

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,  
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, МСП, Д03680, Украина*

## **ТОКСИЧЕСКОЕ И МУТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕКСАХЛОРИЦИКЛОГЕКСАНА И ПРОДУКТОВ ЕГО МИКРОБНОЙ ДЕСТРУКЦИИ НА МИКРОБНЫЙ ЦЕНОЗ ПОЧВЫ**

*Культуры-деструкторы *Pseudomonas putida* 9, *Stenotrophomonas maltophilia* ИМВ В-7288 разлагали инсектицид гексахлорциклогексан (ГХЦГ) на 31,1-76,6 % и 30,7-73,2 % соответственно. Гексахлорциклогексан (ГХЦГ) и продукты его деструкции культурами *P. putida* 9 и *S. maltophilia* ИМВ В-7288 оказывают токсическое и мутагенное действие на природные микробные сообщества почвы, снижая их выживание на 6,9-21,7 % от исходного уровня и действуя на уровне слабых мутагенов. Применение культур-деструкторов открывает перспективы для использования их в составе биопрепаратов для ремедиации загрязнённых территорий.*

*Использование почвенного ценоза в качестве тест-системы дало возможность получить детализированную картину токсических и мутагенных свойств ГХЦГ и продуктов его деструкции.*

*Ключевые слова: тест-система, микробная деструкция, гексахлорциклогексан, мутагенность, токсичность, ремедиация.*

Хлорорганический инсектицид гексахлорциклогексан (ГХЦГ) – распространенный загрязнитель почв и водоёмов во всём мире,  $\gamma$ -изомер линдан – его действующее вещество. ГХЦГ имеет 8 стабильных изомеров, различающихся положением (аксиальным - а или экваториальным - е) атомов Cl по отношению к плоскости цикла:  $\alpha$  (ааеее)  $\beta$  (еееее),  $\gamma$  (ааеее),  $\delta$  (аееее),  $\epsilon$  (аеаеае);  $\xi$  (ааеае),  $\eta$  (аеаеае) и  $\theta$  (аеаеае). Технический ГХЦГ, содержащий обычно 60-70 %  $\alpha$ -изомера, 7-10 % –  $\beta$ , 10-15 % –  $\gamma$ , 6-7 % –  $\delta$ -изомера и около 5 % других изомеров, получают в промышленности фотохимическим хлорированием бензола. Продукт устойчив к действию света, окислителей, в том числе кислот. Гексахлорциклогексан, будучи ядом политропного действия, токсичен для теплокровных. Попадая в организм с пищей или через органы дыхания, ГХЦГ вызывает, среди прочих нарушений, поражение системы кроветворения. Так, даже в результате острого отравления у мышей и кроликов наступает анемия со снижением насыщенности крови кислородом на фоне выраженного лейкоцитоза. Как следствие острого отравления могут развиваться агранулоцитоз, лейкомические состояния, анемия [9]. Кроме того, ГХЦГ изменяет проницаемость фосфолипидных мембран, что нарушает генерацию трансмембранного потенциала и, как следствие, АТФазную и фосфокиназную активность. В результате наблюдается энергетическое истощение клетки [10].

Период полураспада  $\gamma$ -изомера линдана составляет 2-13 дней в воздухе, 30-300 дней в воде, 50 дней в отложениях и 2 года в почвах. Он сохраняет свои свойства при воздействии света, высоких температур и кислотной среды, но может подвергаться гидролизу в случае высоких показателей рН. Процесс разложения линдана в микробной среде идет довольно медленно. Линдан в большей степени растворяется в воде и является более летучим соединением, нежели другие хлорированные органические химические вещества, чем объясняется его присутствие во всех экологических средах (вода/снег, воздух, почвы/отложения) [13]. Таким образом, накопление ГХЦГ создает проблему мирового масштаба с угрозой для здоровья людей, поскольку ГХЦГ и его производные являются высокотоксичными для иммунной, нервной и репродуктивной систем органов, а также накапливаются в биологических объектах разного уровня организации [17].

Вопрос о мутагенности и безопасности продуктов микробной деструкции изомеров ГХЦГ также актуален, как и эффективность самой деструкции. Это объясняется накоплением в окружающей среде большого количества генетически опасных соединений, что неблагоприятно влияет на здоровье людей.

Данных о генетической активности промежуточных продуктов деградации ГХЦГ для биологических объектов недостаточно, потому мы считали необходимым исследовать их мутагенность по сравнению с мутагенностью исходного препарата ГХЦГ.

**Материалы и методы.** В отделе общей и почвенной микробиологии Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины селекционированы штаммы микроорганизмов – эффективных деструкторов комплекса изомеров ГХЦГ. Самые перспективные из них были идентифицированы как *Pseudomonas putida* 9 и *Stenotrophomonas maltophilia* ИМВ В-7288 [2]. Штамм *Pseudomonas putida* 9 разлагал комплекс изомеров ГХЦГ на 13,5-31,8 % от исходного содержания пестицида, а штамм *Stenotrophomonas maltophilia* ИМВ В-7288 – на 22,9-53,5 % (табл. 1).

Таблица 1

**Остаточное содержание изомеров ГХЦГ в супернатантах культуральных жидкостей штаммов-деструкторов после разложения**

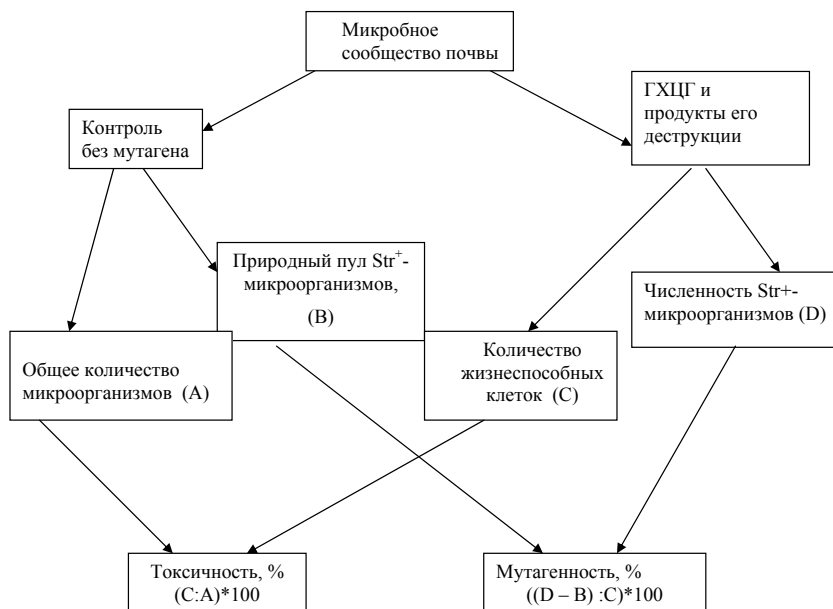
Штамм микроорганизмов	Содержание изомера ГХЦГ, % от исходного содержания			
	α-ГХЦГ	β-ГХЦГ	γ-ГХЦГ, (линдан)	δ-ГХЦГ
<i>S. maltophilia</i> ИМВ В-7288	32,1	53,5	26,3	22,9
<i>P. putida</i> 9	27,1	31,8	21,2	13,5
ГХЦГ, без деструкции	100	100	100	100

Исходный инокулят указанных культур выращивали 48 часов на жидкой модифицированной среде Менкиной [4,5] с добавлением коммерческого препарата гексахлорана 20 мг/л (д.в. – 7 % ГХЦГ). Плотность полученных клеточных суспензий измеряли на КФК-3, уравнивали и после этого пересевали на описанную выше среду с пестицидом. При этом концентрация инокулята составляла 10 % от объема среды. Культивирование проводили на качалках при 28 °С при перемешивании 280 об/мин. После 10 суток культивирования клетки отделяли центрифугированием при 5600 g 30 мин [3].

На следующем этапе изучали мутагенное действие супернатантов указанных культур на микробное сообщество чернозёмной почвы. Исследования проводили ранее разработанным нами способом [5]. Суть способа состоит в том, что на природные ассоциации микроорганизмов, содержащиеся в водной суспензии почвы, действуют растворами пестицидов и определяют процент выживших микроорганизмов, что характеризует токсичность пестицидов, и частоту появления стрептомициноустойчивых мутантов, что характеризует мутагенное действие препаратов.

Таким образом, естественные микробные ассоциации почвы выращивали на жидкой питательной среде Менкиной при добавлении в нее супернатантов культуральных жидкостей культур-деструкторов в количестве 10, 20, 30 и 40 % по объёму. После культивирования микробные суспензии высевали на почвенный агар с добавлением стрептомицина и без него. В этих посевах учитывали: 1) процент жизнеспособных клеток, что характеризует токсичность продуктов деструкции; 2) частоту появления стрептомицин устойчивых клеток (Str<sup>+</sup>), что характеризует генетическую (мутагенную) активность исследуемых продуктов деструкции. При этом от значений, полученных в опыте, отнимали значения контроля, поскольку показатели контроля указывают на численность микроорганизмов, характеризующих природной устойчивостью к данному антибиотику (рис. 1).

Кроме того, определяли мутагенность гексахлорана и супернатантов в полуколичественном тесте Эймса с использованием ауксотрофных штаммов *S. typhimurium* TA100 и TA98 [6]. Позитивными контролями были сильные мутагены прямого действия N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин (3 мкг/мл) и K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (в концентрации 100 мкг/мл в жидкой культуре и 100 мкг/чашку) [1].



**Рис. 1. Схема опыта по определению токсического и мутагенного действия супернатантов с продуктами распада ГХЦГ на микробное сообщество почвы.**

Эффективность микробной деструкции ГХЦГ в жидкой культуральной среде определяли методом газовой хроматографии согласно рекомендациям **Environmental Protection Association (USA)**[16].

**Результаты и их обсуждение.** Оценка безопасности ксенобиотиков и продуктов их деструкции важна на этапе прогнозирования результатов применения технологий биоремедиации загрязнённых территорий. С этой целью используются природные, наиболее характерные для зоны загрязнения, биологические объекты. В почве именно природные сообщества микроорганизмов первыми подвергаются действию поллютантов. Поэтому, используя их в качестве тест-системы для оценки токсичности и мутагенности загрязнителей, мы ожидаем получить объективные результаты, которые позволяют оценить влияние уровня загрязнённости экосистемы на биологические объекты.

В проведённых нами исследованиях мы полагали, что супернатанты, полученные после культивирования деструкторов в среде содержащей ГХЦГ, являются сложным комплексом, в состав которого входят: остаточные количества неразложившегося пестицида, продукты его деструкции, а также метаболиты культур. Этим комплексом соединений мы воздействовали на природные ассоциации почвенных микроорганизмов.

Супернатант *S. maltophilia* ИМВ В-7288 оказывал токсическое воздействие на природные ассоциации при добавлении 10 % его (по объёму) в жидкую среду Менкиной для культивирования природных микробных ассоциаций. Выживание микроорганизмов почвенного ценоза уменьшалось до 6,9-21,7 % от контроля (рис. 2). При увеличении концентрации супернатанта *S. maltophilia* ИМВ В-7288 в среде до 40 % от общего объёма, выживание почвенных микроорганизмов снижалось в 5 раз по сравнению с контролем. Мутагенное действие супернатантов определяли по количеству Str<sup>+</sup>-микроорганизмов. В контроле количество микроорганизмов, имеющих естественную устойчивость к стрептомицину, составляло 5,6 %. При действии супернатантов деструкторов на микробные сообщества почвы, количество Str<sup>+</sup>-популяций возрастало до 17 % (супернатант *S. maltophilia* ИМВ В-7288) и до 60 % (супернатант *P. putida* 9). Увеличение процента микроорганизмов, устойчивых к антибиотику, свидетельствует о токсическом действии интермедиатов ГХЦГ, и об угнетении репарационных процессов в микробных клетках в условиях пестицидного стресса (происходит увеличение процента устойчивых от количества выживших).

При воздействии на естественные почвенные ассоциации микроорганизмов супернатанта *P. putida* 9 в количестве 10 % наблюдали очень высокую частоту появления Str<sup>+</sup>-микроорганизмов – 3/5 от числа выживших, тогда как их выживание составляло 75,6 % от общего количества культивируемых форм в контроле. Это свидетельствует о том, что при относительно низкой токсичности, интермедиаты деструкции ГХЦГ культурой *P. putida* 9 способны индуцировать генетические события у микроорганизмов почвенного ценоза в 10,7 раза больше, чем в контроле.

Кроме того, генетическая активность супернатантов культуры *P. putida* 9, значительно превышала аналогичную активность супернатантов культуры *S. maltophilia* ИМВ В-7288 и составляла 60 % против 17 %. Хотя токсичность интермедиатов *S. maltophilia* ИМВ В-7288 была значительно выше (44,9 %) по сравнению с токсичностью интермедиатов *P. putida* 9 (75,6 % от общего количества) (рис. 2).

При увеличении содержания супернатанта в питательной среде до 30 % выживание почвенных микроорганизмов снижалось до 36 % (супернатант *S. maltophilia* ИМВ В-7288) и до 6,9 % (супернатант *P. putida* 9). В результате уменьшалось относительное содержание Str<sup>+</sup>-микроорганизмов – 13,8 % и 1,8 %, соответственно. Следует отметить, что при добавлении 40 % супернатанта *S. maltophilia* ИМВ В-7288 в жидкую среду культивирования, существенно снижалось количество Str<sup>+</sup>-микроорганизмов – до 3,6 %. Объяснить такой результат можно тем, что при высокой концентрации продуктов деструкции изомеров ГХЦГ в среде, микроорганизмы с нарушениями генетического аппарата, например Str<sup>+</sup>, проявляют наибольшую чувствительность к токсикантам, что сказывается на снижении их выживания.

Для сравнения результатов, полученных при оценке мутагенного действия продуктов микробной деструкции комплекса изомеров ГХЦГ на микробный ценоз почвы, применяли также тест Эймса – общепризнанный микробный тест с использованием культур *Salmonella typhimurium* TA 100 и TA 98 [1].

В тесте Эймса изучали мутагенность рекомендованной дозы гексахлорана (д.в. ГХЦГ) и супернатантов исследуемых культур-деструкторов после его деструкции. Гексахлоран без деструкции индуцировал мутации, превышая спонтанные реверсии в контроле на 56,5 % у *S. Typhimurium* TA100, у *S. typhimurium* TA98 – на 34,4 %. После процесса разложения мутагенная активность продуктов распада ГХЦГ была ниже по сравнению с мутагенностью исходного вещества и превышала на 15,4-38,5 % показатели контроля (табл. 2). Сравнивая мутагенность N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина и K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, относящихся к классу сильных мутагенов, с мутагенностью исследуемого пестицида и продуктов его деструкции, следует отметить, что последние действовали на уровне слабых мутагенов, согласно принятой классификации [1, 12].

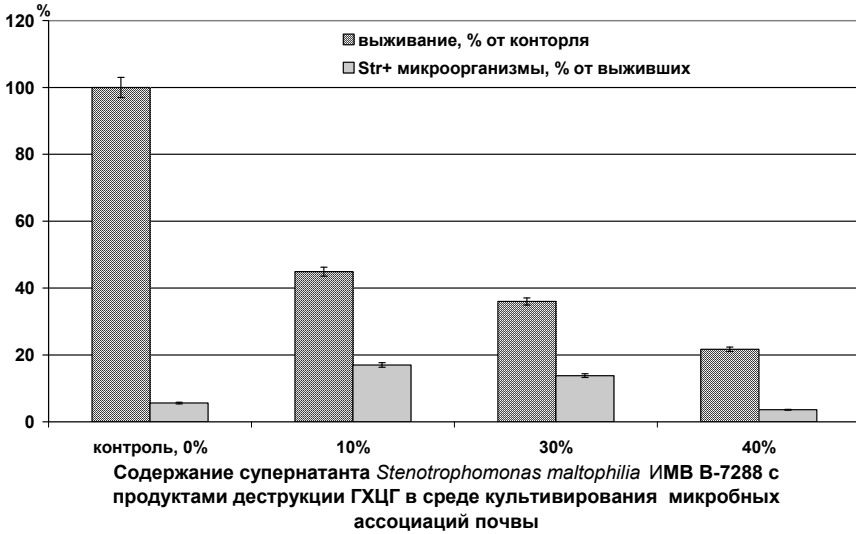
Таблица 2

Мутагенность супернатантов микроорганизмов-деструкторов после деструкции гексахлорана (ГХЦГ) в тесте Эймса

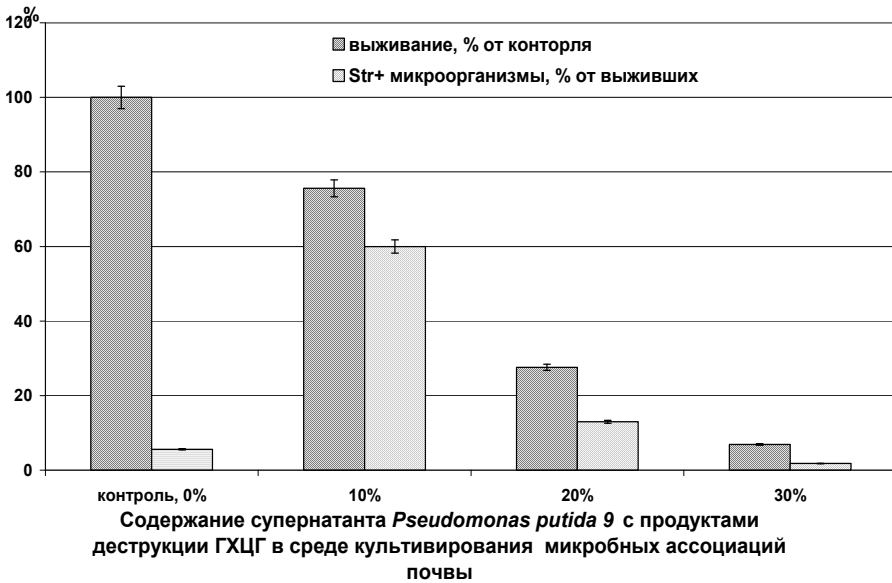
Варианты	Среднее количество колоний ревертантов на чашку	
	<i>Salmonella typhimurium</i> TA 100	<i>Salmonella typhimurium</i> TA 98
Контроль (спонтанные мутации)	78±5	32±3
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> , (100 мкг/чашку)	9467±79	3410±73
N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин (3 мкг/чашку)	5440±56	276±12
Гексахлоран, 20 мкг/мл	122±8	43±4
Супернатанты (после деструкции 20 мкг/мл гексахлорана)		
<i>P. putida</i> 9	108±7	42±3
<i>S. maltophilia</i> 6	90±5	38±3

Таким образом, промежуточные и конечные продукты микробной деструкции изомеров ГХЦГ индуцируют мутации на уровне слабых мутагенов, но токсичность их в рекомендованных к применению дозах достаточно высока для почвенных микроорганизмов. Кроме того,

можно сделать вывод, что микроорганизмы, в клетках которых уже произошли генетические перестройки (в данном случае – устойчивость к стрептомицину), оказываются более чувствительными к токсическому действию ксенобиотика (рис. 2).



А



Б

**Рис. 2. Влияние продуктов деструкции ГХЦГ культурами –деструкторами А – *S. maltophilia* IMB B-7288; Б – *P. putida* 9 на выживание и устойчивость к стрептомицину микробных ассоциаций почвы.**

Комплексное применение выбранных нами микробных тестов дает возможность более полно оценить токсические и мутагенные свойства как исходного инсектицида ГХЦГ, так и продуктов его биодеструкции.

Данных о четкой взаимосвязи между химической структурой пестицида и его токсичностью по отношению к почвенным микроорганизмам в литературе недостаточно. Однако вопросы применения пестицидов тесно связаны с объективной оценкой рисков для микробного ценоза почвы. Как правило, трудно прогнозировать, как химическая структура пестицида может быть связана эффектом его действия на разные группы почвенных микроорганизмов.

Часто для этой цели наряду с лабораторными маркерными тест-культурами микроорганизмов (например *S. typhimurium* тесте Эймса) используют отдельных представителей почвенной микрофлоры. Так, для оценки токсического влияния фосфорорганических пестицидов глифосата, линурона, карбофурана, фенамифоса, диурона, хлоротолурана были взяты азотфиксирующие бактерий родов *Azospirillum* и *Azotobacter* [8].

Стабильность развития почвенных экосистем в условиях применения хлорорганических пестицидов и симтриазинов оценивают также по активности продукции  $\text{CO}_2$  и интенсивности нитрификации [7]. Но причинами изменения данных показателей могут быть как микробная активность, так и физико-химические процессы в почве.

При ведении устойчивого земледелия, а также при ремедиации загрязнённых территорий необходима экотоксикологическая характеристика функционирования экосистемы. Важнейшим индикатором здоровья почвы является состояние её микробного ценоза, включая такие показатели как микробное разнообразие, функциональная стабильность и микробная активность [7]. Следовательно, использование микробного сообщества почвы в качестве тест-системы для оценки токсичности и мутагенности поллютантов и продуктов их деструкции для почвенных экосистем является объективным и актуальным методом оценки безопасности загрязнителей [5].

Использование микробной тест-системы на основе учёта индукции устойчивости к стрептомицину у отдельных представителей почвенного ценоза дало возможность установить закономерности токсического действия и мутагенной активности инсектицида ГХЦГ и промежуточных продуктов его разложения микроорганизмами-деструкторами *P. putida* 9 и *S. maltophilia* ИМВ В-7288. Так, при трансформации ГХЦГ разными культурами-деструкторами наблюдали разницу как в токсичности продуктов распада, так и в их генетической активности. Сегодня всё больше исследователей в научном мире настаивают на необходимости переоценки фактической и потенциальной опасности для здоровья человека и окружающей среды использующихся средств химической защиты [11]. Для реализации поставленных целей необходимы новые чувствительные, дифференцированные тест-системы, в том числе микробные. Одной из таких тест-систем может выступать предложенный нами метод использования микроорганизмов почвенного ценоза для оценки безопасности пестицидов и здоровья почвы [5].

Японские учёные [15] показали зависимость токсичности интермедиатов хлорорганических соединений от биохимического пути деструкции, который осуществляется микроорганизмом. Порядок окисления и отщепления функциональных групп хлорорганического субстрата напрямую определяет его токсичность для живых объектов окружающей среды, в том числе для тест-культур микроорганизмов и для почвенной микрофлоры.

Как показали результаты наших исследований, продукты деструкции ГХЦГ штаммами *P. putida* 9 и *S. maltophilia* ИМВ В-7288 были менее токсичны и мутагенны по сравнению с исходными веществами (ГХЦГ) и проявили себя как слабые мутагены.

Таким образом, исследуемые культуры целесообразно использовать в составе биопрепаратов для ремедиации загрязнённых ГХЦГ территорий ввиду относительной безопасности продуктов деструкции.

**Н.А. Ямборко, А.А. Піндрус**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Д.К. Заболотного, 154, Київ ДСП Д03680, Україна*

## **ТОКСИЧНА І МУТАГЕННА ДІЯ ГЕКСАХЛОРЦИКЛОГЕКСАНУ І ПРОДУКТІВ ЙОГО МІКРОБНОЇ ДЕСТРУКЦІЇ НА МІКРОБНИЙ ЦЕНОЗ ҐРУНТУ**

**Резюме**

Культури-деструктори *Pseudomonas putida* 9, *Stenotrophomonas maltophilia* ИМВ В-7288 розклали інсектицид гексахлорциклогексан (ГХЦГ) на 31,1-76,6 % і 30,7-73,2 % відповідно. Гексахлорциклогексан (ГХЦГ) і продукти його деструкції культурами *P. putida* 9 і *S. maltophilia* ИМВ В-7288 виявляють токсичну і мутагенну дію на природні мікробні угруповання ґрунту, знижуючи їх виживання до 6,9-21,7% від

вихідного рівня і діючі як слабкі мутагени. Застосування культур-деструкторів відкриває перспективи використання їх у складі біопрепаратів для ремедіації забруднених територій.

Використання мікробного ценозу ґрунту в ролі тест-системи дало можливість одержати деталізовану картину токсичних і мутагенних властивостей ГХЦГ і продуктів його деструкції.

**К л ю ч о в і с л о в а :** тест-система, мікробна деструкція, ГХЦГ, мутагенність, токсичність, ремедіація.

*N.A.Yamborko, A.A.Pindrus*

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

## **TOXIC AND MUTAGENIC INFLUENCE OF HEXACHLOROCYCLOHEXANE AND ITS MICROBIAL DESTRUCTION PRODUCTS ON SOIL MICROBIAL CENOSIS**

### **S u m m a r y**

Microbial strains *Pseudomonas putida* 9, *Stenotrophomonas maltophilia* IMV B-7288 destructed hexachlorocyclohexane (HCH) isomers complex by 31.1-76.6 and 30.7-73.2%, respectively, in comparison with given level. HCH and its destruction intermediates had toxic and mutagenic influence on soil microbial associations decreasing their survival to 6.9-21.7%. The investigated destruction products and intermediates obtained by *Pseudomonas putida* 9, *Stenotrophomonas maltophilia* IMV B-7288 have demonstrated weak mutagenic properties. The use of cultures-destructors opens the prospects for application of the mentioned strains as the components of microbial biopreparations for remediation of polluted soils. The use of soil microbial cenosis as the test-system for ecotoxicological assessment permitted to obtain more detailed pattern of toxic and mutagenic properties of HCH and products of its destruction.

The paper is presented in Russian.

**K e y w o r d s :** test system, microbe destruction, HCH, mutagenicity, toxicity, remediation.

**T h e a u t h o r ' s a d d r e s s :** *Yamborko N.A.*, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine .

1. *Емнова Е. Е., Меренюк Г. В., Цуркан Л. Г., Сланина В. А.* Система оценки потенциальной генетической опасности химических загрязнителей для почвенных микроорганизмов/ Методические рекомендации. – Кишинев, 1991. –47с.
2. *Іутинська Г.О., Ямборко Н.А., Піндрус А.А.* Дослідження деструкції ізомерів ГХЦГ мікроорганізмами роду *Pseudomonas* //Агрокол. журн. – спец. випуск. – червень 2008. – С. 82 – 85.
3. *Іутинська Г.О. Ямборко Н.А., Піндрус А.А.* Дослідження мутагенної активності гексахлорциклогексану та продуктів його мікробної деградації // Мікробіол. журн., – 2010.- –Т.72, —№6. —С.17—24.
4. *Методы общей бактериологии и биохимии /Под ред. Д.Г. Звягинцева М.:Изд-во МГУ, 1991. –С.277–279.*
5. Пат. 62576 А (UA), 7A01N25/00/ Спосіб визначення токсичної і мутагенної дії пестицидів на мікробні угруповання ґрунту //Іутинська Г.О., Ямборко-Костирко Н.А. / Бюл. №12. – 2003.
6. *Фонштейн Л.М., Калинина Л.М., Полухина Г.Н. и др.* Тест-системы оценки мутагенной активности загрязнителей среды на *Salmonella*. (Методические указания).–М, 1977. –52с.
7. *Bécaert V., Deschênes L.* Using soil health to assess ecotoxicological impacts of pollutants on soil microflora. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2006. –**188**. –P.127–148.
8. *Chi-Chu Lo* Effect of pesticides on soil microbial community // *J. Gen. and Appl Microbiol.* –2004. –50, N 2.–P.91–96.
9. *Dirtu A.C., Cernat R., Dragan D., Mocanu R., Van Grieken R., Neels H., Covaci A.* Organohalogenated pollutants in human serum from Iassy, Romania and their relation with age and gender// *Environ Int.* – 2006. – **32**, N 6– P. 797–803.
10. *Edmond D., Buck and Isaac N. Pessah* Mechanisms of d-Hexachlorocyclohexane Toxicity: II. Evidencefor Ca<sup>2+</sup>-Dependent K<sup>+</sup>-Selective Ionophore Activity // *J. Phamacol. and Experimental Therapeutics.* – 1999. – **289**, N 1. – P. 486-493.

11. Li Y.F., Zhulidov, A.V., Robarts, D.R., Korotova, L.G. Hexachlorocyclohexane Use in the Former Soviet Union. //Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 2004. – 48.–P.10–15.
12. Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay// Mutat.Res. –2000. –20, N 2.–P.29–60.
13. Piskac-Collier A.L, Smith M.A. Lindane-induced generation of reactive oxygen species and depletion of glutathione do not result in necrosis in renal distal tubule cells // J. Toxicol.Environ.Health . – 2009. –72, №19. – P.1160-1167.
14. Ronco A.M, Valdes K, Marcus D, Llanos M. The mechanism for lindane-induced inhibition of steroidogenesis in cultured rat Leydig cells // Toxicol. – 2001. – 159. – P.99–106.
15. Tanaka T, Ishii M., Nakano S, Mori Y, Yano Y, Iijima T, Takeda K., Kido Y. Microbial degradation of disinfectants: two new aromatic degradation products of chlorhexidine, chlorhexidine aromatic degradation products (CHADP)-4, CHADP-6 produced by *Pseudomonas sp.* strain № A-3 //J. Health Sci. –2006. –52, N1. – P.58-62.
16. Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods, 3rd Edition, U.S. EPA, Washington, DC, 1990. – EPA Method 8120 A. – 1990. – 456 p.
17. Walker K., Vallero D.A. and Lewsi R.G. Factors influencing the distribution of Lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment // Environ. Sci. and Techn. –1999. –33, N24. –P. 4373–4378.

Отримано 12.10.2010

УДК 578.26:579.842.1/2

**Т.В. Іваница<sup>2</sup>, Ф.І. Товкач<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
ул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680, Україна

<sup>2</sup>Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,  
ул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

## **ОБНАРУЖЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ СЕМЕЙСТВА SIPHOVIRIDAE У *ERWINIA CAROTOVORA* SUBSP *CAROTOVORA***

Установлено, что фаговая система полилизогенной культуры *Erwinia carotovora subsp. carotovora* 91П включает: а) дефектные бактериофаги семейства *Myoviridae*, которые проявляются как макромолекулярные каротоворицины; б) полноценный крайне нестабильный умеренный фаг, который можно отнести к семейству *Myoviridae*, и который, возможно, представляет собой аналог фага ZF40 [6]; в) устойчивый к осмотическому шоку умеренный фаг семейства *Siphoviridae*. Этот фаг, названный TIR1, состоит из изометрической головки с диаметром 50 нм и ригидного хвостового отростка длиной 203 нм. Характерной особенностью фагового отростка является четко выраженное наличие дисков, что показательно также для хвостового отростка дефектного умеренного фага штамма 48А-7/4б. В целом фаговая система *E. carotovora subsp. carotovora* похожа на такую у *Pseudomonas aeruginosa* с её R- и F-бактериоцинами, а также фагами семейства *Myoviridae* и *Siphoviridae*.

Ключевые слова: *Erwinia carotovora*, вирусоподобные частицы, умеренные бактериофаги, *Myoviridae*, *Siphoviridae*.

Бактериофаги порядка *Caudovirales* разделены на три семейства: *Myoviridae*, *Siphoviridae* и *Podoviridae*. Вирусы этих семейств имеют принципиально различное строение хвостового отростка. Семейство *Myoviridae* включает фаги со сложными сократимыми отростками, тогда как два других семейства характеризуют фаги, у которых хвостовые отростки не способны сокращаться. При этом для *Siphoviridae* характерны длинные, ригидные отростки, а для *Podoviridae* – короткие, конусовидные.

Известно, что жизнеспособные бактериофаги фитопатогенной бактерии *Erwinia carotovora* встречаются в окружающей среде не так часто, как умеренные и вирулентные вирусы других энтеробактерий. Вообще, число эрвиниофагов ограничено единицами, поэтому любая информация об этих вирусах представляет значительный интерес.

Однозначно установлено, что полилизогенное состояние *Erwinia carotovora subsp. carotovora* (Есс) представлено дефектными профагами, экспрессия которых приводит к синтезу отдельных компонентов вирионов – хвостовых отростков, капсидов и базальных пластинок, которые не способны собираться в полноценные частицы [7]. В подавляющем большинстве

© Т.В. Іваница, Ф.І. Товкач, 2011