

УДК 602.3:579.6

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ *VACILLUS PUMILUS* МЕТОДОМ ГРАЦИЯ

Абдурахманов И.М., Карпова Ю.С., студенты 4 курса
экономического факультета
Научный руководитель – Калдыркаев А.И., кандидат
биологических наук, старший преподаватель
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

Ключевые слова: *Bacillus pumilus*, литическая активность, бактериофаг, посевы.

Статья посвящена определению литической активности бактериофагов методом Грация. Установлено, что выделенные и селекционированные бактериофаги обладают различной литической активностью в диапазоне от $9,4 \times 10^6 \pm 0,5 \times 10^6$ до $5,3 \times 10^8 \pm 0,6 \times 10^8$ БОЕ/мл.

В исследованиях использовали культуры бактерий вида *Bacillus pumilus*, полученные нами из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА. Литическую активность выделенных бактериофагов оценивали по их способности вызывать лизис бактериальной культуры на плотной питательной среде методом агаровых слоев [1-6].

Методика исследований многократно была отработана сотрудниками кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА [7-19].

Накануне опыта по чашкам Петри разливали 1,5% мясопептонный агар в ламинарном боксе. Перед использованием чашки дополнительно подсушивали в термостате при 37 °С 20 минут. Индикаторные культуры *Bacillus pumilus* выращивались в условиях термостата в течение 18 часов при 37 °С на мясо-пептонном бульоне. Стерильный 0,7% мясопептонный агар, разлитый в пробирки по 2,5 мл, расплавляли на водяной бане и остужали до 46-48 °С. Исследуемый бактериофаг в количестве 1,0 мл помещали в 2,5 мл 0,7% мясопептонного агара, туда же вносили 0,2 мл индикаторной культуры. Все быстро и тщательно перемешивали вращением пробирки в ладонях и выливали на поверхность 1,5% мясопептон-

ного агара. Смесь осторожными движениями распределяли по поверхности мясопептонного агара, чашки Петри оставляли на горизонтальной поверхности стола до полного застывания мясопептонного агара, затем инкубировали посева в термостате при 37 °С в течение 18 часов.

Для статистической обработки каждый эксперимент проводили троекратно. Учет результатов проводили, используя формулу:

$$X = Y \times N, \text{ где}$$

Y – количество негативных колоний фага, выросших на чашке Петри, N – фактор разведения.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что выделенные бактериофаги *Bacillus pumilus* обладали различной активностью. Ее показатели были выявлены в диапазоне от $9,4 \times 10^6 \pm 0,5 \times 10^6$ до $5,3 \times 10^8 \pm 0,6 \times 10^8$ БОЕ/мл (бляшкообразующих единиц) в 1 мл фага (табл. 1). Наиболее высокой активностью обладали фаг Р-2, самой низкой – Р-1.

Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты исследований на специфичность фага

№\№	Название фага	Показатель литической активности
1	Р-1	$9,4 \times 10^6 \pm 0,5 \times 10^6$
2	Р-2	$5,3 \times 10^8 \pm 0,6 \times 10^8$
3	Р-3	$3,2 \times 10^7 \pm 0,8 \times 10^7$
4	Р-4	$1,2 \times 10^8 \pm 0,1 \times 10^8$

Научные исследования проводятся при финансовой поддержке государства в лице Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа «УМНИК»).

Библиографический список

1. Васильев, Д.А. Разработка параметров постановки реакции нарастания титра фага для индикации бактерий *Bacillus mesentericus* в объектах санитарного надзора / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, А.В. Алешкин, Н.А. Феоктистова [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2012. - № 4 (20). - С. 69-73.
2. Васильев, Д.А. Биосенсорная детекция бактерий рода *Bacillus* в молоке и молочных продуктах для предупреждения их порчи / Д.А. Васильев Д.А., С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 4 (24). - С. 36-43.

3. Васильев Д.А. Биоиндикация бактерий *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора / Д.А. Васильев Д.А., С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 3 (23). - С. 52-56.
4. Климушкин, Е.И. Выделение бактериофагов, специфичных к *Bacillus anthracis* / Е.И. Климушкин, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // БиоКиров-2015: сборник материалов III Международного форума. [Электронный ресурс]. - 2015. - С. 10-12.
5. Кудряшова, К.В. Методика выделения фитопатогенных бацилл / К.В. Кудряшова, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ -2014 VI Международная студенческая электронная научная конференция: Электронное издание. 2014.
6. Лыдина, М.А. Технология изготовления и контроля лабораторной серии фагового биопрепарата *Bacillus pumilus (mesentericus)* / М.А. Лыдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // Биотика. - 2015. - Т. 2. - № 1. - С. 8-12.
7. Лыдина, М.А. Алгоритм производства лабораторной серии фагового биопрепарата *Bacillus pumilus (mesentericus)* / М.А. Лыдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // Биотика. - 2015. - Т. 3. - 2. - С. 28-32.
8. Макеев, В.А. Изучение чувствительности бактерий рода *Bacillus* к различным концентрациям хлорида натрия / В.А. Макеев, М.А. Юдина, А.Х. Мустафин, А.И. Калдыраев, Н.А. Феоктистова // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения: международная научно-практическая конференция. – Ульяновск, 2011. – С. 185-187.
9. Петрукова, Н.А. Биоиндикация содержания бактерий *Bacillus megaterium* в молоке и молочных продуктах / Н.А. Петрукова, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // «Экология родного края: проблемы и пути их решения»: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Киров, 2014. - С. 375-377.
10. Романова, Н.А. Сравнительная эффективность методов выделения фагов бактерий *Bacillus megaterium* / Н.А. Романова, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин [и др.] // Вестник ветеринарии. – 2013. - № 1(64). – С. 26-27.
11. Феоктистова, Н.А. Методика постановки реакции нарастания титра фага *Bacillus anthracis* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, Е.И. Климушкин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2015. - № 4. – С. 99-106.
12. Феоктистова, Н.А. Биологические свойства сибиреязвенного бактериофага / Н.А. Феоктистова, Е.И. Климушкин, Д.А. Васильев, К.В. Белова // Вестник ветеринарии. - 2015. - №3 (74). - С. 46-49.

13. Феоктистова, Н.А. Подбор перспективного производственного штамма *Bacillus anthracis* для конструирования фагового биопрепарата / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, Е.И. Климушкин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2015. - № 3 (31). - С. 69-76.
14. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов *Bacillus subtilis* / Н.А. Феоктистова // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. - Ульяновск, 2013. - С. 186-197.
15. Феоктистова, Н.А. Выделение бактерий вида *Bacillus mesentericus* из объектов санитарного надзора / Н.А. Феоктистова, М.А. Юдина, Д.А. Васильев [и др.] // Молодежь и наука XXI века: материалы III-й Международной научно-практической конференции молодых ученых. – Ульяновск, 2010. - С. 82-84.
16. Феоктистова, Н.А. Бактериофаги рода *Bacillus* и перспективы их применения / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, А.В. Алешкин // Инфекция и иммунитет. - 2014. - № 5. - С. 116-117.
17. Феоктистова, Н.А. Получение производственно-перспективных штаммов фагов *Bacillus megaterium* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Лыдина [и др.] // Биотика. - 2015. - Т. 2. - № 1. - С. 3-7.
18. Феоктистова, Н.А. Результаты сравнительного анализа бактериологических методов исследований какао-порошка на наличие бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВППП) / Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2015. - № 1 (29). - С. 69-76.
19. Юдина, М.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерий вида *Bacillus mesentericus* / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова // В книге: «Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека». - Ульяновск, 2013. - С. 197-211. (315 с.).

RESULTS OF STUDYING OF LYTIC ACTIVITY OF BACTERIOPHAGES OF *BACILLUS PUMILUS* BY GRATSI METHOD

Abdurakhmanov I.M., Karpova Yu.S.

Key words: *Bacillus pumilus*, lytic activity, bacteriophage, crops.

Article is devoted to determination of lytic activity of bacteriophages by method of Gratsia. It is established that the allocated and selected bacteriophages possess various lytic activity in the range from $9,4 \times 10^6 \pm 0,5 \times 10^6$ до $5,3 \times 10^8 \pm 0,6 \times 10^8$ BOE/ml.