

стью пришла в норму, состояние было хорошим. Для достоверности полученных результатов опыт был повторён в трёхкратной последовательности.

Заключение. На основании полученных данных можно утверждать, что введение в рацион птицы, в возрастной категории 66, 99 и 275 дней, биодобавки на основе диатомита с бактериофагами

способствуют быстрому выздоровлению заболевшего поголовья и являются эффективным лечебным средством сезонных эпизоотических вспышек. Полученную и апробированную в результате данного эксперимента биодобавку можно рекомендовать промышленным предприятиям в качестве биодобавки в дневной рацион птицы.

Библиографический список:

1. Золотухин, С.Н. Выделение фагов бактерий рода *Citrobacter* из объектов внешней среды и патологического материала // С.Н.Золотухин, Л.П.Пулчеровская, Н.А.Кирьянова, Д.А.Васильев «Вестник УГСХА», Сборник научных трудов, Ульяновск, - 2002. - С. 29-32.
2. Золотухин, С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных / С.Н.Золотухин, , Ульяновск.- 2004.-146с.
3. Молофеева, Н.И. Индикация и ускоренная идентификация *Escherichia coli* 0157.,/Н.И.Молофеева, С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев // Ж. Вестник ветеринарии - Ставропольский ГАУ, вып. 59. – 2011. – № 4. – С. 53-56.
4. Феоктистова, Н.А. Распространение *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора / Н.А.Феоктистова, Д.А.Васильев, С.Н.Золотухин [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2014. - № 1 (25). - С. 68-76.
5. Феоктистова, Н.А. Методы выделения бактериофагов рода *Bacillus* / Н.А. Феоктистова, В.А. Макеев, М.А. Юдина [и др.] // Вестник ветеринарии. - 2011. - Т. 59. - № 4. - С. 88-89.

THE USE OF FEED INGREDIENTS WITH SALMONELLÆZNYM BACTERIOPHAGE IN MEDICAL PURPOSES AGAINST PULLOROZA BIRDS

Karamisheva V.N., Sverkalova D.G., Vasiliev D.A.

Key words: *salmonellæzny bacteriophage pulloroz, treatment, prevention of salmonellosis chickens.*

УДК 579.64

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАЦИЛЛ, КОНТАМИНИРУЮЩИХ ЗЕРНО ПШЕНИЦЫ И КУКУРУЗЫ

Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент
тел. 8(8422)55-95-47, feokna@yandex.ru

Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор
тел. 8(8422)55-95-47, dav_ul@mail.ru

М.А. Лыдина, кандидат биологических наук, ст. преподаватель
тел. 8(8422)55-95-47, feokna@yandex.ru

К.В. Кудряшова, аспирант
тел. 8(8422)55-95-47, kudryashova_91@list.ru

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Б.И. Шморгун, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВГНКИ»,
тел.7 (499) 253-14-68,dav_ul@mail.ru

Ключевые слова: *фитопатогенныебациллы, бактерии, штаммы, пробы, биохимические свойства, методика, тест, зерно, порча.*

Работа посвящена выделению и идентификации патогенных бацилл, вызывающих порчу зерна. На наличие бактерий *Bacillus mesentericus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides* было исследовано 25 проб зерна кукурузы и пшеницы, уровень контаминации исследованных проб бактериями составил 50 %. В результате проведенных исследований было выделено 12 культур бактерий, которые мы классифицировали по ферментативным свойствам (на основании тестов, описанных в литературных источниках и результатах изучения биохимических свойств штаммов бактерий *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis*, полученных из музея кафедры МВЭ и ВСЭ УГСХА и отнесли к вышеуказанным видам.

Введение. Контаминация плодов и овощей фитопатогенными бациллами в процессе их выращивания, сбора и последующего хранения – это серьезная проблема производителей и переработчиков сельскохозяйственного сырья, но и медиков. Пищевые отравления, вызванные бактериями *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, часто характеризуются острым течением болезни и могут вызвать летальный исход. В настоящее время обработка овощей и фруктов основана на отбраковке недоброкачественной продукции с использованием ручного труда и механических устройств. Подобная обработка – это трудоемкие и малоэффективные технологии, так как, удалив испорченную единицу продукции, нельзя гарантировать, что споры фитопатогенных бацилл не попали на другие фрукты и овощи. Задача изыскания эффективного и безвредного способа обработки сельскохозяйственной продукции с целью уничтожения фитопатогенных бацилл – актуальная тема для исследований, результаты которых позволят повысить эффективность применения контрольных мер при хранении зерна, плодов и овощей в условиях специализированных зерно- и овощехранилищах, в торговых залах магазинов, а также сделать данную технологическую операцию значительно дешевле [7,8,10].

Цель исследования - выделить и идентифицировать фитопатогенные бациллы, контаминирующие зерно пшеницы и кукурузы.

Материалы и методы. *Материалы.* 25 проб зерна кукурузы и пшеницы непотраченного, полученного в хозяйствах Ульяновской, Самарской и Оренбургской областей.

Методы. 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* [8,10,12].

Результаты исследований и их обсуждение.
Первый день. Исследуемые пробы вносили в физио-

логический 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 Громыко 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 Громыко 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, тирозин-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 посева 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. Опыт работы по выделению спорообразующих аэробных бактерий из организма свидетельствует о том, что наиболее часто в исследуемом материале обнаруживаются бактерии группы *Bacillus subtilis-mesentericus*. В то же время, при выделении спорообразующих аэробов из пищевого сырья и продуктов питания, мы встретились с определенными трудностями. Бактерии *Bacillus mesentericus*, как правило, обнаруживаются в ассоциациях с другими бактериями, которые мо-

Таблица 1 - Сводные данные об основных свойствах видов рода *Bacillus*, используемых для дифференциации (по Gordon, 1973) [12]

Виды	Свойства													
	Каталаза	Реакция Фогес-Прокауэра	Рост в анаэробно-магаре	Рост при 50 °С	Рост при 7%Cl	Образование кислоты и газа из глюкозы	Редукция нитратов	Гидролиз крахмала	Рост при 65 °С	Ширина клетки 1,0 мкм	Спообразование	Образов. кислоты из глюкозы	Гидролиз казеина	Параспоральные включения
<i>B. megaterium</i>	+	-	-	-	+	-	0	+	-	+	+	+	+	-
<i>B. cereus</i>	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	0
<i>B. subtilis</i>	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>B. mesentericus</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>B. coagulans</i>	+	+	+	+	-	-	0	+	-	0	+	+	0	-
<i>B. macerans</i>	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-

Примечание – « + » - более 85% штаммов, исследованных Gordon (1973) положительны,
« - » - более 85% штаммов отрицательны,
« 0 » - вариабельный признак.

гут подавлять рост бактерий 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.

Методика определения биохимических свойств выделенных штаммов бактерий рода *Bacillus* по Gordon (1973) [12]. В таблице 1 представлены основные свойства бактерий рода *Bacillus*, используемых для дифференциации (по Gordon, 1973). Дополнительными тестами для дифференциации выделенных бактерий были биохимические тесты, предложенные Сидоровым (1995) [12]: утилизация цитрата, взаимодействие с фенилаланиндезаминазой, D-маннитом (рисунок 1), D-ксилозой, D-глюкозой и L-арабинозой (таблица 2).

Полученные нами результаты изучения биохимических свойств выделенных нами бактерий были сравнены с данными по изучению биохимических свойств штаммов бактерий рода *Bacillus*, полученных из музея кафедры МВЭ и ВСЭ УГСХА им. П.А. Столыпина. Все выделенные бактерии палочкообразной формы, спорообразующие, капсул не образуют. На мясо-пептонномагаре **вырастают в виде сочных, с морщинистой поверхностью, слизистых матовых колоний серо-белого цвета с волнистым краем; 3 выделенных штамма бактерий образуют серо-бурые колонии, т.е. продуцируют пигмент коричневого цвета. Все штаммы вызывают слабое помутнение мясо-пептонного бульона и образуют пленку на поверхности среды; гемолитическая активность не выявлена.**

Установлено, что оптимальная кислотность среды pH 6,5-7,5; pH 5,0 обладает бактериостатиче-

ским действием. Оптимальная температура роста 37 °С. Все выделенные штаммы разжижают желатин, свертывают и пептонизируют молоко, продуцируют ацетилметилкарбинол. При разложении белков выделяют много сероводорода. Индол не образуют. Вызывают гидролиз крахмала. Не ферментируют глюкозу и лактозу. Растут в присутствии 7% NaCl. Гемолитическая активность не выявлена; утилизация цитрата – реакция отрицательная, фенилаланиндезаминаза – реакция отрицательная, D-глюкоза – реакция положительная, L-арабиноза – реакция положительная, D-ксилоза - реакция положительная, D-маннит - реакция положительная.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами было выделено из проб кукурузы и пшеницы 12 культур бактерий, которые мы классифицировали по ферментативным свойствам (на основании тестов, описанных в литературных источниках и результатах изучения биохимических свойств штаммов бактерий рода *Bacillus*, полученных из музея кафедры МВЭ и ВСЭ УГСХА им. П.А. Столыпина) и отнесли к видам *Bacillus mesentericus* и *Bacillus subtilis*.

Заключение. Нами было исследовано на наличие бактерий *Bacillus mesentericus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides* 25 проб зерна кукурузы и пшеницы, уровень контаминации исследованных проб бактериями составил 50 %. В результате проведенных исследований было выделено 12 культур бактерий, которые мы классифицировали по ферментативным свойствам (на основании тестов, описанных в литературных источниках и результатах изучения биохимических свойств штаммов бактерий *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis*, полученных из музея кафедры МВЭ и ВСЭ «Ульяновской

Таблица 2 – Сводные данные об основных свойствах видов рода *Bacillus*, используемых для дифференциации (по Сидорову, 1995) [12]

Вид	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. mycoides</i>	<i>B. mesentericus</i>
Признаки					
Рост в присутствии лизоцима	+	х	-	+	х
Анаэробный рост	+	-	-	+	-
Каталаза	+	+	+	+	+
Тест Фогес-Проскауера	+	+	-	+	+
Утилизация цитрата	+	+	-	х	+
Расщепление тирозина	+	-	+	х	-
Фенилаланиндезаминаза	-	-	+	-	-
Летициназа	+	-	х	х	-
Редукция натратов до нитритов	+	+	х	+	-
Гидролиз					
Казеина	+	+	-	+	+
Желатина	+	+	х	+	+
Крахмала	+	+	+	+	-
Образование кислоты из					
D-глюкозы	+	+	+	+	+
L-арабинозы	-	+	х	-	+
D-ксилозы	-	+	х	-	+
D-маннита	-	+	х	-	+
Газ из глюкозы	-	-	-	-	-

Примечание – « + » - более 85% штаммов, исследованных Сидоровым (1975) положительны,
 « - » - более 85% штаммов отрицательны,
 « х » - вариабельный признак.

ГСХА им. П.А. Столыпина» и отнесли квышеназванным видам.

Поиском решения задачи изыскания эффективного и безвредного способа обработки сельскохозяйственной продукции с целью уничтожения фитопатогенных бактерий, фагоиндикации и фагоиден-

тификации возбудителей порчи продуктов питания на протяжении многих лет занимаются сотрудники кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновской ГСХА им. П.А. Столыпина» [1-6, 9-11].

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, Н.А. Феоктистова [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2012. - № 3. - С. 69-73.
2. Васильев, Д.А. Характеристика биологических свойств бактериофагов вида *Bacillus subtilis* / Д.А. Васильев Д.А., Н.А. Феоктистова М.А. Юдина [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. - № 1. - С. 79-83.
3. Васильев, Д.А. Биосенсорная детекция бактерий рода *Bacillus* в молоке и молочных продуктах для предупреждения их порчи / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 4 (24). - С. 36-43.
4. Калдыркаев, А.И. Разработка системы фаговаров бактерий *Bacillus cereus* для идентификации и мониторинга данного микроорганизма / А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин // В книге: «Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека». - Ульяновск, 2013. - С. 211-225.

5. Садеева, Н.Т. Выделение фагов бактерий вида *Bacillus cereus* / Н.Т. Садеева, Н.А. Феоктистова, М.А. Юдина [и др.] // В сборнике: Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии: материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. – Ульяновск: ГСХА, 2012. – С. 14-17.
6. Райчинец, Ю.А. Методика выделения *Paenibacillus larvae* / Ю.А. Райчинец, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 5. - С. 599.
7. Феоктистова, Н.А. Перспективы применения бактериофагов рода *Bacillus* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Юдина [и др.] // В сборнике: Настоящее и будущее биотехнологии в решении проблем экологии, медицины, сельского, лесного хозяйства и промышленности Научно-практический семинар с международным участием. – Ульяновск: УлГУ, 2011. - С. 136-139.
8. Феоктистова, Н.А. Разработка схемы исследования материала с целью выделения и ускоренной идентификации бактерий видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus* / Н.А. Феоктистова, А.И. Калдыркаев, А.Х. Мустафин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2011. - Т. 4. - № 32-1. - С. 288-290.
9. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения / автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. Саратов, 2006. – С. 6.
10. Феоктистова, Н.А. Распространение *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2014. - № 1 (25). - С. 68-76.
11. Феоктистова, Н.А. Методы выделения бактериофагов рода *Bacillus* / Н.А. Феоктистова, В.А. Макеев, М.А. Юдина [и др.] // Вестник ветеринарии. - 2011. - Т. 59. - № 4. - С. 88-89.
12. Юдина, М.А. Разработка фагового препарата *Bacillus mesentericus* и область его практического применения / автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. Саратов, 2012. – С. 5.

VYDENIYE AND IDENTIKATION OF PHYTOPATHOGENIC BACILLI, KONTAMINIRUYUSHCHY GRAIN OF WHEAT AND CORN

N. A. Feoktistova, D. A. Vasilyev, M. A. Lydina, K.V. Kudryashova, B. I. Shmorgun.

Keywords: phytopathogenic bacilli, bacteria, strains, tests, biochemical properties, technique, test, grain, damage.

*Work is devoted to allocation and identification of the pathogenic bacilli causing grain damage. On existence of bacteria of *Bacillus mesentericus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides* there were proissledovano 25 tests of grain of corn and wheat, the level of a kontamination of the studied tests by bacteria made 50%. As a result of the conducted researches 12 cultures of bacteria which we classified by fermentativny properties (on the basis of the tests described in references and results of studying of biochemical properties of strains of bacteria of *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis* received from the museum of MVE and VSE UGSH chair were allocated and carried to the above-named types.*