

УДК 616:619

## БИОПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ФАГОВ ДЛЯ ОБРАБОТКИ ФРУКТОВ

Камалова Р.Р., Фролова А.С., 4 курс, факультет ветеринарной медицины  
Научные руководители: к.б.н, доцент Феокистова Н.А., к.б.н, доцент  
Калдыркаев А.И., к.б.н, старший преподаватель, Лыдина М.А.  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

**Ключевые слова:** ферментативные свойства, культура, среда Омелянского.

Работа посвящена разработке экспериментального биопрепарата, применение которого для обработки фруктов по разработанной нами технологии, позволит быстро и качественно инактивировать фитопатогенные бациллы в процессе хранения в условиях специализированных и овощехранилищах и в торговых залах магазинов. Данная цель достигается выделением, и идентифицировать фитопатогенные бациллы, контаминирующие фрукты.

В работе использовали методики, изложенные в следующих нормативно-технических документах и научных трудах:

- ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов»;
- ГОСТ Р 51426-99 «Общее руководство по приготовлению разведений для микробиологических исследований»;
- ГОСТ 26669-85 «Подготовка проб для микробиологического анализа»;
- для выделения бактерий *Bacillus* использовали схему дифференциации бактерий рода *Bacillus* (Gordon, 1973, Затула, 1973; Смирнов, 1982).

Было исследовано 52 пробы фруктов.

Выделение бактерий проводили по методике (Gordon, 1973).

**Первый день.** Исследуемые пробы вносили в физиологический раствор и прогревали на водяной бане при температуре 70-75 °С в течение 30 мин и высевали на чашки Петри с МПА. Все посева помещали в термостат при 37 °С на 18 ч. Культуры, выросшие на МПА, отсеивали в пробирку с МПБ и инкубировали в термостате при 37 °С в течение 4-5 ч. Для чистоты эксперимента мы анализировали не менее трех колоний.

**Второй день.** Просматривали посева и делали высевы на МПА, среды Громько и Гаузе № 2. Исходные посева, а также засеянные чашки и пробирки помещали в термостат при 37 °С на 18 часов.

**Третий день.** При наличии роста на МПА, средах Громько и Гаузе № 2 готовили мазки выросших культур, затем окрашивали по Граму.

Грамположительные спорообразующие бактерии засеивали в пробирки с МПБ. После 4-5 ч инкубации в термостате при 37 °С и высевали на следующие среды: среду Кларка, МПБ с 7% поваренной соли, среду с мочевиной, бульон с

нитратами, молочный агар, тирозировый агар, картофельный агар, МПБ с индикаторными бумажками на сероводород, аммиак и индол, бульон с яичным желтком, 1% глюкозный агар, среду Омелянского с глюкозой, МПА, кукурузно-пептонный агар. Все отобранные посевы помещали в термостат при 37 °С.

**Четвертый день.** Учитывали результаты определения ферментативных свойств выделенных культур. Для выявления глобул в протоплазме микробных клеток готовили мазки культур, выросших на 1% глюкозном агаре, окрашивали и микроскопировали. Грамположительные бациллы, образующие эндоспоры и продуцирующие каталазу, относили к роду *Bacillus*. Культуры, клетки которых не раздуваются при спорообразовании, считали представителями первой морфологической группы. Бактерии рода *Bacillus*, как правило, обнаруживаются в ассоциациях с другими бактериями, которые могут подавлять рост бацилл при высевании проб на обычно применяемые среды. Поэтому при выделении спорообразующих бактерий пробы прогревали перед высевом на полноценные питательные среды при температуре 70 °С в течение 40 минут.

По результатам исследований на наличие бактерий *Bacillus mesentericus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides* 52 пробы фруктов (яблоки, груши, слива, персики, абрикосы, мандарины, завезенные из Израиля и Краснодарского края (Россия)). Нами установлено, что уровень контаминации исследованных проб бактериями рода *Bacillus* составил более 27 %. В результате проведенных исследований было выделено 19 культур бактерий рода *Bacillus*, которые мы дифференцировали по ферментативным свойствам (на основании тестов, описанных в литературных источниках и изучения биохимических свойств выделенных штаммов и штаммов из коллекции бактерий рода *Bacillus* Научно-исследовательского инновационного центра микробиологии и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Ульяновской ГСХА им. П.А. Столыпина»), как бактерии видов *Bacillus mesentericus (pumilus)*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*.

Бактерии рода *Bacillus* - фитопатогенные бактерии, поражающие тыкву, кукурузу, свеклу, плоды апельсина, абрикоса, кабачков и других растений, клубни картофеля, семенники капусты, коробочки хлопчатника и т.п., и тем самым наносящие значительный экономический ущерб сельскохозяйственным и перерабатывающим предприятиям (Аскалонов, 1962; Меркулов, 2011).

#### **Библиографический список**

1. Алехин Р.М., Бакулов И.А., Ведерников В.А. и др. Руководство по общей эпизоотологии. - М.: Колос, 1979 г.
2. Болезни собак: Справочник / Сост. Проф. А.И.Майоров. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Колос, 2001 г.
3. Ветеринарное законодательство. Т. 1 и 2 / под общей ред. Третьякова А.Д. - М.: Колос, 1972 г.
4. Конопаткин А.А., Артемов Б.Т., Бакулов И.А. и др. Эпизоотология и инфекционные болезни. - М.: Колос, 1993 г.
5. Поляков А.А. Ветеринарная дезинфекция. - М.: Колос, 1975 г.
6. Справочник ветеринарного врача. - СПб.: Издательство «Лань», 2000 г.
7. 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.
8. 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.
  9. 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.
  10. 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.
  11. 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.
  12. Викторов, Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов. – 2011. – 22 с.
  13. Васильев, Д.А. Выделение и идентификация *Bordetella bronchiseptica* от животных / Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова, Ю.Б. Васильева // Естественные и технические науки. – 2010. - № 5. – С. 233-235.
  14. 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.
  15. 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
  16. 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
  17. 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.
  18. 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.
  19. 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.

20. Васильева, Ю.Б. Конструирование биопрепаратов для лабораторной диагностики бордетеллёзной инфекции // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). – С. 25-29.
21. Васильева, Ю.Б. Разработка методов фагодиагностики бордетеллёза // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). – С.51-56.
22. Васильева, Ю.Б. Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики бордетеллёза // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4; URL: <http://www.science-education.ru/110-9751>.
23. Васильева, Ю.Б. Особенности биологии бактерий вида *Bordetella bronchiseptica* // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4; URL: <http://www.science-education.ru/110-9927>.
24. Васильева, Ю.Б. Новая тест-система идентификации возбудителя бордетеллёза – *Bordetella bronchiseptica* // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10. – Ч.1.
25. Васильева, Ю.Б. Разработка методов детекции бактерий *Bordetella bronchiseptica* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 3 (23). - С. 46-51.
26. Васильева, Ю.Б. Фаги бактерий *Bordetella bronchiseptica*: свойства и перспективы применения // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №3 (23).- С. 44-49.
27. 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.
28. Васильев Д.А. Бактериофаги рода *Vacillus* / Васильев Д.А., Феоктистова Н.А., Золотухин С.Н., Алёшкин А.В. / Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия; НИИЦМиБ. Ульяновск, 2013.
29. 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.
30. 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.

## **BIOLOGICAL PREPARATION ON THE BASIS OF PHAGES FOR PROCESSING FRUITS**

Kamalov R.R., Frolova A.S., Feoktistova N.A., Kuldyrkaev A.I.

**Keywords:** enzymatic properties, culture, environment Alanskogo.

The work is devoted to the development of experimental biological product, which is used for processing fruit on our technology, will allow quickly and qualitatively the inactivation of pathogenic bacilli in storage in conditions of specialized and vegetable storages and in trading halls of shops. This purpose is reached by selection, and identify plant pathogenic bacilli, which contaminate fruits.