

ВЫЯВЛЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ *BACILLUS SUBTILLIS* ПО ОТНОШЕНИЮ К ПАТОГЕННЫМ МИКРОМИЦЕТАМ

*Зон Г.А.,**Аранчий С.В.,**Кинаш О.В.

* Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина,

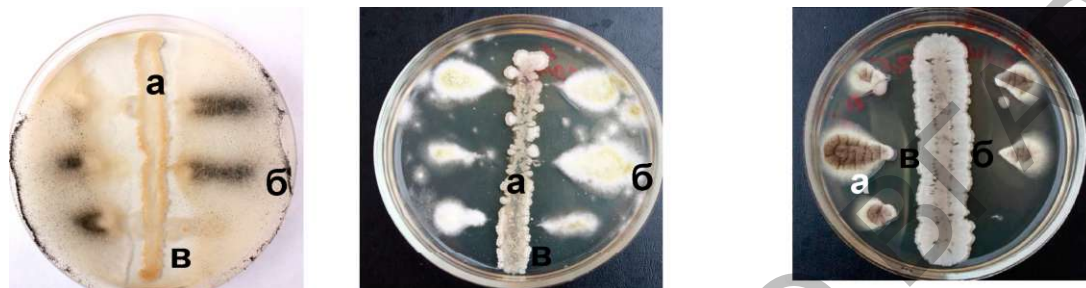
** Полтавская государственная аграрная академия,
г. Полтава, Украина

Введение. В последнее время в ветеринарии значительно возрос интерес к применению препаратов на основе живых культур *Bacillus subtilis*. Их используют не только для обработки помещений, а также доильных установок, вымени коров [1, 5], инкубационных яиц, но и для формирования нормального микробиоценоза у цыплят [6]. Сообщается, что после обработки стационара для животных препаратом PIP AHS количество спор плесневых грибов в воздухе сократилось на 76% [5]. Однако, в литературе отсутствуют данные об антагонистической активности *Bacillus subtilis* по отношению к патогенным плесневым грибам. В связи с этим целью нашей работы было определение антагонистических свойств *Bacillus subtilis* по отношению к грибам *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus fumigatus* и *Aspergillus niger* - возбудителям мукормикоза и аспергиллёза птицы.

Материалы и методы исследований. Использовали агар Сабу-ро, предварительно исследовали характер роста *Bacillus spp.* на этой среде, поскольку она применяется для культивирования грибов. В качестве тест-культур были выбраны полевые штаммы грибов *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus fumigatus* и *Aspergillus niger*. Готовили суспензию спор грибов концентрации 10^6 КОЕ/мл по стандартной методике [3]. В качестве культуры пробиотических микроорганизмов использовали препарат PIP AHS (споровая форма пробиотических бактерий рода *Bacillus*) в концентрации 10^5 КОЕ/мл (Chrisal, Бельгия). При высеве на питательную среду полученная культура была идентифицирована как *Bacillus subtilis*. Исследование антагонистической активности бацилл по отношению к плесневым грибам проводили методом совместного культивирования на плотной питательной среде (метод капель в модификации Н.А. Глушановой и соавт.) [2] и методом отсроченного культивирования (метод штрихов) [4]. При исследовании с применением капельной методики выполняли одновременный посев *Bacillus subtilis* и тест-культур на чашки Петри с агаром Сабу-ро и инкубировали 48 часов при температуре 25-26°C. Задержку роста одной из культур либо рост одной культуры поверх другой расценивают как явление антагонизма, слияние колоний микроорганизмов в зоне их совместного культивирования - как отсутствие антагонизма. При методе штрихов вначале проводили посев *Bacillus subtilis* и инкубировали 24 часа при 37°C, затем подсевали тест-культуры грибов и инкубировали при 25-26°C 48 часов до появления характерного роста гриба. Задержку роста микромицета более чем на 5 мм расценивали как признак антагонистической активности *Bacillus subtilis*. Полное слияние колоний или усиление роста грибов в зоне совместного культивирова-

ния интерпретировали как отсутствие антагонистических свойств *Bacillus subtilis* [2]. Данные обрабатывали статистически с вычислением среднего арифметического (M) и стандартного отклонения ($\pm m$) в программе Microsoft Excel.

Результаты исследований. По результатам исследований методом отсроченного культивирования были получены разноречивые результаты (рисунок 1): пробиотические бактерии проявили высокую антагонистическую активность в отношении гриба *Aspergillus niger* и несколько меньшую - в отношении *Mucor ramosissimus* и *Aspergillus fumigatus* (таблица 1).



Mucor ramosissimus

Aspergillus fumigatus

Aspergillus niger

а - зона ингибирования роста гриба; б - рост тест-культуры микромицета;
в - рост штамма антагониста *Bacillus subtilis*

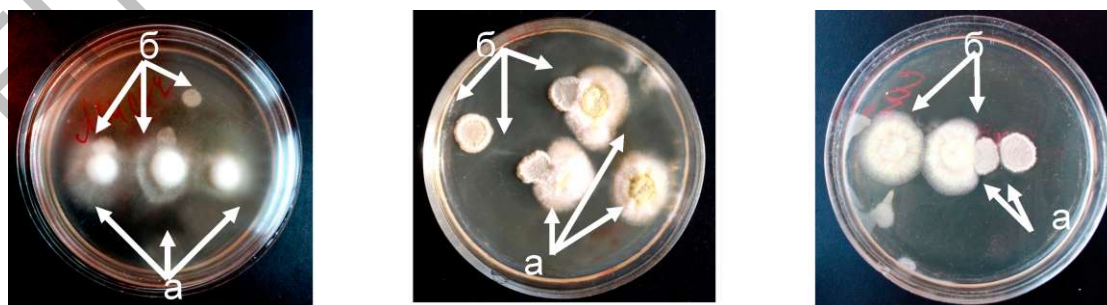
Рисунок 1 - Определение антагонистической активности *Bacillus subtilis* методом перпендикулярных штрихов (48 часов совместной инкубации)

Таблица 1 - Результаты определения антагонистической активности *Bacillus subtilis* методом перпендикулярных штрихов

Величины зоны ингибирования после 48 часов совместной инкубации (расстояние от колонии гриба до колонии <i>Bacillus subtilis</i>), мм (M \pm m, n=6)					
<i>Mucor ramosissimus</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>	
M \pm m	Lim*	M \pm m	Lim*	M \pm m	Lim*
5,7 \pm 3,0	3-11	9,2 \pm 1,6	11-7	5,8 \pm 2,3	4-10

*Lim - значение нижнего и верхнего предела последовательности

Однако, при совместном культивировании не выявлено антагонистических свойств *Bacillus subtilis* по отношению к плесневым грибам. В то же время установлено, что все тест-культуры грибов частично подавляли рост пробиотических бактерий (рисунок 2).



Mucor ramosissimus

Aspergillus fumigatus

Aspergillus niger

а - колонии исследуемых культур грибов; б - колонии *Bacillus subtilis*

Рисунок 2 - Определение антагонистической активности *Bacillus subtilis* по отношению к микромицетам (48 часов инкубации)

Заключение. В опытах с использованием метода перпендикулярных штрихов зоны ингибирования роста тест-культур составляли: для *Mucor ramosissimus* - от 3 до 7 мм, для *Aspergillus niger* - от 11 до 7 мм, для *Aspergillus fumigatus* - от 4 до 10 мм. При одновременном культивировании (метод капель) бактерии *Bacillus subtilis* не проявляли антагонистических свойств в отношении тест-культур. Такие результаты можно объяснить антагонистической активностью не собственно самих бактерий, а продуктов их метаболизма - антибиотиков или ферментов, которые накапливались в питательной среде и служили причиной задержки роста грибов. Исследования свидетельствуют о том, что препараты, содержащие *Bacillus subtilis*, можно применить для обработки животноводческих помещений, инкубаториев, инкубационных яиц и т.д. с целью их деконтаминации от грибов родов *Aspergillus* и *Mucor*.

Литература. 1. Барашкин, М. И. Эффективность комплексного применения средств на основе пробиотических бактерий в профилактике маститов и повышении качества молока / М. И. Барашкин // Ветеринария Кубани. - 2012. - № 6. - С. 24-25. 2. Исследование ауто-, изо- и гомоантагонизма пробиотических штаммов лактобацилл. / Н. А. Глушанова [и др.]. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2005. - №6. - С. 138-142. 3. Методы экспериментальной микологии : справочник / И. А. Дудка, С. П. Вассер, И. А. Элланская [и др.]; Под ред. В. И. Билая. - К. : Наук. думка, 1982. - 551 с. 4. Поиск перспективных штаммов бифидобактерий и лактобацилл для разработки новых биопрепаратов / Е. А. Постникова, Б. А. Ефимов, Н. Н. Володин, Л. И. Кафарская. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - 2004. - №2. - С. 64-69. 5. Савина, И. В. Влияние препарата РІР АНS на микрофлору животноводческих помещений / И. В. Савина, М. С. Сеитов. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2013. - С. 95-98. 6. Степанова, А. М. Применение пробиотика из штаммов бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 и *Bacillus subtilis* ТНП-5 в птицеводстве : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. вет. наук: 06.02.02. / А. М. Степанова. - Якутск, 2011. - 19 с.

УДК 619:616.993.192.1:576.895.131:636.934.23-57

КИШЕЧНЫЕ ПАРАЗИТОЗЫ БЛЮФРОСТОВ

Зыбина О.Ю., Герасимчик В.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Введение. Блюфрост (лисопёс) - это гибрид серебристо-черной лисицы (чернобурки) и серебристого песца. Впервые данных гибридов получили в 40-х годах XX века, когда в клеточных условиях были скрещены лисица и песец. Этот опыт был довольно удачным, потому что показал: есть реальная возможность получить необычный, красивый, ценный мех, получая потомство от различающихся животных. Мех данного зверька окрашен в два цвета, темный у основания и