

чали время удвоения численности бактерий, скорость потребления кислорода естественным сообществом водных бактерий в расчете на одну клетку, продукцию их биомассы.

Определение времени удвоения численности бактерий проводилось на семи пунктах реки, оно менялось от 19 (ст. 6) до 239 ч (ст. 26) и в среднем составило 38 часов (табл. 2).

При расчете средней величины значение 239 ч не было учтено, однако очевидно, что эта величина не является ошибочной. На ст. 2а (3 км ниже спуска стоков г. Гродно) снижалась численность микроорганизмов. Для этой станции характерны также самые низкие значения суточной бактериальной продукции, P/B -коэффициента и коэффициента K_2 (табл. 2); видимо, сброс сточных вод г. Гродно, в том числе стоков крупного азотнотукового комбината, резко снижал биологическую активность бактериопланктона.

Суточная бактериальная продукция составляла 0,12—1,14 мг/л, в среднем 0,44 мг/л. Значение P/B -коэффициента 0,06—0,86 (среднее 0,40) (см. табл. 2).

Скорость потребления кислорода бактериальной клеткой при суточной экспозиции опыта в среднем составила $0,19 \pm 0,007 \cdot 10^{-9}$ мг O_2 /сут [8]. Эффективность использования бактериями ассимилированной энергии на рост (коэффициент K_2) рассчитывали на основании экспериментально определенной интенсивности дыхания клетки водных бактерий в воде реки. Для пункта, расположенного выше г. Гродно, $K_2 = 32\%$, на всех станциях, расположенных ниже города значения этого коэффициента были чрезвычайно низки: от 3 до 27 % (см. табл. 2).

Таким образом, данные, характеризующие бактериопланктон р. Неман, дают возможность судить об интенсивности процессов загрязнения водоема.

ЛИТЕРАТУРА

1. Разумов А. С. Методы микробиологических исследований воды.— М., 1947.
2. Троицкий А. С., Сорокин Ю. И.— Труды Ин-та биол. внутр. вод. Л., 1967, вып. 15(18), с. 85.
3. Иванов М. В.— Микробиология, 1955, вып. 24(1), с. 79.
4. Overbeck J., Babenzien H. D.— Z. Allg. Microbiol., 1964, № 4, S. 59.
5. Overbeck J.— Mitt. Max-Planck-Ges., 1968 a, № 3, S. 165.
6. Overbeck J.— Limnol., 1968 b, № 14, S. 134.
7. Станцюкене Ж., Айдуконене Б., Печюлене О.— В сб.: Биол. исслед. на внутр. водоемах Прибалтики. Минск, 1973, с. 61.
8. Инкина Г. А.— В кн.: Экспериментальные и полевые исследования биологических основ продуктивности озер. Л., 1979, с. 103.

Поступила в редакцию
11.03.80.

Отдел гидробиологии Проблемной НИЛ
экспериментальной биологии

УДК 576.8.095.7

ЧАН ТХИ СЫОНГ, Ю. К. ФОМИЧЕВ

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ФАГОВ И БАКТЕРИЙ-ХОЗЯЕВ К ПОВРЕЖДАЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ ОЗОНА

Бактериальные клетки и их вирусы являются удобными объектами для выяснения механизмов повреждающего действия различных агентов химической и физической природы, в том числе и такого фактора, как озон. Особый интерес представляют бактериофаги, которые в свободном состоянии могут рассматриваться в качестве «покоящейся» нуклеопротеидной структуры. Каждый из компонентов такого комплекса наделен специфическими функциями, инаktivация которых может быть довольно легко зарегистрирована в модельных опытах. Помимо чисто теоретических аспектов, изучение антибактериального и антифагового действия озона определяется рядом практических задач — предотвращение порчи различных продуктов, обеззараживание питьевой воды, стерилизация некоторых объектов и т. п.

Если относительно антибактериальных свойств озона имеется достаточное количество сведений [1—6], то антифаговая активность его практически не изучена; имеются лишь отдельные сообщения [7—9].

В представляемой работе приводятся результаты сравнительной чувствительности некоторых бактериофагов и соответствующих бактерий-хозяев к инактивирующему действию озона.

Материал и методика

В работе использованы ДНК-содержащие фаги фитопатогенных бактерий рода *Pseudomonas* (фаг 12/2) и *Erwinia* (фаги 13 и 15) и соответствующие штаммы клеток-хозяев *Pseudomonas xanthochlora* и *Erwinia herbicola*, а также РНК-содержащий бактериофаг Q β *Escherichia coli* K12.

Препараты фагов готовили методом двойных агаровых слоев [10] на полноценной питательной среде с последующей инактивацией оставшихся бактериальных клеток путем обработки хлороформом. Рабочие концентрации фаговых взвесей 10^5 — 10^6 частиц/мл. Титрование фагов осуществляли по методу Грация [11].

Бактерии выращивали в полноценной жидкой питательной среде до логарифмической фазы. В опытах пользовались бактериальными взвешями концентрацией 10^6 — 10^8 клеток/мл.

Обработку озонем бактерий и фагов проводили в жидкой среде с применением озонатора конструкции кафедры биофизики БГУ имени В. И. Ленина. Эффект обработки оценивали по выживаемости бактерий и способности фагов формировать негативные колонии при посеве на газон соответствующих клеток-хозяев.

Данные для построения кривых инактивации получали путем обработки результатов методом регрессии [12].

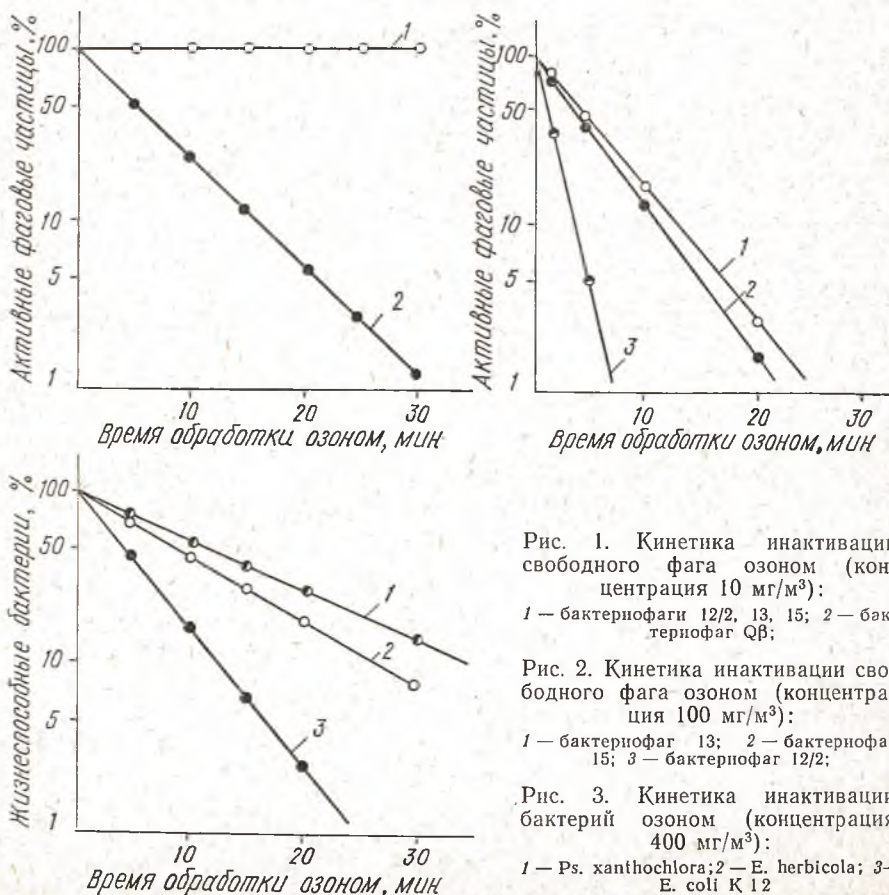


Рис. 1. Кинетика инактивации свободного фага озонном (концентрация 10 мг/м³):

1 — бактериофаги 12/2, 13, 15; 2 — бактериофаг Q β ;

Рис. 2. Кинетика инактивации свободного фага озонном (концентрация 100 мг/м³):

1 — бактериофаг 13; 2 — бактериофаг 15; 3 — бактериофаг 12/2;

Рис. 3. Кинетика инактивации бактерий озонном (концентрация 400 мг/м³):

1 — *Ps. xanthochlora*; 2 — *E. herbicola*; 3 — *E. coli* K12

Результаты и их обсуждение

Как следует из результатов проведенных экспериментов, озон обладает выраженной ингибирующей активностью по отношению к изученным фагам. Сравнительно невысокие концентрации при пятиминутном воздействии инактивируют свободные (внеклеточные) бактериофаги, что выявляется по способности образовывать негативные колонии на газонах чувствительных к ним бактерий. При этом привлекает внимание неодинаковая чувствительность различных фагов. Так, наименее резистентным оказался РНК-содержащий, наиболее просто организованный бактериофаг кишечной палочки Q β , 30-минутная обработка которого озоном в концентрации 10 мг/м³ обуславливает практически его полную инактивацию (рис. 1). Остальные изученные фаги к указанным дозировкам оказались устойчивы и инаktivировались лишь при повышении концентрации повреждающего фактора (рис. 2).

Различная степень чувствительности четырех исследованных фагов может быть обусловлена природой нуклеиновых компонентов, а также сложностью структурной организации белковых оболочек, в первую очередь повреждаемых озоном [9].

Чувствительность клеток-хозяев указанных бактериофагов к инактивирующему действию озона также неодинакова (рис. 3). Для достижения 50 %-ной гибели бактерий требуется в 10–40 раз большая дозировка озона, чем для инактивации их вирусов. И в данном случае выявляется неодинаковая степень резистентности: более устойчивыми оказались клетки бактерии рода *Pseudomonas*. Можно полагать,

что более низкая чувствительность клеток-хозяев определяется наличием у них репарировующих систем, а также более сложными в химическом и анатомическом плане, поверхностными структурами бактерий.

Обнаруженная более высокая чувствительность фаговых частиц по сравнению с чувствительностью клеток-хозяев проявляется и в случае воздействия озона на смесь бактерий и фагов. При воздействии озона в концентрации 100 мг/м³ в течение 15 мин на смесь «фаг — бактерия» все использованные бактериофаги практически полностью инаktivируются, в то время как 72–95 % клеток-хозяев сохраняют жизнеспособность и формируют при высеве на плотную питательную среду колонии нормального морфологического типа (см. таблицу).

Выводы

1. Озон обладает выраженным антифаговым и антибактериальным действием, причем фаги более чувствительны, чем их клетки-хозяева.

2. Чувствительность различных фагов к повреждающему действию озона неодинакова; наиболее чувствительным является РНК-содержащий фаг кишечной палочки Q β , более резистентными оказались ДНК-содержащие фаги *Pseudomonas* и *Erwinia*.

3. Степень антифагового и антибактериального действия озона находится в прямой зависимости от его концентрации и продолжительности обработки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зоблина В. П., Морковина Э. А.—Микробиология, 1971, т. 40, вып. 1, с. 93.
2. Работнова И. Л. и др.—Научн. докл. высшей школы. Биол. науки, 1972, № 2, с. 86.

3. Broadwater W. et al.—Appl. Microbiol., 1973, v. 26, № 3, p. 391.
4. Hamelin C., Chung Y.—Mol. Gen. Genet., 1976, v. 145, № 2, p. 191.
5. Häufele A., Sprockhoff H.—Zbt. Bakteriол., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyg., 1973, Abt. 1, B. 157, № 1, S. 53.
6. Scott D. et al.—J. Bacteriol., 1963, v. 85, № 3, p. 587.
7. De Mik G., De Groot J.—J. Hyg., 1977, v. 78, p. 199.
8. Pavoni T. et al.—Water and Sewage Works, 1972, № 12, p. 59.
9. Kim C. et al.—Appl. Environ. Microbiol., 1980, v. 39, № 1, p. 210.
10. Swanson M., Adams M.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1951, v. 78, № 4, p. 372.
11. Gratia A.—Ann. Inst. Pasteur., 1936, v. 57, p. 652.
12. Плохинский Н. А. Биометрия.—Новосибирск, 1961.

Поступила в редакцию
26.09.81.

Кафедра микробиологии

УДК 576.858.9

Л. П. ПРОКУЛЕВИЧ, А. С. ГОРЕЛЫШЕВ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФАГОТИПИРОВАНИЯ ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*

Метод фаготипирования — один из способов идентификации бактерий, основанный на выявлении различий их чувствительности к типовым бактериофагам, предложен Креджи и Йеном в 1938 г. [1] для дифференциации возбудителей брюшного тифа. С тех пор фаготипирование нашло широкое применение в эпидемиологической практике для быстрой диагностики заболеваний.

Фаготипирование бактерий рода *Pseudomonas* впервые описано в начале 50-х годов [2], причем большая часть работ касается представителей условно-патогенного вида *P. aeruginosa*, характеризующихся широким ареалом распространения в природе [3—7]. Эффективность фаготипирования в первую очередь зависит от наличия набора фагов, характеризующихся определенными спектрами хозяев.

В связи с этим задачей настоящего исследования являлось определение спектра литического действия вновь выделенных бактериофагов *Pseudomonas*. Кроме того, предпринята попытка протипировать набор бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из различных природных источников.

Материал и методика

В качестве индикаторных культур при выделении фагов использовали 62 коллекционных штамма бактерий рода *Pseudomonas*, полученные из Института биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР и Института микробиологии и вирусологии имени Д. К. Заболотного АН УССР. Материалом для выделения бактериофагов служили почва, сточные воды, плоды и листья растений. Номенклатура фагов включает первые три буквы видового названия бактерии-хозяина и порядковый номер. Фаги *P. aeruginosa* обозначены aer 1—4, *P. aptata* — apt 1, *P. atrofaciens* — atr 1, *P. fluorescens* — flu 1—7, *P. fragi* — fra 1—4, *P. lachrymans* — lac 1, 2, *P. lupini* — lup 1, *P. maltophilia* — mal 1—4, *P. maculicola* — mac 1, *P. putida* — put 1—9, *P. pisi* — pis 1, *P. syringae* — syr 1—8, *P. stutzeri* — stu 1, *P. cerasi* — cer 1, *P. holci* — hol 1, 2, *P. vignae* — vig 1—2, *P. xanthochlora* — xan 1—2, *P. ovalis* — ova 1. Бактерии рода *Pseudomonas*, представленные 520 штаммами, выделены сотрудниками Проблемной НИЛ экспериментальной биологии Белгосунiversитета имени В. И. Ленина из различных природных источников. Фаготипирование проводилось по методике, предложенной Gratia [8].

Результаты и их обсуждение

После определения спектра литического действия все испытуемые фаги были распределены на 23 группы (табл. 1), насчитывающие от 1 до 6 фагов с одинаковым спектром литической активности. Фаги 1—8