

- Е.Н., Пульчеровская Л.П., Семанина Е.Н., Феоктистова Н.А., Шестаков А.Г. и др. - Ульяновск, 2013.
6. Васильев Д.А. Листерийные бактериофаги / Д.А.Васильев, Е.Н. Ковалева, С.Н. Золотухин / Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. Ульяновск, 2013.
 7. Васильев Д.А. Бактериофаги рода *Bacillus* / Васильев Д.А., Феоктистова Н.А., Золотухин С.Н., Алешкин А.В. / Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия; НИИЦМиБ. Ульяновск, 2013.
 8. Васильева Ю.Б. Разработка методов фагодиагностики бордетеллёза // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). – С.51-56.
 9. Шестаков А.Г. Соотношение бактериофагов в биопрепарате полифага / А.Г. Шестаков, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Е.Н. Семанина, Е.Г. Семанин / Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. - 2013. - С. 205-210.
 10. Васильев Д.А. Биоиндикация бактерий *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, А.И. Калдыркаев, В.А. Макеев, И.Г. Швиденко / Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2013. № 3 (23). С. 52-56.

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF THE GENOME OF THE NEW BACTERIOPHAGES

Gorshkov I. G.

Keywords: Bacteriophages, *Pseudomonas fluorescens*, microbiology.

The studies of objects in the environment (water sources) was isolated strains of bacteriophage specific for *Pseudomonas fluorescens*, investigated its basic biological properties: negative colonies morphology and intrapartum interspecies specificity, lytic activity.

УДК 619:616.98

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИИ НЕГАТИВНЫХ КОЛОНИЙ ВЫДЕЛЕННЫХ БАКТЕРИОФАГОВ *PROTEUS VULGARIS* И *PROTEUS MIRABILIS*

Шкаликова М.В., 4 курс факультета ветеринарной медицины
Научный руководитель: к.б.н., доцент Феоктистова Н.А.
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Ключевые слова: морфология, бактериофаги, негативные колонии, штаммы фагов, бактерии рода *Proteus*.

Поиск новых экологически чистых препаратов - альтернатив антибиотикам – это серьезная проблема для современной медицины. Использование бактериофагов, обладающих лизирующим действием на

конкретный возбудитель заболевания – это медицинская панацея в терапии. Бактериофаги экологически чисты, просты в применении и не имеют, в отличие от антибиотиков, побочных эффектов.

Целью наших исследований является изучение морфологии негативных колоний выделенных бактериофагов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*.

Материалы и методы: штаммы фагов бактерий рода *Proteus*, выделенные из фекалий молодняка сельскохозяйственных животных и сточных вод животноводческих хозяйств Ульяновской и Самарской областей.

Питательные среды и реактивы: мясопептонный бульон, мясопептонный агар, 0,04% спиртовой раствор генцианвиолета.

Оборудование: холодильники бытовые, ультратермостаты УТ-15У4,2; термостаты ТС-80М-2, центрифуги лабораторные ОПн-8УХЛ4,2 и ЦЛС-3, весы чашечные с разновесами, автоклав, шуттель-аппарат, сушильный шкаф, водяная баня, пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0; 10 см³; флаконы емкостью 50, 100, 200 см³; стекла предметные, чашки Петри, пробирки.

Морфология негативных колоний

Морфологию негативных колоний выделенных бактериофагов изучали при посевах фагов методом агаровых слоев по Грациа.

Накануне опыта по чашкам разливали 1,5 % мясопептонный агар, куда добавляли 0,04 % спиртовой раствор генцианвиолета (0,1 мл на каждые 100 мл). Перед использованием чашки подсушивали в термостате 15-20 минут. Индикаторные выращивались в условиях термостата в течение 18-20 часов при 37 °С на мясо-пептонном бульоне. Стерильно подготовленный 0,7 % мясопептонный агар, разлитый в пробирки по 2,5 мл, расплавляли 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 % МПА. Смесь осторожными движениями распределяли по поверхности мясопептонного агара, чашки оставляли на горизонтальной поверхности на 30 минут до полного застывания агара, затем инкубировали в термостате при 37 °С в течение 16-20 часов.

Учет проводили через 16 часов инкубации при температуре 37 °С.

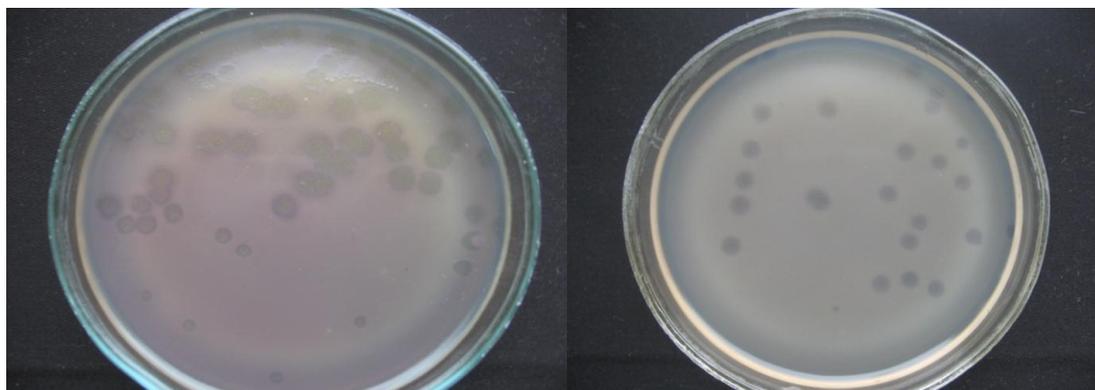


Рис. 1. Негативные колонии фага П-16 УГСХА

Рис. 2. Негативные колонии фага П-261 УГСХА

Таблица 1 – Морфология негативных колоний выделенных фагов бактерий рода *Proteus*

№	Бактериальная культура <i>Proteus</i> / название фага.	Наличие негативных колоний или лизиса
1.	<i>P. vulgaris</i> 261 / П-1 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 2,0-2,5 мм в диаметре
2.	<i>P. vulgaris</i> 3 / П-2 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 3,0-4,0 мм в диаметре
3.	<i>P. mirabilis</i> 4/2 3“П” / П-3 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0 мм в диаметре
4.	<i>P. vulgaris</i> 82/98 / П-4 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0-1,5 мм в диаметре
5.	<i>P. vulgaris</i> 85/98 / П-5 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 0,5-1,0 мм в диаметре
6.	<i>P. mirabilis</i> 1 / П-6 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0-1,3 мм в диаметре
7.	<i>P. vulgaris</i> 7 / П-7 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0-1,5 мм в диаметре
8.	<i>P.vulgaris</i> 55 А / П-8 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0-1,5 мм в диаметре
9.	<i>P.vulgaris</i> 3 П №3 / П-9 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0 мм в диаметре
10.	<i>P. mirabilis</i> 31/32 / П-10 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0-1,5 мм в диаметре
11.	<i>P. vulgaris</i> 10 / П-11 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,5-2,0 мм в диаметре
12.	<i>P .vulgaris</i> 55 А / П-12 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0-1,5 мм в диаметре
13.	<i>P. vulgaris</i> 261/ П-261 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, с зоной неполного лизиса по периферии, 6,0-8,0 мм в диаметре
14.	<i>P .vulgaris</i> 3 / П-14 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0 мм в диаметре
15.	<i>P. mirabilis</i> 95/98 / П-15 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,5 мм в диаметре
16.	<i>P. vulgaris</i> 3 / П-16 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 2,0-3,0 мм в диаметре
17.	<i>P. vulgaris</i> 1 / П-17 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,5 мм в диаметре
18.	<i>P. vulgaris</i> 1 / П-18 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1.0-1,5 мм в диаметре
19.	<i>P. mirabilis</i> 4/2 3 П / П-19 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, 1,0-1,5 мм в диаметре
20.	<i>P. vulgaris</i> 6 / П-20 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, с зоной неполного лизиса по периферии, 2,0-2,5 мм в диаметре
21.	<i>P. vulgaris</i> 85/98 / П-21 УГСХА	Прозрачные негативные колонии, округлой формы с ровными краями, с зоной неполного лизиса по периферии, 2,5-3,0 мм в диаметре
22.	<i>P. vulgaris</i> 2 / П-22 УГСХА	Полупрозрачные негативные колонии, с ровными краями, 2,0-2,5 мм

Заключение: изучение морфологии негативных колоний выделенных бактериофагов показало, что их можно сгруппировать в пять типов негативных колоний (Бабков, 1973):

1 тип: прозрачные негативные колонии округлой формы, 1,0-1,5 мм в диаметре (фаги П-3, П-4, П-5, П-8, П-10, П-15, П-19 серии УГСХА);

2 тип: прозрачные негативные колонии округлой формы, 2,0-4,0 мм в диаметре (фаги П-1, П-2, П-11, П-16 серии УГСХА) (рис. 1);

3 тип: мутные негативные колонии округлой формы, 1,0-2,5 мм в диаметре (фаги П-9, П-12, П-14, П-17, П-18, П-22 серии УГСХА);

4 тип: мутные негативные колонии округлой формы с выраженным вторичным ростом бактерий в центре и ореолом по периферии, 6,0-8,0 мм в диаметре (фаг П-261 серии УГСХА) (рис. 2);

5 тип: прозрачные негативные колонии округлой формы с ровными краями и ореолом по периферии, 2,0-3,0 мм в диаметре (фаги П-20, П-21 серии УГСХА).

Библиографический список

1. Барт, Н.Г. Бактериофаги *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев / Материалы Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения», Ульяновск, 2009. – с.140-146.
2. Барт, Н.Г. Биологические свойства бактериофагов *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев / Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки и образования», Ульяновск, 2009. – С.6-8.
3. Барт, Н.Г. Спектр литической активности бактериофагов *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев / Материалы V Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения». – Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина, 2013. – Т. II. – С.12-16.
4. Викторов, Д.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов *Pseudomonas fluorescens* / Д.А. Викторов, А.М. Артамонов, Д.А. Васильев // Ветеринария и кормление. – Москва: «ВЕТКОРМ», 2012. – №5. – С. 8-9.
5. Викторов, Д.А. Усовершенствование методов диагностики псевдомонозов рыб / Д.А. Викторов, Т.А. Гринева, Д.А. Васильев, А.М. Артамонов, С.Н. Золотухин // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: Материалы международной научно-практической конференции, Ульяновск, ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», 23-25 апреля 2013. – Т. 1. – Ульяновск, 2013. – С. 162-164.
6. Викторов, Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов. – 2011. – 22 с.
7. Васильев, Д.А. Выделение и идентификация *Bordetella bronchiseptica* от животных / Д.А. Васильев, А.В. Мастиленко, Д.Г. Сверкалова, Ю.Б. Васильева // Естественные и технические науки. – 2010. - № 5. – С. 233-235.
8. Васильев, Д.А. Изучение основных биологических свойств бактериофагов *Bordetella bronchiseptica*, выделенных методом индукции / Д.А. Васильев, Е.Н. Семанина, С.Н. Золотухин, И.Н. Хайруллин, Ю.Б. Васильева, А.Г. Шестаков // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. - №1 (13). - С. 59–62.

9. Выделение бактериофагов *Listeria monocytogenes* методом индукции/ Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов, И.Г. Швиденко // Вестник УГСХА. – 2013. - №1(21) – С. 45-49
10. Выделение и характеристика бактериофагов *Listeria monocytogenes* / Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов// Материалы международной научно-практической конференции "Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности". - Ульяновск: Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина, 2013, т.2 - С. 130-133
11. Изучение биологических свойств бактериофагов *Listeria* / Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, М.А. Имамов // Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве: Материалы Международной научно-практической конференции. – Саратов, 2013. – С. 125 – 127.
12. Перспективы применения бактериофагов *Listeria monocytogenes* / Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов [и др.] // Животноводство России в условиях ВТО: от фундаментальных исследований до высокопродуктивного производства: Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых, 9-11 апреля 2013. – Орел: Изд-во Орел ГАУ, 2013. – С. 181 – 184.
13. Фагоиндикация бактерий рода *Listeria* с целью мониторинга почвенных экосистем / Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев [и др.] // Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред: Тезисы докладов Международной конференции, Москва 4-6 февраля 2013 г. - М.: Бином, 2013. – С. 97.
14. Васильева, Ю.Б. Конструирование биопрепаратов для лабораторной диагностики бордетеллезной инфекции // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). – С. 25-29.
15. Васильева, Ю.Б. Разработка методов фагодиагностики бордетеллеза // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). – С.51-56.
16. Васильева, Ю.Б. Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики бордетеллеза // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4; URL: <http://www.science-education.ru/110-9751>.
17. Васильева, Ю.Б. Особенности биологии бактерий вида *Bordetella bronchiseptica* // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4; URL: <http://www.science-education.ru/110-9927>.
18. Васильева, Ю.Б. Новая тест-система идентификации возбудителя бордетеллеза – *Bordetella bronchiseptica* // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10. – Ч.1.
19. Васильева, Ю.Б. Разработка методов детекции бактерий *Bordetella bronchiseptica* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 3 (23). - С. 46-51.
20. Васильева, Ю.Б. Фаги бактерий *Bordetella bronchiseptica*: свойства и перспективы применения // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №3 (23).- С. 44-49.
21. Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека / Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Алёшкин А.В., Барт Н.Г., Богданов И.И., Васильева Ю.Б., Викторов Д.А., Золотухин Д.С., Журавская Н.П., Калдыркаев А.И., Карамышева Н.Н., Ковалева Е.Н., Коритняк Б.М., Ляшенко Е.А., Молофеева Н.И., Пожарникова Е.Н., Пульчеровская Л.П., Семанина Е.Н., Феоктистова Н.А., Шестаков А.Г. и др. - Ульяновск, 2013.
22. Васильев Д.А. Бактериофаги рода *Bacillus* / Васильев Д.А., Феоктистова Н.А., Золотухин С.Н., Алёшкин А.В. / Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия; НИИЦМиБ. Ульяновск, 2013.

23. Васильев Д.А. Разработка методов фагоидентификации и фагодетекции бактерий *Pseudomonas fluorescens* / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, А.М. Артамонов, Т.А. Гринева, Е.А. Ляшенко / Фундаментальные исследования. 2014. № 5-1. С. 55-58.
24. Шестаков А.Г. Соотношение бактериофагов в биопреparate полифага / А.Г. Шестаков, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Е.Н. Семанина, Е.Г. Семанин / Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. - 2013. - С. 205-210.

STUDYING OF MORPHOLOGY OF NEGATIVE COLONIES OF THE ALLOCATED BACTERIOPHAGES OF *PROTEUS VULGARIS* AND *PROTEUS MIRABILIS*

Shkalikova M. V., Feoktistova N. A.

Keywords: morphology, bacteriophages, negative colonies, strains of phages, sort Proteus bacteria.

Search of new environmentally friendly preparations - alternatives to antibiotics is a serious problem for modern medicine. Use of the bacteriophages possessing liziruyushchy action on the concrete causative agent of a disease is a medical panacea in therapy. Bacteriophages are ecologically pure, simple in application and have no, unlike antibiotics, side effects.

УДК 619:616.98

ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ ПРОТЕЙНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ

Шкаликова М.В., 4 курс, факультет ветеринарной медицины
Научный руководитель: к.б.н., доцент Феоктистова Н.А.
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Ключевые слова: бактериофаги, протейный фаговый биопрепарат, спектр литической активности, бульонная культура.

Создаваемый нами протейный фаговый биопрепарат будет лизировать только бактерии своего рода и будет абсолютно безопасен для других видов микроорганизмов, в отличие от традиционной формы лечения протейной инфекции при помощи антибиотиков.

Целью наших исследований является изучение спектра литической активности выделенных бактериофагов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*.

Материалы и методы. В работе были использованы как гомологичные, так и гетерологичные штаммы бактерий. В качестве гомологичных бактерий использовали 40 штаммов бактерии рода *Proteus*. 14 музейных штаммов из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновской ГСХА: *P. mirabilis* Тр.1 Культ., *P.*