

УДК 579.69

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ВОДОРОДНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ НА БАКТЕРИОФАГИ *BACILLUS MYCOIDES*

Юсупова Р.З., Алексеенко В.С., магистранты, Сулейманова М.И., студент,
тел. 8(8422) 55-95-47, feokna@yandex.ru

Научный руководитель – доц. Феоктистова Н.А., проф. Васильев Д.А.
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, Ульяновск, Россия

Ключевые слова: *Bacillus mycoides*, бактериофаги, водородный показатель.

В работе представлены результаты исследований по изучению влияния водородного показателя среды культивирования на жизнедеятельность бактериофагов *Bacillus mycoides*. Установлено, что при изменении показателя pH в пределах 3,4-8,2 не происходит разрушения вирионов бактериофагов *Bacillus mycoides* серии УГСХА. Полученные данные позволяют использовать данные бактериофаги для деконтаминации продуктов питания с различными показателями pH.

Введение. Разработка фаговых биопрепаратов для деконтаминации пищевого сырья и готовых к употреблению продуктов питания, в том числе и рыбы – это актуальная тема для исследований. В настоящее время зафиксировано снижение в рационе россиян рыбы и рыбных продуктов, что связано с высокой стоимостью, в которую складываются и товарные потери, возникающие в следствие бактериальной порчи, в том числе и бактериями *Bacillus mycoides* [1]. Известно, что фаги обнаруживают значительную устойчивость при изменении pH среды. Известно, что фаги устойчивы в пределах pH от 5,0 до 8,0, а при низких температурах – от 4,0 до 9,0-10,0. Отмечено также, что разные фаги имеют различные пределы устойчивости к изменению pH среды, и поэтому чувствительность к pH должна устанавливаться для каждого фага [2].

Цель работы – изучение влияния водородного показателя на бактериофаги *Bacillus mycoides*.

Материалы и методика исследований. Бактериофаги, специфичные для *Bacillus mycoides*, выделены из проб почвы авторским коллективом по отработанным методикам [3-5]. Определение влияния водородного показателя (pH) на цикл развития бактериофагов проводилось на предварительно подготовленном МПБ, у которого был изменен показатель pH. Определение pH почвы проводили по ГОСТ 26423-85 «Методы определения удельной электрической проводимости, pH и плотного остатка водной вытяжки» [6]. В экспериментах использовали pH-метр ТМ «Рометр» PH-009(1). Протокол исследования:

1. В стерильный МПБ с pH 3,4 производили посев 18 ± 2 часовой индикаторной культуры и изучаемого бактериофага в объеме, заявленном для каждого бактериофага в таблице 1.

Таблица 1 – Подбор количественных соотношений выделенных фагов и индикаторных культур и технологические параметры их культивирования

№	название фага / индикаторная бактериальная культура	параметры культивирования		количественное соотношение бактериофага и 18±2 часовой индикаторной культуры (концентрация м. к. $\times 10^8$ (КОЕ/мл))
		временной интервал, ч	температурный режим, °C	
1	FBmyc-1 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> Н	7,0	36±1	0,3 мл / 0,2 мл
2	FBmyc-2 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 24	7,5	36±1	0,2 мл / 0,2 мл
3	FBmyc-3 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 537	8,0	36±1	0,2 мл / 0,2 мл
4	FBmyc-4 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 4	7,0	36±1	0,1 мл / 1,0 мл
5	FBmyc-5 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 537	7,5	36±1	0,2 мл / 0,2 мл
6	FBmyc-6 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 12	7,5	36±1	0,3 мл / 0,3 мл
7	FBmyc-7 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 537	7,0	36±1	0,2 мл / 0,2 мл
8	FBmyc-8 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 48	7,0	36±1	0,2 мл / 1,0 мл

- Аналогично производили посев в стерильный МПБ с заранее определенным рН среды и равным следующим значениям: 4,0; 4,4; 4,8; 5,5; 5,8; 6,4; 6,8; 7,4; 7,8; 8,2.
- Посевы культивировали в условиях термостата при температуре 36±1°C в течение временного интервала, заявленного для каждого бактериофага в таблице 1.
- Пассажи фага в МПБ с рН 3,4-8,2 проверяли на жизнеспособность на 1,5 % МПА методом Отто [4], нанося на газон индикаторной 18±2 часовой культуры. На чашку Петри с 1,5 % МПА наносили газон индикаторной культуры, которую подсушивали в условиях термостата в течение 30±5 минут. Далее маркером чашку Петри делили на два сектора – на первый наносили 1 каплю бактериофага, на другой – каплю стерильного МПБ.
- Посевы культивировали в условиях термостата при температуре (36±1)°C в течение 18±2 часов.
- Учет результатов осуществлялся с применением критериев оценки мето-

Таблица 2 – Изучение жизнеспособности бактериофагов *Bacillus mycoides* при различных показателях pH среды культивирования

Название бактериофага/ индикаторная культура	Значение водородного показателя среды культивирования										
	3,4	4,0	4,4	4,8	5,5	5,8	6,4	6,8	7,4	7,8	8,2
FBmyc-1 УГСХА/ <i>Bacillus mycoides</i> Н	+	+	+	+	++	++	++	+	+	+	+
FBmyc-2 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FBmyc-3 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 537	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FBmyc-4 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 4	+	+	+	+	++	++	++	+	+	+	+
FBmyc-5 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 537	+	+	+	+	++	++	++	+	+	+	+
FBmyc-6 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FBmyc-7 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 537	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FBmyc-8 УГСХА / <i>Bacillus mycoides</i> 48	+	+	+	+	++	++	++	+	+	+	+

Примечание: «+» - проявление жизнеспособности бактериофага в виде лизиса по ходу стекания капли на газоне культуры; «++» - проявление жизнеспособности бактериофага в лизиса по ходу стекания капли с появлением стерильных пятен на газоне культуры.

да Отто - «стекающая капля»: - отсутствие лизиса; + лизис по ходу стекания капли; ++ лизис по ходу стекания капли и наличие стерильных пятен; +++ наличие стерильного пятна и зон лизиса.

Полученные нами данные представлены в таблице 2.

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе эксперимента нами было установлено, что при изменении показателя pH в пределах 3,4-8,2 не происходит разрушения выделенных и селекционированных нами бактериофагов, которое, по литературным данным, начинается при pH от 10,0-11,5 с разрыва капсида фага и вытекания внутреннего содержимого головки во внешнюю среду [2].

Закключение. Установлено, что при изменении показателя pH в пределах 3,4-8,2 не происходит разрушения вирионов бактериофагов *Bacillus mycoides* серии УГСХА. Полученные данные позволяют использовать данные бактериофаги для конструирования универсального фагового биопрепарата для деконтаминации продуктов питания с различными показателями pH.

Библиографический список:

1. Бактериофаги зооантропонозных и фитопатогенных бактерий / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, И.Р. Насибуллин, Н.Г. Куклина, И.Г. Горшков, Н.А. Феоктистова и др. – Ульяновск, 2017. – 176 с.
2. Каттер, Э. Бактериофаги: биология и практическое применение / Э. Каттер, А. Сулаквелидзе; науч. ред. А.В. Летаров; [пер. с англ. Е. Е. Куликов и др.]. – Москва: Научный мир, 2012. – 636 с.
3. Протейные бактериофаги: выделение и селекция / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Е.В. Сульдина // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы IV научно-практической конференции с международным участием. – Нижний Новгород, 2018. – С.64.
4. Бактериофаги *Bacillus megaterium*: выделение и изучение некоторых биологических свойств / Н.А. Феоктистова, Е.В. Сульдина, А.В. Мастиленко, Д.А. Васильев К.В. Мартынова, В.С. Маланина, С.В. Аннюк // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы пути их решения: материалы IX международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2018. – С. 141-147.
5. Конструирование экспериментального биопрепарата на основе бактериофага Ars 25-УГСХА для проведения биопроцессинга / Д.А. Васильев, А.В. Алешкин, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, Н.Г. Куклина, П.С. Майоров, Е.В. Сульдина, К.В. Мартынова // Естественные и технические науки. – 2018. - № 2 (116). – С. 33-37.
6. Техэксперт. ГОСТ 26423-85 «Методы определения удельной электрической проводимости, pH и плотного остатка водной вытяжки» - URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200023484> (дата обращения 17.09.2018).

STUDYING OF INFLUENCE OF THE HYDROGEN INDICATOR ON *BACILLUS MYCOIDES* BACTERIOPHAGES

Yusupova R.Z., Alekseenko V.S., Suleymanova M.I.

Keywords: *Bacillus mycoides*, bacteriophages, hydrogen indicator.

*In work results of researches on studying of influence of a hydrogen indicator of the environment of cultivation on activity of bacteriophages of *Bacillus mycoides* are presented. It is established that at change of an indicator pH within 3,4-8,2 there is no destruction of vireos of bacteriophages of *Bacillus mycoides* of the UGSHA series. The obtained data allow to use these bacteriophages for a dekontamination of food with various indicators pH.*