

4. Starchenkov S.V. Bolezni melkikh zhivotnykh: diagnostika, lechenie, profilaktika. – SPb.: Lan, 1999. – 368 s.

5. Veselova N.Ya Diagnostika, terapiya i profilaktika piroplazmoza sobak: avtoref. ... kand. vet. nauk. – Tyumen, 2003. – 26 s.

6. Shevkoplyas V.N. Profilaktika gemosporidiazov i arbovirusnykh infektsiy v Krasnodarskom krae // Veterinariya. – 2006. – № 6. – S. 30-34.

7. Otranto D., Dantas-Torres F., Breitschwerdt E.B. Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part two // Trends Parasitol. – 2009. – Vol. 25 (5). – P. 228-235.

8. Lobetti R.G., Reyers F. Met-haemoglobinuria in naturally occurring Babesia canis infection // J. S. Afr. Vet. Assoc. – 1996. – Vol. 67 (2). – P. 88-90.



УДК 576.852.24

Т.Н. Орлова, А.Н. Иркитова, А.В. Гребенщикова
T.N. Orlova, A.N. Irkitova, A.V. Grebenshchikova

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ *BACILLUS SUBTILIS*

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *BACILLUS SUBTILIS*

Ключевые слова: микробный антагонизм, метод перпендикулярных штрихов, метод лунок, метод блоков, споровые пробиотики.

Важным звеном в решении проблемы здорового питания является интенсификация животноводства, птицеводства и рыбоводства, которая возможна только при принятии и неукоснительном исполнении концепции рационального кормления животных. При реализации данной концепции обязательным является применение пробиотических препаратов. В настоящее время наблюдается повышенный интерес к споровым пробиотикам. Во многом это можно объяснить тем, что в них используются не вегетативные формы бацилл, а их споры. Данное свойство обеспечивает споровым пробиотикам ряд преимуществ: они не прихотливы и практичны при выделении, изучении и сушке, устойчивы к различным факторам среды, могут длительное время сохранять жизнеспособность. Одним из самых известных споровых микроорганизмов, которые широко применяются в сельском хозяйстве, является *Bacillus subtilis*. Представлены результаты анализа антагонистической активности 14 штаммов *B.subtilis*.

Keywords: microbial antagonism, streak culture method, method of wells, method blocks, spore probiotics.

An important link in a solution of the problem of healthy food is the intensification of livestock production, poultry farming and fish breeding which is possible only at acceptance and strict execution of the concept of rational feeding of animals. At implementation of this concept, the use of probiotic products is obligatory. Now the keen interest in a sporous probiotics is observed. In many respects, it can be explained by the fact that these probiotics contain spores but not vegetative forms of bacilli. In this regard the sporous probiotics have some advantages: they are undemanding and practical at isolation, studying and drying; they are resistant against various factors of the environment and can be viable for a long time. One of the well-known sporous microorganisms which is widely applied in agriculture is *Bacillus subtilis*. The results of the analysis of antagonistic activity of 14 strains of *B. subtilis* are presented.

Орлова Татьяна Николаевна, аспирант, каф. частной зоотехнии, Алтайский государственный аграрный университет; м.н.с., Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, г. Барнаул. E-mail: tatiana_orlova_0992@mail.ru.

Иркитова Алёна Николаевна, к.б.н., доцент, каф. экологии, биохимии и биотехнологии, Алтайский государственный университет. E-mail: Elen171987@mail.ru.

Orlova Tatyana Nikolayevna, post-graduate student, Altai State Agricultural University; Junior Staff Scientist, Federal Altai Scientific Center of Agro-Biotechnologies, Barnaul. E-mail: tatiana_orlova_0992@mail.ru.

Irkitova Alena Nikolayevna, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Chair of Ecology, Biochemistry and Biotechnology, Altai State University. E-mail: Elen171987@mail.ru.

Гребенщикова Ангелина Владимировна, студент, Алтайский государственный университет. E-mail: gelishka96@mail.ru.

Grebenshchikova Angelina Vladimirovna, student, Altai State University. E-mail: gelishka96@mail.ru.

Введение

Важным звеном в решении проблемы здорового питания является интенсификация животноводства, птицеводства и рыбоводства, которая возможна только при принятии и неукоснительном исполнении концепции рационального кормления животных [1]. При реализации данной концепции обязательным является применение пробиотических препаратов.

Повышенный интерес к споровым пробиотикам, который отмечается в настоящее время, объясняется тем, что в них используются не вегетативные формы бацилл, а их споры [2]. Это свойство дает споровым препаратам, по сравнению с препаратами на основе вегетативных клеток, целый ряд преимуществ: устойчивость к действию желудочного сока и желчи, устойчивость к высоким и низким температурам, сохранение жизнеспособности длительное время. Кроме того, споровые пробиотики не требуют лиофильного высушивания и дорогих стерильных упаковок. Все это удешевляет производство препаратов на основе споровых бактерий и, соответственно, повышает экономическую эффективность предприятия-изготовителя. Важным биологическим свойством этих бактерий является то, что спорообразующие бактерии обладают способностью разлагать структурные белковые соединения до аммиака, что стало одной из основных физиологических характеристик этой группы бактерий. По мнению некоторых авторов, именно таким образом бациллы проявляют антагонистическую активность ко многим патогенным и условно-патогенным микроорганизмам [3, 4]. Способность спорообразующих бактерий оказывать пробиотическое действие привела к разработкам на их основе препаратов, отнесенных к поколению так называемых «самоэлюминирующихся антагонистов». В итоге на сегодняшний день в мире создано более полусотни таких препаратов, кото-

рые полностью или частично составлены на основе споровых бактерий.

Среди споровых пробиотических бактерий наиболее часто применяют представителей рода *Bacillus*, в частности *B. subtilis*. У бактерий рода *Bacillus* описано более 200 продуцируемых ими веществ, которые проявляют разнообразную антимикробную активность [5-7].

Цель работы – оценить антагонистическую активность коммерческих и коллекционных штаммов *B. subtilis* по отношению к *Escherichia coli*.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования являются 5 штаммов *B. subtilis* из коллекции ВКПМ (Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов) и 9 штаммов, выделенных нами из коммерческих препаратов. В качестве тест-культуры использовали штамм *E. coli*, выделенный из подстилки сельскохозяйственного помещения.

Идентификацию культур спороносных бактерий проводили путем посева исследуемого материала на жидкие и твердые питательные среды. Пробы с *B. subtilis* в жидких питательных средах инкубируют в шейкер-инкубаторе «Innova 44» при вращении со скоростью 250 оборотов в минуту (эксцентриситет 5 см), температуре 37°C в течение 24 ч. Пробы с *B. subtilis* на твердых питательных средах инкубируют в термостате «BinderBD 115» при 37°C в течение 24 ч. Антагонистическую активность в отношении *E. coli* проверяли следующими диффузионными методами: перпендикулярных штрихов, лунок и блоков [8].

Результаты исследования и обсуждение

Согласно полученным результатам лишь некоторые штаммы *B. subtilis* проявили антагонистическую активность в отношении «дикого» штамма *E. coli*: штамм, выделенный из Биопрепарата «Удачный», «Энзимспорин» (26Д), В-1323 и В-2895 (табл.).

Антагонистическая активность *B. subtilis* в отношении *E. coli* при применении диффузионных методов

№ штамма	Зона угнетения роста, мм (M±m)						
	метод перпендикулярных штрихов	метод лунок			метод блоков		
		сроки культивирования, сут.					
		1	2	5	1	2	5
1	0	0	1,7±0,33	1,7±0,33	0	0	0
11	0	0	0	0	0	1,5±0,29	1,5±0,29
8	0	0	1,83±0,17	3,83±0,17	0	0	0
12	1,5±0,5	0	3,7±0,33	6,7±0,88	0	4,3±0,33	4,3±0,33
Остальные штаммы	0	0	0	0	0	0	0

Слабый антагонистический эффект исследованных штаммов, выделенных из коммерческих препаратов, можно объяснить рядом причин. В готовых препаратах бактерии *B. subtilis* содержатся в консорциуме с другими микроорганизмами, а также действуют в комплексе с различными ферментами и другими биологически активными веществами. При выделении одного из штаммов *B. subtilis* из препарата он перестает проявлять совсем или понижает антагонистическую активность.

Низкую активность коллекционных штаммов *B. subtilis* можно объяснить тем, что они были выделены давно (7-10 лет назад) и в «лабораторных условиях» утратили свою антагонистическую эффективность. Еще одним объяснением может быть то, что исследуемые штаммы *B. subtilis* не продуцируют антибактериальные соединения, обладающие бактерицидным или бактериостатическим действием в отношении грамотрицательных бактерий. Кроме того, следует отметить, что *E.coli* мы выделили из естественных агрессивных условий среды – из подстилки сельскохозяйственного комплекса. Вполне возможно, что эти же штаммы *B. subtilis* к лабораторным, «окультуренным штаммам» *E. coli* проявят более угнетающий эффект.

Другими исследователями в этой области описано, что наблюдающиеся различия в оценке ан-

тагонистической активности бактериальных штаммов могут быть связаны с их разным географическим происхождением [9].

Отметим также, что диффузионные методы дают преимущество штаммам, продуцируемым ингибиторные соединения небольшой молекулярной массы, которые быстрее диффундируют в толще агарового слоя и, следовательно, дают более обширные зоны ингибирования роста тест-культуры. При сравнении использованных методов определения антагонистической активности *B. subtilis* между собой (перпендикулярных штрихов, лунок, блоков) следует отметить, что в методе лунок был зафиксирован самый лучший результат (рис.). Это можно объяснить тем, что в данном случае культура *B. subtilis* инкубировалась в жидком L-бульоне, в котором могли накапливаться ингибиторные соединения как высокомолекулярные, так и низкомолекулярные.

В целом, штаммы проявили разную степень антагонистической активности.

Антагонизм штамма В-2895 был зафиксирован во всех опытах, в отличие от трех других штаммов, вовсе не проявивших антагонистического действия в ряде методов. Следовательно, штамм В-2895 можно рекомендовать для широкого применения и разработки препаратов сельскохозяйственного назначения.

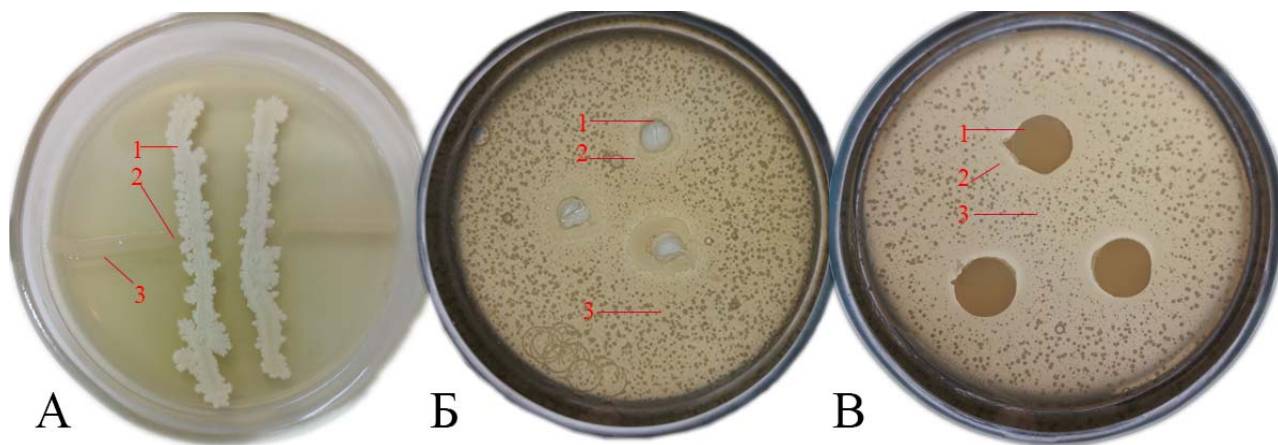


Рис. Антагонистическая активность *B. subtilis* (B-2895) в отношении *E. coli*:
А – метод перпендикулярных штрихов, Б – метод лунок, В – метод блоков;
1 – штамм-антагонист, 2 – зона ингибирования, 3 – тест-культура

Библиографический список

1. Чижаева А.В., Дудикова Г.Н. Научный обзор: теоретические и практические аспекты конструирования пробиотических препаратов // Научное обозрение. Биологические науки. – 2017. – № 2. – С. 157-166.

2. Лазовская А.Л., Воробьева З.Г., Слинина К.Н., Кульчицкая М.А. Споровые пробиотики в сельском хозяйстве // Успехи современной биологии. – 2013. – Т. 133. – № 12. – С. 133-140.

3. Бережной В.В., Корнева В.В. Возможности и перспективы использования отечественного пробиотика на основе спорообразующих бактерий в педиатрической практике // Современная педиатрия. – 2015. – № 7 (71). – С. 43-50.

4. Скрыпник И.Н., Маслова А.С. Эффективность и безопасность современных спорообразующих пробиотиков при лечении нарушений микробиоценоза кишечника // Здоров'я України, 2013. – № 22 (323). – С. 28-30.

5. Савустьяненко А.В. Механизмы действия пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* // Актуальная инфектология, 2016. – № 2. – С. 35-44.

6. Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins // Pharmaceuticals (Basel). – 2014. – Vol. 7 (5). – P. 545-594.

7. Sumi C.D., Yang B.W., Yeo I.C., Hahn Y.T. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics // Can. J. Microbiol. – 2015. – Vol. 61 (2). – P. 93-103.

8. Иркитова А.Н., Каган Я.Р. Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий // Известия Алтайского государственного университета, 2012. – № 3. – С. 41-44.

9. Beric T., Kojic M., Stancovic S., Topisirovic L., et al. Antimicrobial activity of *Bacillus* ssp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria // Food Technol. Biotechnol. – 2012. – Vol. 50. – P. 25-31.

References

1. Chizhaeva A.V., Dudikova G.N. Nauchnyy obzor: teoreticheskie i prakticheskie aspekty konstruirovaniya probioticheskikh preparatov // Nauchnoe obozrenie. Biologicheskie nauki. – 2017. – № 2. – S. 157-166.

2. Lazovskaya A.L., Vorobeva Z.G., Slinina K.N., Kulchitskaya M.A. Sporovye probiotiki v selskom khozyaystve // Uspekhi sovremennoy biologii. – 2013. – T. 133. – № 12. – S. 133-140.

3. Berezhnoy V.V., Korneva V.V. Vozmozhnosti i perspektivy ispolzovaniya otechestvennogo probiotika na osnove sporoobrazuyushchikh bakteriy v pediatricheskoy praktike // Sovremennaya pediatriya. – 2015. – № 7 (71). – S. 43-50.

4. Skrypnik I.N., Maslova A.S. Effektivnost i bezopasnost sovremennykh sporoobrazuyushchikh probiotikov pri lechenii narusheniy mikrobiotsenoza kishechnika // *Zdroyva Ukraini.* – 2013. – № 22 (323). – S. 28-30.

5. Savustyanenko A.V. Mekhanizmy deystviya probiotikov na osnove *Bacillus subtilis* // *Aktualnaya infektologiya.* – 2016. – № 2. – S. 35-44.

6. Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins // *Pharmaceuticals (Basel).* – 2014. – Vol. 7 (5). – P. 545-594.

7. Sumi C.D., Yang B.W., Yeo I.C., Hahm Y.T. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new

era for antibiotics // *Can. J. Microbiol.* – 2015. – Vol. 61 (2). – P. 93-103.

8. Irkitova A.N., Kagan Ya.R. Sravnitelnyy analiz metodov opredeleniya antagonisticheskoy aktivnosti molochnokislykh bakteriy // *Izvestiya Altayskogo gosudarstvennogo universiteta.* – 2012. – № 3. – S. 41-44.

9. Beric T., Kojic M., Stancovic S., Topisirovic L., et al. Antimicrobial activity of *Bacillus* ssp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria // *Food Technol. Biotechnol.* – 2012. – Vol. 50. – P. 25-31.



УДК 619:595.7:639

А.И. Бахтушкина
A.I. Bakhtushkina

ЗАРАЖЕННОСТЬ МАРАЛОВ РЕСПУБЛИКИ АЛТАЙ ЛИЧИНКАМИ ОВОДОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

CONTAMINATION OF CERVUS ELAPHUS IN THE REPUBLIC OF ALTAI BY GAD-FLY LARVAE DEPENDING ON ABIOTIC AND BIOTIC FACTORS

Ключевые слова: марал, личинки оводов, зараженность, биотические факторы, абиотические факторы, упитанность, локализация.

Keywords: maral (*Cervus elaphus sibiricus* Sev.), larvae of gadflies, contamination, biotic factors, abiotic factors, fatness, localization.

Проведено изучение влияния абиотических и биотических факторов на зараженность маралов личинками носоглоточного и подкожного оводов. Исследования выполнены в мараловодческих хозяйствах Республики Алтай. Установлено, что молодняк в возрасте до 2 лет и маралухи старшего возраста инвазированы в наивысшей степени личинками *Ph. picta* – ЭИ 59,3-77,6% и личинками *H. diana* – ЭИ 13,3-70% и при ИО – 9,5-9,3 и 1,7-15,9 соответственно. В меньшей степени личинками *Ph. picta* заражены рогачи и маралухи в возрасте 5-8 лет. Так, ЭИ *Ph. picta* у рогачей составила 11,1% при ИО – 6,1 и у маралух – 30,4% и 5,4 личинок соответственно. Чем ниже упитанность маралов, тем выше их заражённость личинками овода. Показатель корреляционной зависимости между упитанностью и зараженностью соответствует 0,86 с ИО – 0,94. Так, у категории тощих животных показатель ЭИ выше на 33,2% и ИО – на 14,1 личинки, чем у животных категории средней упитанности.

The influence of abiotic and biotic factors on contamination of *Cervus elaphus* by larvae of *Pharyngomyia picta* Meig. and *Hypoderma Diana* Br. was studied. The studies were carried out on maral farms of the Republic of Altai. It was found that young animals (under 2 years old) and maral females of older age were infested to the utmost by larvae *Ph. picta* (invasion extensity of 59.3-77.6%) and larvae of *H. Diana* (invasion extensity of 13.3-70%); the abundance factor of 9.5-9.3 and 1.7-15.9, respectively. Stags and females at the age of 5-8 years were infected to a lesser extent by larvae *Ph. picta*. The invasion extensity by *Ph. picta* in stags made 11.1% (abundance factor of 6.1) and in females - 30.4% and 5.4 larvae respectively. The lesser fatness of marals, the higher their contamination by gadfly larvae was. The indicator of correlation dependence between fatness and contamination corresponds to 0.86 with abundance factor of 0.94. In lean animals the invasion extensity was by 33.2% higher with greater abundance by 14.1 larvae than those values in the animal of medium fatness.