

ЛІТЕРАТУРА

1. Буцацький Л.П. // Наукові записки КНУ Біологія. — 2004. — Т. 11. — С. 58–65.
2. Буцацький Л.П. // Ветеринарна медицина України. — 2000. — № 11. С. 14–15.
3. Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте: Метод. руководство. — К., 1989. — 184 с.
4. Thomas L. Alkalische Phosphatase // Thomas L (Editor) Labor und Diagnose, Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, Stud.-Edit. der Aufl. — 1995. — P. 50.
5. Голубев Д.Б., Шлянкевич М.А. Современные аспекты вирусной теории происхождения злокачественных новообразований. — М.: Медицина, 1972. — 189 с.
6. Шапот В.С. Биохимические аспекты опухолевого роста. М.: Медицина, 1975. — 304 с.

АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ ГОМОГЕНАТА ТКАНЕЙ ЩУК В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ЛИМФОСАРКОМАТОЗА

О.В. Ногарев Л.І. Гавриш Л.П. Буцацький

Установлено, что под влиянием лимфосаркоматоза в печени и селезенке щук значительно возрастает активность лактатдегидрогеназы и щелочной фосфатазы.

ACTIVITY OF LACTATDEHYDROGENASE AND ALKALINE PHOSPHATASE OF TISSUE HOMOGENATE IN PIKES SUBJECTED TO THE LYMPHOSARCOMATOSE

O. Nogarev, L. Gavrish, L. Buchacky

It was shown that under influencing of limphosarcomatose the activity of lactatdehydrogenase and alkaline phosphatase in liver and spleen of pikes is considerably increased.

УДК 578.894

МЕТОДИ ВИДІЛЕННЯ ФАГІВ *PSEUDOMONAS* ВІД РИБ РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ

А.В. Ващенко¹, Н.Є. Харкавлюк²

¹Інститут рибного господарства УААН, м. Київ,

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Представлено результати виділення та накопичення бактеріофагів зі штамів мікроорганізмів, виділених у лабораторії іхтіопатології УААН від різних видів риб з ознаками захворювання та з навколишнього середовища. Дослідження їх властивостей та підбір лізогенних мутацій проводили з метою їх використання як біологічного методу для боротьби з бактеріальними хворобами прісноводних риб.

Інфекційні хвороби риб досить часто зустрічаються в усіх типах рибних господарств нашої країни і завдають істотних економічних збитків. Серед них значне місце займають бактеріальні хвороби: аеромоноз (краснуха) і псевдомонози коропових риб.

Тому актуальним питанням сьогодення є пошук нових, екологічно безпечних препаратів, ефективних при інфекційних хворобах риб. Одним з методів боротьби із інфекційними захворюваннями є за-

стосування бактеріофагів, які широко розповсюджені в природі і є важливими агентами регулювання чисельності бактеріальної мікрофлори. Бактеріофаги є паразитами майже всіх груп прокариотичних організмів від найдрібніших *Bdellovibrios*, які і самі є паразитами, до деяких синьо-зелених водоростей. Антибактеріальний механізм дії препаратів бактеріофагів зумовлений специфічним лізисом патогенних бактерій в осередку запалення. Фаги вже досить тривалий

час використовують, як у медицині, так і ветеринарії. Для лікування інфекційних процесів застосовують і нелізогенізуючі, і мутовані лізогенізуючі (помірні) фаги. У зрілих фагових частин частота мутацій дуже низька, але їх можна індукувати, діючи на фаг певним мутагенними факторами, наприклад, рентгенівськими або ультрафіолетовими променнями, азотистою кислотою, гідроксиламіном або алкіліруючими агентами.

Тому, актуальним питанням є розробка на основі використання бактеріофагів екологічно безпечних методів для профілактики і лікування бактеріальних хвороб риб.

Метою нашої роботи було виділити та накопичити бактеріофаги зі штамів мікроорганізмів, що були виділені в лабораторії іхтіопатології УААН від різних видів риб з ознаками захворювання та з навколишнього середовища.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для роботи використовували виділені від здорової та хворої риби ізоляти культур мікроорганізмів у логарифмічній фазі росту. Для досліджень брали штами, які проявили високу ДНК-активність.

Мікробіологічні дослідження проводили в декілька етапів:

- первинний посів матеріалу на триптозо-соевому агарі (TSA), який інкубували в термостаті за температури 26°C протягом 24 год;
- отримання чистих культур мікроорганізмів шляхом розсіву на TSA. Вивчення їх морфологічних властивостей [1];
- визначення ДНК-активності виділених штамів на ДНК-агарі. [3]

Ізолят фагу отримували методом прямого виділення від риб, хворих на псевдомоноз, з води, а також шляхом методу активації фагів ультрафіолетовим опромінюванням.

Для виявлення УФ-індікованих фагів мікрофлору із пробірки з бульйоном пересівали на 1,5%-й поживний агар. Використовували бактерійні клітини після інкубації в термостаті. Для індукації лізогенних клітин у пластикову чашку Петрі вносили 5 мл поживного бульйону та мікробну масу з поживного агару. Чашку накривали верхньою пластиковою

кришкою, інкубували 2 години під джерелом ультрафіолетового опромінення (лампю). Після чого в чорному папері для запобігання фотореактивації, чашку переносили в термостат на 18 год. Через вказаний час бульйон обробляли хлороформом і висівали двошаровим методом із відповідними індикаторними культурами на чашки з поживним агаром [6].

Титрування фагу проводили методом агарових шарів, який базується на підрахунку негативних колоній розведених суспензій фага, проводили за Грація [2, 4, 5].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для роботи використовували штами мікроорганізмів, які були виділені від різних видів риб, а також з води. Риба була відловлена в різних регіонах України. Штами мікроорганізмів брали з поверхні та органів від риб з ознаками захворювання. Штами, які використовували у роботі, і місця їх виділення наведено в таблиці.

Властивості виділених ізолятів були досліджені в лабораторії, для встановлення їх патогенності. Для виділення були використані бактеріальні ізоляти, що мали високу ДНК-активність.

При обробці було використано 59 ізолятів мікроорганізмів.

Нами виділені та накопичені бактеріофаги, взяті від ізолятів 0638, 0639, 0641. Культивування бактеріофагу проводили в напіврідкому агарі на одноступінчій бактеріальній культурі. Ці ізоляти ідентифіковані як *Pseudomonas sp.* Ідентифікацію проводили шляхом висіву на різні поживні середовища та постановки якісних реакцій.

Провели накопичення та очистку виділених фагів. Досліджували активність бактеріофагів та встановили їх титр. Титр виділених фагів становив відповідно $7,4 \cdot 10^6$, $8,3 \cdot 10^6$, $7,8 \cdot 10^6$ БУО/мл.

ВИСНОВКИ

У результаті виконаних робіт виділено 3 штами бактеріофагів від бактерій, взятих від коропів, що були виловлені в Львівській області й ідентифіковані нами як *Pseudomonas sp.*, титр фагів становив $7,4 \cdot 10^6$, $8,3 \cdot 10^6$, $7,8 \cdot 10^6$ БУО/мл.

Бактеріофаги зі штамів мікроорганізмів від риб та з навколишнього середовища

Місце виділення, область	Вид риби, з якої виділений штам	Культура ДНК-позитивних бактерій та її штам	Метод виділення
Львівська	Щука	0422	Пряме виділення/Уф-індукція
		0429/1	Пряме виділення/Уф-індукція
	Форель	0433	Уф-індукція
	Короп	0638	Пряме виділення/Уф-індукція
		0639	Пряме виділення/Уф-індукція
		0640	Пряме виділення/Уф-індукція
		0641	Пряме виділення/Уф-індукція
		0642	Пряме виділення/Уф-індукція
		0643	Пряме виділення/Уф-індукція
		0720	Уф-індукція
		0720/1	Уф-індукція
		0721	Уф-індукція
		0722	Уф-індукція
		07125	Пряме виділення/Уф-індукція
		07126	Пряме виділення/Уф-індукція
		07130	Пряме виділення/Уф-індукція
07131	Пряме виділення/Уф-індукція		
07132	Пряме виділення/Уф-індукція		
Київська	Короп	0513	Пряме виділення
		0514	Уф-індукція
		0517	Уф-індукція
		0518	Уф-індукція
		0526	Пряме виділення
		0723	Пряме виділення
		0724	Пряме виділення
		0725	Пряме виділення
	0726	Пряме виділення	
	Карась	0527	Пряме виділення
Товстолоб	0637	Пряме виділення	
Сумська	Короп	0613	Уф-індукція
		0615	Уф-індукція
		0616	Уф-індукція
Чернігівська	Короп	0652	Уф-індукція
		0655	Уф-індукція
		0656	Уф-індукція
	Товстолоб	0610	Уф-індукція
	Вода	0653	Уф-індукція
Черкаська	Сом	0520	Пряме виділення/Уф-індукція
		0521	Пряме виділення/Уф-індукція
Полтавська	Товстолоб	0648	Уф-індукція
		0649	Уф-індукція
		0651	Уф-індукція
	Білий амур	0646	Уф-індукція

Місце виділення, область	Вид риби, з якої виділений штам	Культура ДНК-позитивних бактерій та її штам	Метод виділення
Закарпаття	Лосось	0620	Уф-індукція
		0622	Уф-індукція
		0661	Уф-індукція
	Форель	0752	Уф-індукція
		0753	Уф-індукція
		0755	Уф-індукція
Дніпропетровська	Сом	0663	Пряме виділення/Уф-індукція
		0664	Пряме виділення/Уф-індукція
		0665	Пряме виділення/Уф-індукція
		0666	Пряме виділення/Уф-індукція
		0667	Пряме виділення/Уф-індукція
		0668	Пряме виділення/Уф-індукція
		0707	Уф-індукція
		0709	Уф-індукція
Одеська	Лосось	0705	Уф-індукція
		0706	Уф-індукція

ЛІТЕРАТУРА

1. Антипчук А.Ф. Микробиология рыбоводных прудов. — М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. — 144 с.
2. Атабеков И.Г. Практикум по общей вирусологии. — Москва, — 1981. С. 26–41
3. Вовк Н.И., Руденко А.В. Микрофлора рыб как индикатор их физиологического состояния и экологии водной среды // Тез. докл. междуна. конф. “Пресноводная аквакультура в условиях антропог. пресса”. — К., 1994. — Ч. 2. — С. 179–180.
4. Основы бактериофагии / Под общ. ред. И.М. Габрилович. — Изд. 2-е. — Минск: Высшая школа, 1973. — 221с.
5. Ревенко І.П. Бактеріофаги, їх значення та практичне використання. — К., 1968. — С. 67.
6. Семчук Л.І., Ігнатенко Т.А., Андрійчук О.М., Ромашев С.А., Яцковська Л.І. До питання про адаптацію та виживання фагів в природі // Вісник КНУ. — Сер. Біол. — 2002, № 38. — С. 54–56

МЕТОДИ ВИДІЛЕННЯ ФАГІВ *PSEUDOMONAS* ВІД РИБ РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ

А.В. Ващенко, Н.Є. Харкавлюк

В работе представлены результаты выделения и накопления бактериофагов из штаммов микроорганизмов, которые были выделены в лаборатории ихтиопатологии УААН от разных видов рыб с признаками заболевания и из навколишнього среды. Исследование их свойств и подбор лизогенних мутацій с целью их использования как биологического метода, для борьбы бактериальними болезнями пресноводных рыб.

METHODS OF SELECTION FAGIV *PSEUDOMONAS* ARE FROM FISHES OF DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE

A. Vaschenko, N. Harkavlyk

In work the results of selection and accumulation of bakteriofagiv are presented from the cultures of microorganisms which were selected in the laboratory of ikhtiopatologii of UAAN from the different types of fishes with the signs of disease and from a navkolishn'go environment. Research of their properties and selection of lizogennikh mutations with the purpose of their use as a biological method, for the fight of freshwater fishes bacterial illnesses.