

85%. Другой штамм (Г + Ц в ДНК 40.7 мол. %) имеет до 96-97% сходства с известными изолятами *B. putillus*, но существенно отличается от них субмикроскопическим строением спор (наличием над картексом нескольких слоистых образований). Кроме того, из слоистых глинисто – сальвинитовых отложений в форме “книжечки” выделена единственная грамотрицательная бактерия (Г + Ц в ДНК 66.2 мол. %) морфотипа *Pseudomonas*, имеющая по данным анализа 16S рРНК максимальную степень гомологии до 93% с *P. putida* и до 92% с *P. plecoglossicida*. Подобные изоляты ископаемых микроорганизмов, несмотря на определенное сходство генотипических и внешних фенотипических признаков с известными современными бактериями, по – видимому, к таковым не относятся.

Работа выполнена при финансовой поддержке по программс Президиума РАН: “Молекулярная и клеточная биология”. Благодарим геологов Соликамска и Солигорска за оказанную помощь при отборе образцов минералов в шахтах.

Список литературы

1. Кац Л.Н. Палеомикробиология: проблемы и перспективы // Успехи микробиологии. – М.: Наука, 1990, №24. – С. 194 – 220.
2. Dombrowski H.J. Bacteria from Paleozoic salt deposits // Ann. NY Acad. Sci. – 1963. – Vol. 108. – P. 453 – 460.
3. Чудинов Н.К. О природе окраски калийных солей Палеозоя // Сб.: Минералы изверженных горных пород и руд Урала. – Л.: Наука, 1967. – С. 118 – 130.
4. Абызов С.С., Заварзин Г.А., Иванов М.В. и др. О выживании микроорганизмов в ископаемых калийных солях // Микробиология. – 1966. – Т. 35, №5. – С. 885 – 889.
5. Norton C.F., McGinity T.J., Grant W.D. Archaeal halophiles (halobacteria) from two British salt mines // J. Gen. Microbiol. – 1993. – Vol. 139. – P. 1077 – 1081.
6. Denner E.B.M., McGinity T.J., Grant W.D. et. al. *Halococcus salifodinae* sp. nov., an archaeal isolate from an Austrian salt mine // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1994. – Vol. 44, №4. – P. 774 – 780.
7. Vreeland R.H., Rosenzweig W.D., Powers D.W. Isolation of 250 million – year – old halotolerant bacterium from a primary salt crystal // Nature. – 2000. – Vol. 407. – P. 897 – 900.
8. Rosenzweig W.D., Peterson J., Woish J., Vreeland R.H. Development of a protocol to retrieve microorganisms from ancient salt crystal // Geomicrobiol. J. – 2000. – Vol. 17. – P. 185 – 192.
9. Fish S.A., Shepherd T.J., McGinity T.J., Grant W.D. Recovery of 16S ribosomal RNA gene fragments from ancient halite // Nature. – 2002. – Vol. 417. – P. 432 – 436.
10. Stan –Lotter H., Pfaffenhuemer M., Lelat A. et. al. *Halococcus dombrowskii* sp. nov., an archaeal isolate from a Permian alpine salt deposit // Int. J. Syst. Bacteriol. – 2002. – Vol. 52. – P. 1807 – 1814.
11. Кудряшов А.И. Верхнекамское месторождение солей. – Пермь: ГИ УрО РАН, 2001. – 429 с.
12. Апелърод А.А., Косяченко Г.Е., Богданович А.С., Кондратьев А.Г. О бактериальной обсемененности воздушной среды глубоких калийных шахт // Гигиена труда и проф. заболев. – 1985. - №4. – С. 10 – 13.
13. Greenblatt C.L., Davis A., Clement B.G et al. Diversity of microorganisms isolated from amber // Microbiol. Ecol. – 1999. – Vol. 38. – P. 58 – 68.

ИНДУКЦИЯ УМЕРЕННЫХ ЛАКТОФАГОВ К ЛИТИЧЕСКОМУ ЦИКЛУ ПРИ УЧАСТИИ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Райский А.П.¹, Скорб Е.В.², Белясова Н.А.¹

¹ Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь,
e-mail: bt00-05@rambler.ru

² Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь

Умеренные фаги бактерий *Lactococcus lactis* чрезвычайно широко распространены в окружающей среде и часто являются причиной нарушений процессов ферментации при изготовлении кисломолочных продуктов [1]. Этому способствует, в частности, принятая в Беларуси и других странах СНГ практика использования многокомпонентных заквасок. В таких заквасках одни бактерии могут выполнять функцию чувствительных культур по отношению к лактофагам, ДНК которых присутствует в других бактериях в состоянии профага [2]. Чтобы ограничить подобное явление и минимизировать частоту событий фаголизиса в технологических процессах сквашивания молока, необходимо осуществлять проверку всех бактерий, включаемых в состав заквасок, на «фагоносительство». Для

того обычно используют метод индукции профагов к продуктивной инфекции под действием ультрафиолета (УФ) [3].

В данном исследовании приведены результаты, свидетельствующие о низкой эффективности метода УФ-индукции профагов к литическому циклу и обсуждаются более результативные подходы к выявлению лизогенных лактококков.

Объектами исследования служили бактерии *L. lactis* из коллекции кафедры биотехнологии и биоэкологии БГТУ. Бактерии хранили и культивировали общепринятыми методами [2]. УФ-индукцию профагов осуществляли по [3]. В качестве фотокаталитических систем использовали разработанные в НИИ физико-химических проблем высокоактивные фотоуправляемые покрытия на основе диоксида титана [4]. Подсчет числа фаговых частиц осуществляли методом двойных агаровых слосов [5]. ПЦР-анализ осуществляли по [6].

Для выявления профагов в клетках коллекционных бактерий *L. lactis* осуществляли их облучение ультрафиолетом с длиной волны 240 нм согласно [3]. Полученные суспензии перекрестно титровали на газонах лактококков – потенциальных хозяевах индуцированных фагов. В результате из 30-ти проверенных штаммов *L. lactis* только в одном удалось обнаружить присутствие профагов. В то же время, согласно литературным данным [1], около 25% культур *L. lactis* является лизогенными.

Иными словами, воспроизведение описанного в литературе [3] метода индукции профагов к продуктивной инфекции не обеспечивает ожидаемого эффекта в обнаружении лизогенных бактерий.

Чтобы достичь более высокой степени индукции профагов из лизогенных бактерий *L. lactis* использовали полупроводниковые фотокатализаторы на основе TiO_2 , на поверхности частиц которых при воздействии УФ ($\lambda=365$ нм) с интенсивностью облучения 15 мВт·см⁻² образуются радикальные формы кислорода ($OH\cdot$, $O_2\cdot^-$, $\cdot O_2H$) и пероксид водорода. Эти активные формы кислорода, которые генерируются под действием фотоэлектронов и фотодырок, взаимодействуют с различными клеточными структурами. В частности, они могут нарушать целостность мембран, инактивировать молекулы белков и нуклеиновых кислот [4].

В предварительных экспериментах определили чувствительность коллекционных фагов к воздействию на них индуцированных радикальных частиц. Результаты определения числа фаговых частиц, сохранивших способность к репродукции в клетках чувствительных бактерий после УФ-облучения в присутствии фотокатализатора (TiO_2) и балластного вещества SiO_2 (контроль), а также показатели фактора редукции (RF), который отражает увеличение числа инактивированных фагов в опыте по отношению к контролю, представлены в таблице 1.

Приведенные данные свидетельствуют о высокой инактивирующей активности диоксидтитанового фотокатализатора в отношении бактериофагов: число фаговых частиц, сохранивших способность к репродукции и формированию негативных колоний за 20 мин УФ-облучения суспензии с порошком TiO_2 сократилось в 33 раза по сравнению с контрольной суспензией, где вместо фотокатализатора присутствовало балластное вещество. Таким образом, можно констатировать, что лактофаги проявляют чувствительность к фотоиндуцированному действию активных форм кислорода и, поскольку в состав этих элементарно организованных существ входят только белок и ДНК, можно ожидать, что подобная обработка приведет к изменениям в их геномах, и, следовательно, к индукции.

Таблица 1

Инактивация лактофагов БИМ БУ-30 под действием УФ-облучения в присутствии и в отсутствие фотокатализаторов

Длительность УФ-облучения ($\lambda=365$ нм), мин	Концентрация фагов (БОЕ/мл), сохранивших способность к репродукции в клетках в присутствии:		RF*
	TiO_2	SiO_2	
5	$1,3 \cdot 10^6$	$1,8 \cdot 10^6$	1,4
10	$2,8 \cdot 10^5$	$5,6 \cdot 10^5$	2,0
20	$9,0 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^5$	33,3

Примечание: * Фактор редукции $RF = C_0/C$ где C – концентрация клеток в суспензии после УФ-облучения, C_0 – концентрация клеток в суспензии после УФ-облучения в случае контрольного образца

В таблице 2 отражены результаты эксперимента по выявлению среди коллекционных лактококков лизогенных бактерий при воздействии УФ-облучения в присутствии фотокатализатора (TiO_2).

Длительность облучения составляла 2 мин. Контролем служили аналогичным образом обработанные суспензии, где вместо двуокиси титана присутствовало балластное вещество (SiO_2).

Таблица 2

Концентрация клеток и индукция профагов после действия УФ-излучения в присутствии фотокатализатора TiO_2

Культура	Исходная концентрация клеток, КОЕ/мл	Концентрация клеток (КОЕ/мл) после УФ-облучения	Концентрация фаговых частиц в облученных суспензиях (БОЕ/мл) в присутствии	
			TiO_2	SiO_2
<i>L. lactis</i> 412	$1,2 \cdot 10^9$	$4,3 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^2$	0
<i>L. lactis</i> 415	$1,4 \cdot 10^9$	$6,7 \cdot 10^8$	$1,1 \cdot 10^2$	0

Применение данного подхода позволило выявить 4 лизогенных штамма бактерий среди 20-ти проанализированных. Исходя из полученных результатов можно заключить, что УФ-облучение клеточных суспензий с использованием фотокатализатора обладает более высокой индуцирующей способностью по отношению к профагам лактококков, чем стандартный метод УФ-индукции, и позволяет повысить вероятность обнаружения лизогенных культур, а, следовательно, и предотвратить их попадания в состав заквасок.

Список литературы

1. Brussow H. Phages of dairy bacteria // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2001. – Vol. 55 – P. 283–303.
2. Desiere F., Lucchini S., Canchaya C., Ventura M., Brussow H. Comparative genomics of phages and prophages in lactic acid bacteria. // *Antonie van Leeuwenhoek.* – 2002 – Vol. 82. – P. 73–91.
3. Huggins A. R., Sandine W. E. Incidence and properties of temperate bacteriophages induced from lactic streptococci. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1977. – Vol. 33 – P. 184–191.
4. Скорб Е.В., Антоновская Л.И., Белясова Н.А., Свиридов Д.В. Фотоиндуцированные бактерицидные свойства пленочных фотокатализаторов на основе наноструктурированного диоксида титана // Доклады НАН Беларуси. – 2007. – Т. 51.
5. Lillehaug, D. An improved plaque assay for poor plaque producing temperate lactococcal bacteriophages. // *J. Appl. Microbiol.* – 1997. – Vol. 83. – P. 85–90.
6. B. del Rio, Binetti A.G., Martín M.C., Fernandez M., Magadan A.H. and Alvarez M.A. Multiplex PCR for the detection and identification of dairy bacteriophages in milk. // *Food Microbiology.* – 2007. – Vol. 24 – P. 75–81.

АЛЬГОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКОВ ТУРГЕНЬСКОГО УЩЕЛЯ

Акмуханова Н.Р., Заядан Б.К., Садвакасова А.К., Онерхан Г.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

В последние годы внимание ученых все более привлекают бактериально – водорослевые сообщества горячих источников. В гидротермальных проявлениях цианобактерии в сообществе с другими микроводорослями и бактериями могут образовывать альгобактериальные маты. Основным результатом деятельности альгобактериального мата является образование кислорода и связывание углекислоты в органические вещества.

Цианобактерии – древнейшая группа среди живых организмов. Остатки организмов, близких современным цианобактериям, найдены среди строматолитов –слоистых меловых отложений, возраст которых составляет около трех миллиардов лет [1]. Морфологически цианобактерии разделяются на одноклеточные, колониальные и многоклеточные (нитчатые) формы. Размеры клеток колеблются от менее 1 до 50 мкм. Большинство цианобактерий образуют колонии или многоклеточные нити. Химический состав биомассы цианобактерий отличается высоким содержанием протеина (до 70% органического вещества) [2], наличием термоустойчивых ферментов (в том числе ДНК-полимеразы), пигментов, витаминов [3]. Будучи космополитами, цианобактерии являются типичны-