

11. Воскресенская Н. П., Ходжиев А. Х.— Физиол. растений, 1973, т. 20, вып. 2, с. 309.
12. Kuezmak M., Tolbert N. E.— Plant Physiol., 1962, v. 37, № 6, p. 729.
13. Калер В. Л. Авторегуляция образования хлорофилла в высших растениях.— Минск, 1976.
14. Kearney P. C., Tolbert N. E.— Arch. Biochem. Biophys., 1962, v. 98, № 1, p. 164.
15. Hendricks S. B., Borthwick H. A.— Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1967, v. 58, № 5, p. 2125.
16. Galston A. W.— Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1968, v. 61, № 2, p. 454.
17. Регуляция метаболизма растительной клетки / Под общей ред. Ф. Л. Калинина.— Киев, 1973.

Поступила в редакцию
17.11.79.

Кафедра ботаники

УДК 576.8.095.7

ЧАН ТХИ СЫОНГ, А. Н. ЕВТУШЕНКОВ

ЗАВИСИМОСТЬ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА ОТ УСЛОВИЙ ОБРАБОТКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР

Антимикробная активность озона уже нашла практическое применение, в частности, для стерилизации питьевой воды [1—3], причем в данном случае озонирование оказывается более сильным средством по сравнению с хлорированием [4]. Однако бактерицидный эффект озона довольно широко варьирует в зависимости от вида и даже штамма микроорганизмов одного и того же вида, а также от условий внешней среды [5].

Существенный интерес и потенциальную практическую значимость представляют данные о действии озона на фитопатогенную микрофлору [6, 7]. Тем не менее сведения о влиянии озона на патогенные для растений микроорганизмы касаются преимущественно грибов и почти отсутствуют данные о его действии на бактерии. В связи с этим целью представляемого исследования являлось изучение антибактериального действия озона на некоторые фитопатогенные и сапрофитные бактерии в зависимости от условий обработки испытуемых культур.

Материал и методика

Бактерии. Объектами исследования являлись штаммы некоторых фитопатогенных и сапрофитных бактерий из коллекции кафедры микробиологии БГУ имени В. И. Ленина (табл. 1). Культуры сохранялись на скошенной агаризованной среде, приготовленной на основе аминокислот [8] при температуре $+4^{\circ}\text{C}$.

Обработка озоном. Бактериальные культуры испытуемых штаммов выращивались в полноценной жидкой питательной среде, приготовленной на основе аминокислот, до логарифмической фазы. По 10 мл культуры помещали в пробирку и через суспензию с постоянной скоростью (8 л/мин) продувался озон. Обработку бактерий на поверхности плотной среды проводили в чашках Петри, засеянных шпателем и помещавшихся в камеру, в которой поддерживалась постоянная концентрация озона.

Бактериальные споры получали путем выращивания спорообразующих бактерий на специальной споруляционной среде [9]. Вегетативные клетки при этом убивались прогреванием культуры при 80°C в течение 10 мин. После обработки в жидкой среде бактериальную взвесь разводили физиологическим раствором и высевали на плотную питательную среду в чашках Петри, которые инкубировались при оптимальной для каждого изучавшегося штамма температуре. Учет результатов производили через 48 ч инкубирования посредством подсчета формирующихся колоний в сравнении с контролем (необработанная культура).

Источником озона служил пластинчатый озонатор, сконструирован-

Таблица 1

Бактериальные штаммы

Вид бактерий	Штамм	Место получения
1. <i>Escherichia coli</i>	В	Ин-т МЭИ им. Н. Ф. Гамалеи
2. <i>E. coli</i>	K12HfrH	д-р W. Hayes
3. <i>Erwinia chrysanthemi</i>	ENA 49	д-р D. Graham (Эдинбург)
4. <i>Erwinia carotovora</i>	53A	Каф. микробиологии БГУ им. В. И. Ленина
5. <i>Pseudomonas syringae</i>	8511	Ин-т микробиологии и вирусологии АН УССР, Киев
6. <i>Ps. aptata</i>	8544	»
7. <i>Ps. pisi</i>	7152	»
8. <i>Ps. glycinea</i>	8541	»
9. <i>Xanthomonas campestris</i>	ВКМ В-570	Всесоюзная коллекция микроорганизмов, Москва
10. <i>Staphylococcus albus</i>		Каф. микробиологии БГУ им. В. И. Ленина
11. <i>Bacillus subtilis</i>		»

ный на кафедре биофизики Белгосуниверситета имени В. И. Ленина. Концентрацию озона определяли методом йодометрического титрования [5].

Результаты и их обсуждение

В первой серии экспериментов определяли бактерицидное действие озона на бактерии *Erwinia carotovora* 53A, находящиеся в физиологическом растворе. Как следует из полученных данных (рис. 1), низкие концентрации озона (до 0,01 мг/л) при экспозиции 10 мин гибели клеток не вызывали. Однако повышение концентрации озона до 0,03—0,04 мг/л обуславливало гибель 80—97% бактерий. Дальнейшее увеличение дозы (до 0,1 мг/л) повышало бактерицидный эффект, но полной стерилизации при этом не достигалось.

Можно думать, что действие озона реализуется лишь при достижении определенной критической концентрации его, при которой имеет место быстрая гибель чувствительных клеток. Интерпретируя подобные результаты, Broadwater и соавторы [3] высказывают мнение, что гибель микробной популяции при этом происходит в соответствии с закономерностью «все или ничего», т. е. до какой-то пороговой величины у бактериальных клеток отмечается выраженная толерантность по отношению к повреждающему агенту, превышение которой приводит к гибели подавляющего большинства членов популяции.

В следующей серии экспериментов проводилось сравнительное изучение чувствительности различных штаммов бактерий при постоянной концентрации озона, равной 0,06 мг/л газовой смеси. В данном случае доза антибактериального агента изменялась временем воздействия (от 5 до 30 мин). При этом обработка бактерий озоном проводилась в различных условиях: на поверхности плотной питательной среды, в физиологическом растворе и в жидкой полноценной питательной среде. Результаты данной серии опытов представлены в табл. 2.

Как можно заключить на основании приведенных данных, наиболее выраженный бактерицидный эффект озона проявляется при воздействии на бактерии, находящиеся на поверхности плотной питательной среды. Гибель практически всех изученных штаммов достигала 99%. Самой высокой степенью чувствительности характеризовались бактерии *E. coli* штамм В, фитопатогенные представители рода *Erwinia* и *Xanthomonas*,

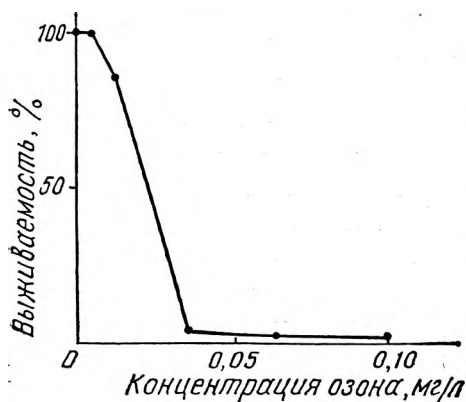


Рис. 1. Инактивация бактерий *E. carotovora* 53A при обработке клеток озоном в физиологическом растворе в течение 10 мин

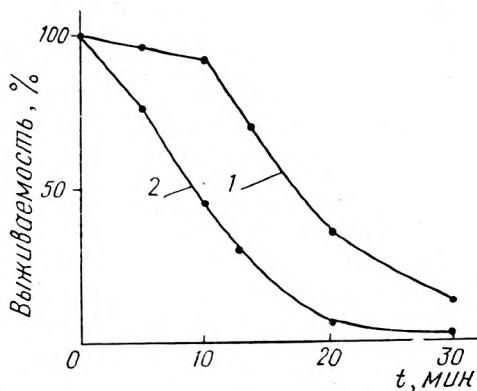


Рис. 2. Кинетика гибели при обработке бактерий озоном (0,06 мг/л) в физиологическом растворе:
1 — *E. coli* K12 Hfr H; 2 — *E. chrysanthemi* ENA 49

а также вегетативные формы *Bac. subtilis*. Более устойчивыми оказались бактерии рода *Pseudomonas* и *Staphylococcus* и, естественно, споровые формы *Bac. subtilis*. Последние при данных условиях вообще не инактивировались.

В физиологическом растворе клетки всех бактериальных штаммов отличались большей резистентностью к воздействию озона, чем при обработке на поверхности плотной питательной среды. Однако и в этих условиях бактерии *Escherichia*, *Erwinia* и *Xanthomonas* обнаруживали более высокую степень чувствительности по сравнению с *Pseudomonas* и *Staphylococcus* и, конечно, спорами *Bac. subtilis*.

Следует отметить, что не выявляется какой-либо закономерности в характере чувствительности грам-положительных и грам-отрицательных бактерий. Так, например, как среди грам-отрицательных клеток

Таблица 2

Антибактериальное действие озона

Условия обработки	Время обработки, мин	Выживаемость, %										
		<i>E. coli</i> B	<i>E. chrysanthemi</i> 49	<i>E. carotovora</i> 53A	<i>Ps. syringae</i> 8511	<i>X. campestris</i> BKM 13570	<i>Ps. aptata</i> 8544	<i>Ps. pisi</i> 7152	<i>Ps. glyciniae</i> 8541	<i>St. albus</i>	<i>Bac. subtilis</i> (клетки)	<i>Bac. subtilis</i> (споры)
На плотной питательной среде	5	28,0	20,5	50,0	97,5	17,6	97,5	95,6	71,1	33,1	28,9	100
	10	6,2	1,0	2,9	64,5	0,22	52,5	66,7	17,4	17,8	13,7	100
	20	0,13	0,02	1,2	16,5	0,04	16,3	17,8	5,0	5,8	2,8	100
	30	0,04	0,00	0,1	0,13	0,03	0,13	0,02	0,15	2,5	0,4	95,2
В физиологическом растворе	5	90,4	76,7	78,8	99,1	66,5	97,7	97,8	97,4	85,0	84,1	100
	10	20,0	44,0	46,9	93,1	47,8	81,7	90,0	75,0	66,2	70,0	100
	20	5,5	4,7	6,0	81,8	10,4	75,7	80,0	39,5	20,9	18,0	100
	30	0,06	0,7	0,82	67,2	0,07	63,3	68,8	0,5	6,2	1,3	96,0
В жидкой питательной среде	5	100	100		100	100				100	100	100
	10	100	100		100	100				100	100	100
	20	100	100		100	100				93,0	93,0	100
	30	100	100		100	100				78,9	75,5	100

обнаруживаются высоко чувствительные (*Erwinia*, *Xanthomonas*, *Escherichia*), так и среди грам-положительных (*Bac. subtilis*). По-видимому, особенности строения и химического состава клеточной стенки бактерий оказывают меньшее влияние на степень чувствительности к изучаемому фактору, чем условия, в которых проводится обработка. Так, при обработке на плотной питательной среде чувствительность бактерий *Pseudomonas* мало отличалась от чувствительности других грам-отрицательных организмов, тогда как в физиологическом растворе их резистентность по сравнению с *Escherichia* и *Erwinia* несоизмеримо возрастала. Иными словами, и в данном случае явно прослеживается индивидуальная особенность микроорганизма, так как один из представителей рода *Pseudomonas* характеризовался также высокой чувствительностью и в жидкой среде (*Ps. glaucineae*). Можно предположить, что в жидкой среде бактерицидное действие озона снижается вследствие утечки органических веществ из поврежденных бактериальных клеток [10] и взаимодействия их с озоном, что и предохраняет оставшуюся часть популяции бактерий от гибели.

Еще более выраженная резистентность бактерий к повреждающему действию озона выявляется в случае обработки в полноценной жидкой питательной среде. Почти все изученные штаммы (за исключением *St. albus* и *Bac. subtilis*) оказались нечувствительными к озону в указанных дозировках. Можно полагать, что подобный факт является следствием «экранирующего» действия органических веществ, присутствующих в среде. Такое же предположение было ранее высказано и другими авторами [4, 5].

Изучение кинетики гибели бактериальных клеток двух штаммов при обработке озоном в физиологическом растворе (рис. 2) показало, что кривые выживаемости имеют характерную S-образную форму, что, по-видимому, отражает гетерогенность (по признаку чувствительности к озону) бактериальных популяций испытывавшихся штаммов. Можно предположить, что вначале погибают наиболее чувствительные клетки, а затем уже начинается отмирание бактерий, более резистентных. Аналогичная закономерность была выявлена в экспериментах по изучению действия озона на другие бактериальные штаммы и некоторые расы дрожжей [5].

Таким образом, озон обладает выраженным бактерицидным действием по отношению к грам-отрицательным и грам-положительным бактериям. Споровые формы характеризуются очень высокой степенью резистентности по сравнению с вегетативными клетками.

Бактерицидный эффект озона наиболее выражен при обработке бактерий на поверхности плотной питательной среды и значительно слабее в условиях жидкой среды (физиологический раствор). Наименьшее антибактериальное действие регистрируется в условиях жидкой полноценной питательной среды.

Авторы выражают глубокую благодарность профессору Ю. К. Фомичеву за руководство работой и обсуждение результатов исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кожин В. Ф. Установки для озонирования воды.— М., 1968.
2. Черкинский С. Н. и др.— Обеззараживание питьевой воды.— М., 1962.
3. Broadwater W. T. et al.— Appl. Microbiol., 1973, v. 26, № 3, p. 391.
4. Чайковская М. А. и др.— Микробиол. ж., 1974, т. 36, вып. 1, с. 111.
5. Работнова И. Л. и др.— Науч. докл. высшей школы. Биол. науки, 1972, № 2, с. 86.
6. Heagle A. S.— Annu. Rev. Phytopathol., 1973, v. 11, p. 365.
7. Spalding D. H.— Phytopathology, 1966, v. 56, p. 586.
8. Грив Н. В.— Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геол., геогр., 1976, № 3, с. 38.

9. Рубикас И. П. и др.— Генетика, 1977, т. 13, № 5, с. 897.
10. Scott D. B. et al.— J. Bacteriol., 1963, v. 85, № 3, p. 587.

Поступила в редакцию
16.05.80.

Кафедра микробиологии

УДК 591.524.12(476)

В. П. ЛЯХОВИЧ, П. А. МИТРАХОВИЧ

ДИНАМИКА И ПРОДУКЦИЯ ПОПУЛЯЦИИ *EUDIARTOMUS GRACILOIDES* LILL. В УСЛОВИЯХ ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ ТЭС

В связи с быстрым ростом тепловых и атомных электростанций возникла проблема влияния подогретых вод на экологические системы водоемов, использующихся в качестве охладителей. Одним из таких водоемов-охладителей является оз. Лукомльское (площадь 36,2 км², максимальная глубина 11,5 м, объем 243,5 млн. м³), расположенное в Витебской области. Расчетный водооборот озера при охлаждении системы ТЭС составляет 45—50 суток, в зоне подогрева температура воды постоянно повышена на 2—4° С.

Целью данной работы было изучение влияния подогретых вод ТЭС на динамику и продукцию популяции *Eudiartomus graciloides* Lill. в условиях водоема-охладителя.

Материал и методика

Популяцию *E. graciloides* исследовали параллельно в подогреваемой зоне (ст. 8) и вне влияния подогрева (ст. 10) с апреля 1978 г. по май 1979 г. Расстояние между станциями около 7 км, глубина на обеих станциях 8,4 м.

Количественные пробы отбирали планктоночерпачом Вовка объемом 10 л, газ № 70, через каждые 2 м глубины и просчитывали полностью в камере Богорова [1], качественные пробы отбирали цепелиновой сетью (газ № 70), протягиваемой от дна до поверхности. Для определения биомассы популяции пользовались формулой $W=0,036 l^{2,738}$, описывающей связь массы и размеров тела [2]. Измерения длины тела осуществляли под биноклем МБС-1 при увеличении 8×4. За длину тела рачков принимали расстояние от середины глаза до конца фуркальных ветвей. Возрастные стадии определяли методикой Е. В. Боруцкого [3]. Продукцию популяции рассчитывали по методике определения продукции водных животных с постоянным пополнением [4, 5]; значения D_e , D_q , D_n и D_h взяты из экспериментальных работ [6] с учетом температуры [4]. Средний вес яиц *E. graciloides* получен серией непосредственных взвешиваний на весах типа АДВ-200, навески при этом брали от 2 до 6 мг.

Всего за период исследований обработано более 150 количественных и около 100 качественных проб.

Результаты и их обсуждение

Данные количественного развития популяции *E. graciloides* показывают, что в подогреваемой зоне в течение года было четыре пика численности: в начале мая, конце июня, конце августа и, самый малый (4,74 тыс. экз/м³), во второй половине сентября. Максимум численности приходится на вторую половину июня (20,4 тыс. экз/м³). Каждому подъему общей численности соответствовало повышение и преобладание доли науплиальных форм и понижение доли взрослых рачков в популяции. Науплиусы преобладали в составе популяции на протяжении шести месяцев — с марта по сентябрь 1978 г., их доля составляла от 40 до 95%, удельный вес копеподитов колебался от 23 до 39%, взрослые рачки составляли от 2,6 до 18,8% общей численности популяции. К концу октября 1978 г. численность науплиусов снижалась до минимума. Новый