высших учебных заведений , 2-е изд., стереотип. М.: ФЛИНТА, 2011. 210с.
23. Серов О.Л. Генетика развития. Курс лекций для студентов 3 курса ФЕН НГУ. Новосибирск: Новосибирский государственный университет, 1998. С. 4-15.
24. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. Т. 2. Москва: Издательство «Мир», 1998. – 391с.
25. Слюсарев. А.А. Биология с общей генетикой. Издательство «Медицина» Москва . 1970, 487с.
26. Токарева Н. Гастроэнтерология. 2011. С. 77-84.

27. Урсова Н.И. Терапевтический потенциал современных пробиотиков. Журнал «Педиатрическая фармакология». №2, том 10, 2013. С 46-56.
28. Чебаева С.О. Пробиотики. Незаменимые помощники нашему организму. М.: РИПОЛ классик, 2010. 64с.
29. Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Дармов И. В. и др. Практическая медицина. 2012. С 47-55.
30. Шварцман П.Я. Индуцированный соматический мозаицизм у дрозофилы как тест-система для оценки генетической активности факторов окружающей среды / Шварцман П.Я., Сондоре З.А. // Генетика. 1975. Т. 11. №8 . С. 171.
31. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. Москва: Издательство АН СССР, 1946. 396 с.
32. Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. Am J Clin Nutr. 2001. С. 399-405.
33. Diop L, Guillou S, Durand H. Probiotic food supplement reduces stress-induced gastrointestinal symptoms in volunteers: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. Nutr Res. 2008 Jan;28(1):1-5. doi: 10.1016/j.nutres.2007.10.001.
34. Famularo G., Di Simone C., Matteuzzi D., Pirovano F. Traditional and high potency probiotic preparations for oral bacteriotherapy. Biodrugs. 1999. С. 70-544.
35. Floch MH, Madsen KK, Jenkins DJ, et al. Recommendations for probiotic use. J Clin Gastroenterol 2006;40:C. 8-275.
36. Francisco Guarner и др. Пробиотики и пребиотики. Всемирная Гастроэнтерологическая Организация. Практические рекомендации, 2008 . 24с.
37. ARAYA, Magdalena; MORELLI, Lorenzo; REID, Gregor; SANDERS, Mary Ellen; STANTON, Catherine. Guidelines for the evaluation of probiotics in food: Joint FAO/WHO Working group meeting, London, Ontario, Canada 30 April – 1 May, 2002 .



38. Lenoir-Wijnkoop I, Sanders ME, Cabana MD, et al. Probiotic and prebiotic influence beyond the intestinal tract. *Nutr Rev* 2007. С. 89-469.
39. Osborn DA, Sinn JK. Probiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity. С. 1 - 43
40. Shankar P., Davies F. Associated bacterial growth in yogurt starters, initial observation on stimulatory factors. *J Soc Dairy Technol.* 1976. С. 2-31.
41. Timmerman H. M., Koning C. J. M., Mulder L., Rombouts F. M., Beynen A. C. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics. A comparison of functionality and efficacy. *Int J Food Microbiol.* 2004. С. 33-219.
42. Vogel E.W. Somatic cell mutagenicity in *Drosophila melanogaster* in comparison with genetic damage in early germ-cell stages / Vogel E. W., Zijlstra J.A. // *Mut. Res.* 1987. Vol 180. P.1897.
43. Диганов А.И. Ветом. Профилактика гриппа. 2008. <http://vetom.net.ua/>
44. Giralt J, Regadera JP, Verges R. SAP: Международная Научная Ассоциации Пробиотиков и Пребиотиков. 2011. <http://www.isapp.net/> (дата обращения 04.03. 2016).
45. Gonca Pasin CALIFORNIA DAIRY RESEARCH FOUNDATION. 2011. URL: <http://cdrf.org/> (дата обращения 04.03.2016).

**ПРИЛОЖЕНИЕ**



Рис. 1. Пробиотик Betom 1.1



Рис. 2. 1 этап эксперимента по оценке влияния пробиотика Betom 1.1 на жизнеспособность *Dr. melanogaster* линии D-32





Рис. 5. 1 этап эксперимента по учету ДЛМ у *Dr. melanogaster*

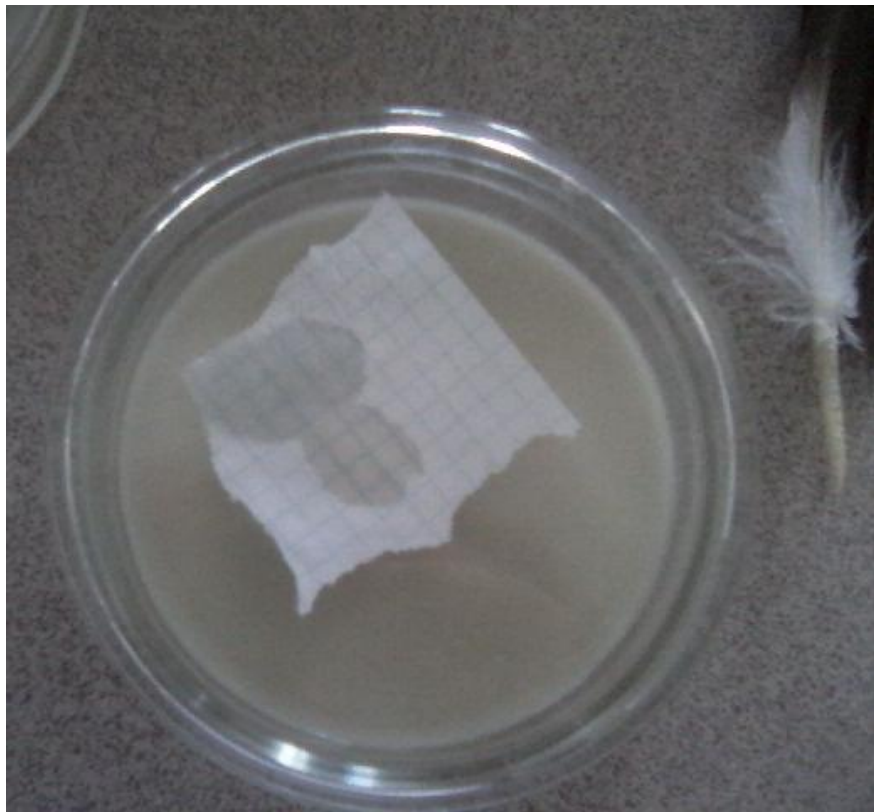


Рис. 6. 2 этап эксперимента по учету доминантных летальных мутаций у *Dr. melanogaster* линии D-32





Рис. 7. Чашка Петри с подсчитанными облочками яиц, РЭЛ, неоплодотворенными яйцами и ПЭЛ

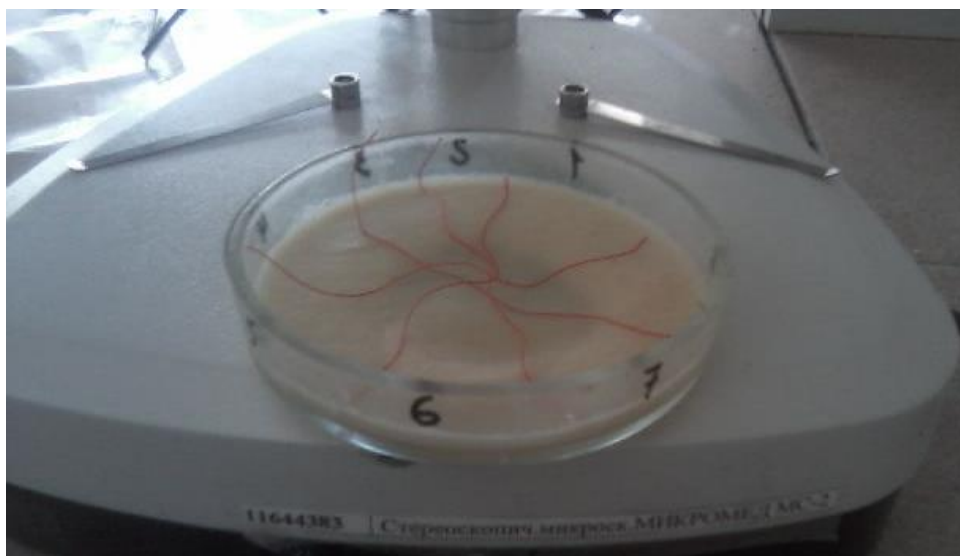


Рис. 8. Подсчет числа оболочек яиц, РЭЛ, неоплодотворенных яиц и ПЭЛ в чашке Петри



Рис. 9. Яйца *Dr. melanogaster*



Рис. 10. ПЭЛ (поздние эмбриональные летали) *Dr. melanogaster* (рядом оболочка яйца)



Рис. 11. РЭЛ (ранние эмбриональные летали) *Dr. melanogaster*



Рис. 12. Мертвая предкуколка *Dr. melanogaster*