

УДК 579.083.13

ИНДУКЦИЯ НЕКУЛЬТИВИРУЕМОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК *Acinetobacter lwoffii* JK 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛОМ

Ю.Ф. Костычева, Р.Э. Давыдов, Б.М. Куриненко

Аннотация

Статья посвящена индукции перехода в метаболически активное, но некультивируемое состояние (НС) клеток *Acinetobacter lwoffii* JK ксенобиотиком 2,4,6-тринитротолуолом. В течение перехода культуры в некультивируемое состояние оценивались следующие параметры: рост культуры, жизнеспособность, утилизация глюкозы, элиминация ксенобиотика из среды, образование продуктов первых этапов трансформации ксенобиотика, динамика восстановленных кофакторов. В результате исследования было показано, что образование некультивируемых форм исследуемых бактерий наблюдается на восьмые сутки их культивирования в присутствии ксенобиотика.

Введение

В ответ на стрессовые условия окружающей среды бактерии способны переходить в состояние покоя, характеризующееся резко сниженной метаболической активностью и временной потерей способности к размножению. В случае ряда грамположительных бактерий – это спорообразование, а у неспорообразующих – некультивируемое состояние (НС), по терминологии некоторых авторов – гипометаболическое состояние.

У грамотрицательных бактерий морфологически дифференцированные структурные образования, подобные эндоспорам бацилл, отсутствуют, однако накоплено уже достаточно данных, свидетельствующих о способности неспорообразующих бактерий к длительному существованию во внешней среде в виде клеток со значительно сниженной метаболической активностью, не обнаруживаемых традиционными методами лабораторного культивирования на питательных средах [1].

В настоящее время способность к переходу в некультивируемое состояние обнаружена у широкого круга грамотрицательных бактерий. НС было описано для таких родов, как: *Vibrio*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Bacillus* и других микроорганизмов.

Бактериальные клетки, переходя в некультивируемое состояние, могут уменьшаться в размерах, изменяться морфологически, у них активируются протеолитические ферменты, РНК и рибосомы подвергаются деградации. Уменьшение линейных размеров некультивируемых форм по сравнению с обычными клетками описано для *Campylobacter jejuni* [2], *Yersenia pseudotuberculosis* [3], *Bacillus subtilis* [4]. Клетки в некультивируемом состоянии, образующиеся, например, у дрожжей при азотном голодании, сохраняют метаболическую ак-

тивность, несмотря на присутствие морфологических изменений в ядре и цитоплазме [5]. В условиях недостатка или отсутствия кислорода для клеток *Mycobacterium tuberculosis* и *M. bovis* в некультивируемом состоянии характерна сильно утолщенная клеточная стенка, в особенности ее наружный слой [6].

Факторы внешней среды, индуцирующие переход бактерий в НС, весьма разнообразны. Наиболее изучены абиотические факторы: температура, концентрация солей, свет, аэрация, низкая концентрация питательных веществ или их отсутствие, наличие тяжелых металлов, а также таких биотических факторов как антибиотики.

Известно, что 2,4,6-тринитротолуол обладает широким спектром токсических эффектов, что предполагает наличие у него способности индуцировать некультивируемое состояние бактерий. В связи с этим в настоящей работе была предпринята попытка индуцировать некультивируемое состояние грамотрицательной бактерии *Acinetobacter lwoffii* JK 2,4,6-тринитротолуолом.

Постановка задачи

Объектом исследования служил штамм грамотрицательной бактерии *Acinetobacter lwoffii* JK – изолят из коллекции Медицинской Академии Республики Татарстан. В качестве индуктора некультивируемого состояния у исследуемого штамма использовали 2,4,6-тринитротолуол, ксенобиотик, известный своей токсичностью по отношению к бактериям [9, 10].

Инокулят выращивали в колбах на 100 мл на мясопептонном бульоне (МПБ) 16–18 ч при 30°C в условиях принудительной аэрации и вносили в среду до конечной концентрации $3.4 \cdot 10^7$ клеток/мл. Культивирование вели в аэрируемых условиях при 30°C в колбах на 250 мл, содержащих 60 мл синтетической среды следующего состава (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0.5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.25; NaCl – 0.5; глюкоза – 3.0; фосфатный буфер (0.2 М KH_2PO_4 / Na_2HPO_4 , pH 7.0) – 4% (об./об.) с ксенобиотиком (200 мг/л, опытный вариант) и без него (контрольный вариант). О способности культуры к росту судили по увеличению оптической плотности, измеряемой фотоколориметре КФК-2-УХЛ4.2 при длине волны 670 нм.

Каждые 24 часа количество живых (культивируемых) микроорганизмов определяли путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ). Для этого клеточную суспензию в соответствующем разведении высевали в 5–7-кратной повторности на чашки Петри с агаризованной мясопептонной средой и инкубировали при 30°C в течение 2 суток. Подсчет колоний производили в вариантах разведений, дающих не более 80 колоний на чашке. Данные выражали в виде средних величин с расчетом среднеквадратичных отклонений.

На 14, 21 и 28 сутки также производили оценку числа живых, жизнеспособных и мертвых клеток с использованием теста *Kogure*, основанного на положении, что живые клетки увеличиваются в размерах при добавлении богатого питательного субстрата в условиях одновременного блокирования репликации и деления [11]. Для этого образец, в котором присутствовали различные по жизнеспособности клетки, инкубировали 4 ч и 24 ч при 30°C в присутствии 250 мкг/мл дрожжевого экстракта и 20 мкг/мл налидиксовой кислоты. После инкубации каплю из суспензии фиксировали на предметном стекле формальдеги-

дом и окрашивали фуксином. Число различных по морфологии и чувствительности к окраске клеток регистрировали под микроскопом в 20 полях зрения и выражали в процентах по отношению к общему числу бактерий.

Количество окисленных и восстановленных кофакторов определяли спектрофлуориметрически [12, 13] на спектрофлуориметре “SIGNE – 4M” (г. Рига). Интенсивность флуоресценции суспензии одинакового количества клеток в физиологическом растворе измеряли на длине волны регистрации 460 нм (для восстановленных никотинамидадениндинуклеотидов) и 530 нм (для окисленных флавинадениндинуклеотидов) при длине волны возбуждения 340 нм. Предполагая, что интенсивность пика флуоресценции на длине волны 460 нм и 530 нм пропорциональна количеству восстановленных никотинамидадениндинуклеотидов и, соответственно, окисленных флавинадениндинуклеотидов, интенсивность флуоресценции в нулевой момент времени в контрольном опыте принимали за единицу, соответствующую, исходя из сказанного выше, единице количества исследуемых кофакторов.

Количество живых и жизнеспособных клеток оценивали методом окрашивания культуры пропидиум йодидом. Пропидиум йодид добавлялся к клеточной суспензии в концентрации 2.9 мкМ. После 10-минутной инкубации образцы центрифугировались и дважды отмывались в NaCl. Флуоресценция измерялась на спектрофлуориметре “SIGNE – 4M”, возбуждение и испускание измерялись при 495 и 615 нм соответственно. Результаты нормировались по оптической плотности при 680 нм и выражались в процентах [14].

Концентрацию глюкозы определяли ферментативным методом [15]. К 0.02 мл культуральной жидкости после осаждения клеток центрифугированием при 3500 г в течение 15 мин. добавляли 2 мл рабочего раствора (субстратно-ферментативная смесь, растворенная в буфере с фенолом). Пробирки инкубировали 15 мин. при 37°C, интенсивно встряхивая их через 5–10 мин. После окончания инкубации определяли оптическую плотность при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 3 мм против холостой пробы (рабочий раствор). Концентрацию глюкозы рассчитывали по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартного раствора глюкозы в диапазоне концентраций 5–50 мМ.

ТНТ определяли методом, основанным на его реакции с сульфитом натрия в щелочной среде [16]. К 5 мл культуральной жидкости после осаждения клеток центрифугированием при 3500 г в течение 15 мин. добавляли 20 мл дистиллированной воды и 0.5 г Na₂SO₃. Через 5 мин. добавляли 0.5 мл 8% раствора NaOH и тщательно перемешивали. Через 10 мин. измеряли оптическую плотность при 440 нм на фотометре КФК2УХЛ4.2 (кювета 10 мм). Концентрацию ТНТ рассчитывали по калибровочной кривой, построенной с использованием растворов ТНТ в диапазоне концентраций 20–200 мг/л. Эффективность трансформации ТНТ оценивали по убыванию концентрации ТНТ в культуральной жидкости.

Для интегральной оценки количества продуктов нитровосстановления (ПНВ) использовали способность альдегидов, в том числе и ароматических, взаимодействовать с восстановленными азотсодержащими соединениями [17].

Суммарное количество ПНВ определяли с помощью цветной реакции с *n*-диметиламинобензальдегидом по методике, описанной Наумовой с соавторами [18].

Суммарное количество ПНВ и нитритов оценивали в относительных единицах (отн. ед.), принимая за 1 отн. ед. значение оптической плотности (D_{420} при определении ПНВ и D_{530} – нитритов), соответствующее максимальному содержанию этих веществ в среде культивирования обоих штаммов.

Нитриты определяли по общепринятой методике с реактивом Грисса [19]. За одну относительную единицу принимали значение оптической плотности, соответствующее максимальному содержанию нитритов в среде культивирования обоих вариантов.

Результаты и обсуждение

1. Рост культуры и токсическое действие 2,4,6-тринитротолуола. Из данных, представленных на рис. 1 видно, что исследуемый штамм характеризуется медленным ростом и в стационарную фазу переходит только на четвертые сутки. ТНТ в концентрации 200 мг/л полностью подавляет его рост. Тем не менее, представлялось интересным оценить способность культуры элиминировать ТНТ.

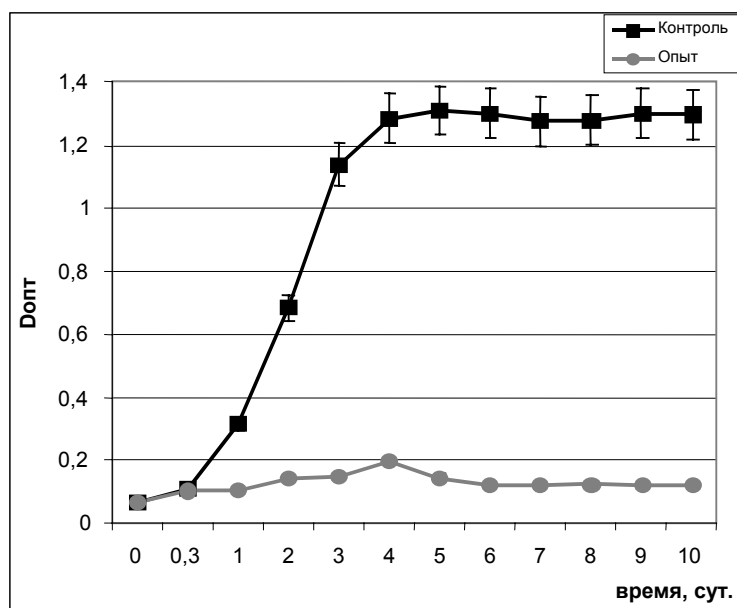


Рис. 1. Динамика роста клеток *A. lwoffii JK* на синтетической среде с ТНТ в концентрации 200 мг/л (опыт) и без него (контроль)

Из данных, представленных на рис. 2, следует, что, несмотря на подавление роста, исследуемый штамм *A. lwoffii JK* к 6-м суткам элиминировал ТНТ на 35% от начальной концентрации 200 мг/л.

Ранее мы показали, что в метаболической адаптации микроорганизмов к токсическому действию ксенобиотиков значительную роль играет смена ферментных систем детоксикации, после инактивации системы редукции подклю-

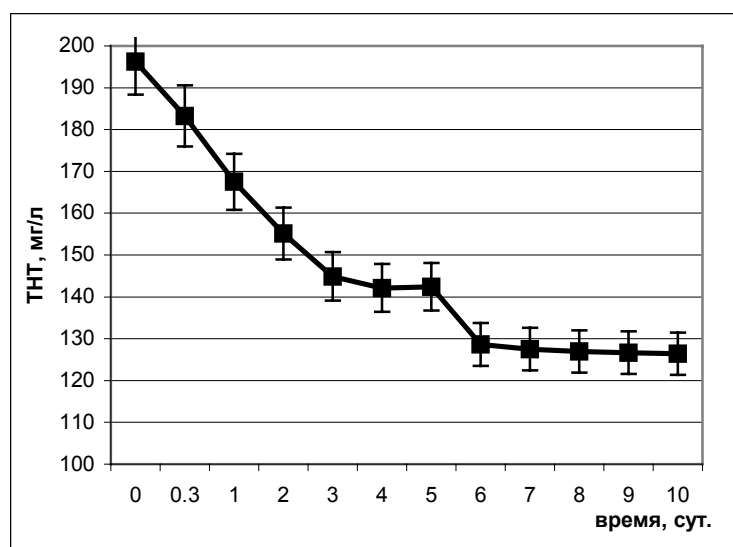


Рис. 2. Элиминация ТНТ (200 мг/л) *A. lwoffii JK* из среды культивирования

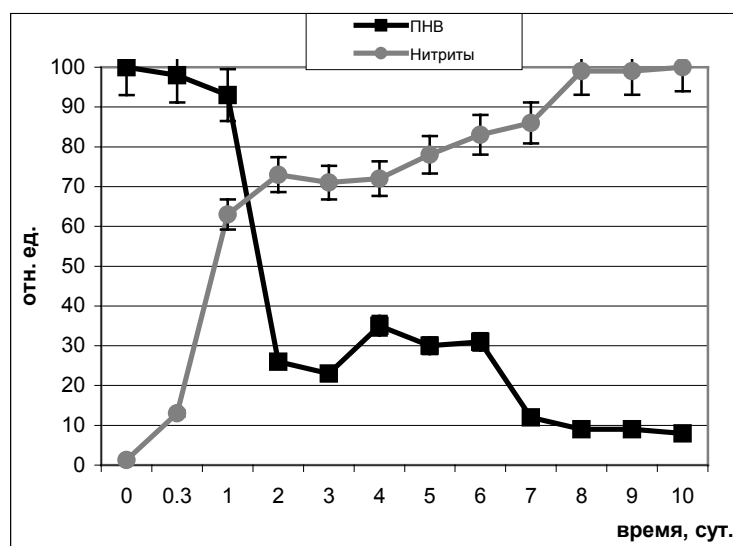


Рис. 3. Образование продуктов нитровосстановления и нитритов в процессе культивирования *A. lwoffii JK* на синтетической среде с ксенобиотиком (200 мг/л)

чается система денитритации. Причиной такой смены, по нашему мнению, могут быть кинетические различия ферментов систем, а также их чувствительность к инактивирующему действию ксенобиотика [20]. Основываясь на этом предположении и принимая во внимание токсическое действие ксенобиотика, мы определили особенности стратегии трансформации ТНТ *Acinetobacter lwoffii JK*, определив продукты начальных этапов трансформации – суммарное количество продуктов нитровосстановления и нитритов. Как видно из рис. 3, по истечении первых двух суток культивирования система редукции практиче-

ски полностью инактивировалась и происходило переключение стратегии трансформации ТНТ – подключение системы денитритации.

Таким образом, штамм *A. lwoffii* JK неспособен трансформировать ТНТ, используя только стратегию нитровосстановления ксенобиотика, что говорит в пользу сильного токсического пресса, оказываемого 2,4,6-тринитротолуолом.

2. Влияние ТНТ на образование восстановленных кофакторов. Известно, что восстановленный НАД (НАДФ) используется клеткой для образования ПНВ [21]. Однако нельзя исключить, что восстановленные флавиновые кофакторы также могут участвовать в этом процессе. Учитывая это, мы определили динамику образования восстановленных кофакторов (рис. 4) и окисленного ФАД (рис. 5), количество которого обратно пропорционально восстановленному. Из представленных данных видно, что в присутствии ТНТ количество восстановленных пиридин-нуклеотидов снижается. Что, вероятно, и является причиной использования кофакторов не только для жизнеобеспечения клеток, но и образования ПНВ. Примерно такая же динамика отмечена для окисленного ФАД, что свидетельствует об увеличении его восстановленной формы в клетках. Увеличение количества восстановленного ФАД, вероятнее всего, можно объяснить тем, что он не участвует в образовании ПНВ. Кроме того, нельзя исключить и возможности ингибирования ТНТ и продуктами его трансформации передачи водорода на хиноны дыхательной цепи.

3. Утилизация глюкозы. Так как глюкоза является основным источником энергообеспечения, в процессе которого образуются восстановленные кофакторы, используемые в том числе и для образования ПНВ в клетке, мы исследовали процесс потребления глюкозы, результаты которого представлены на рис. 6.

Acinetobacter lwoffii JK практически полностью использовал глюкозу из среды контрольного варианта в течение 7 суток культивирования.

В опытном варианте снижение концентрации глюкозы в среде происходило не столь интенсивно как в контроле, и к 8 суткам элиминация глюкозы из среды практически прекратилась.

В литературе имеются данные по ингибированию ключевых дегидрогеназ клетки ТНТ и продуктами его нитровосстановления [22, 23]. Для рода *Acinetobacter* характерно прямое окисление субстрата через пентозофосфатный путь [24, с. 314]. По-видимому, снижение эффективности утилизации глюкозы связано с накоплением в среде ПНВ, ингибирующих ключевой фермент пентозофосфатного пути – глюкозо-6-фосфатдегидрагеназу.

4. Определение живых и жизнеспособных (некультивируемых) клеток. Для доказательства токсичности ТНТ на клеточном уровне определили количество живых и жизнеспособных клеток:

- оценка количества колониеобразующих единиц (КОЕ) чашечным методом;
- окрашивание клеток пропидиум йодидом и фуксином;
- определение живых и жизнеспособных (некультивируемых) клеток в тесте Когуре.

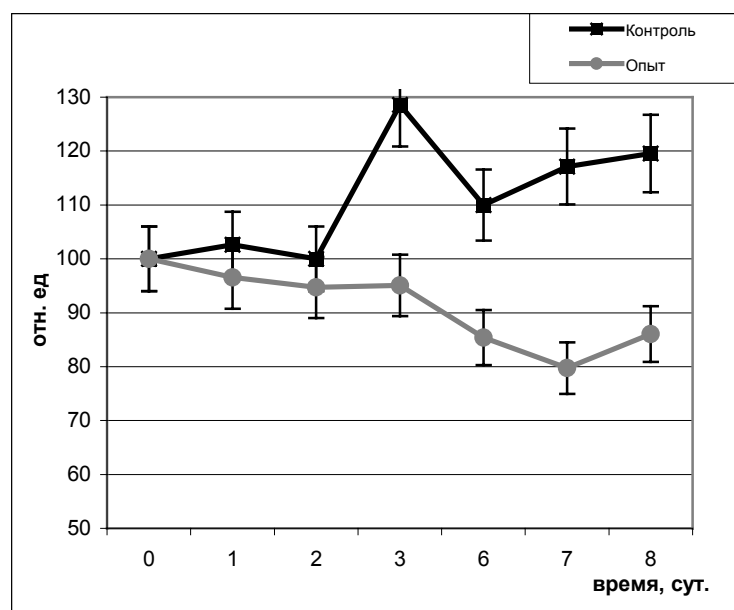


Рис. 4. Динамика образования восстановленного НАД культурой *A. lwoffii JK*

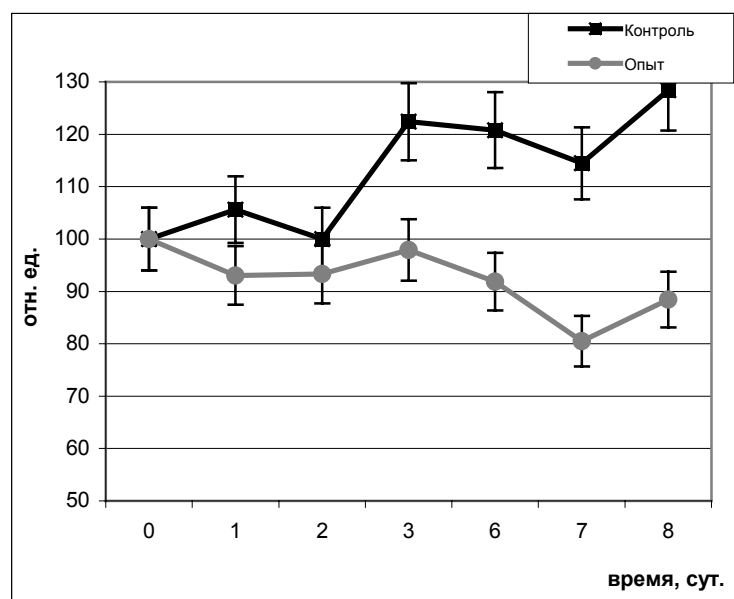


Рис. 5. Динамика образования окисленного ФАД культурой *A. lwoffii JK*

При высеве инокулята на чашки с плотной питательной средой уже на 3 сутки наблюдалось достоверное снижения числа КОЕ как в контрольном, так и в опытном вариантах (рис. 7). Начиная с 7 суток и до конца эксперимента, количество КОЕ в контрольном варианте держалось на одном уровне, тогда как в опыте оно практически равнялось нулю. Таким образом, можно сделать вывод, что уже на 8 сутки культура *A. lwoffii JK* на синтетической среде с ксенобиотиком перешла в некультивируемое состояние.

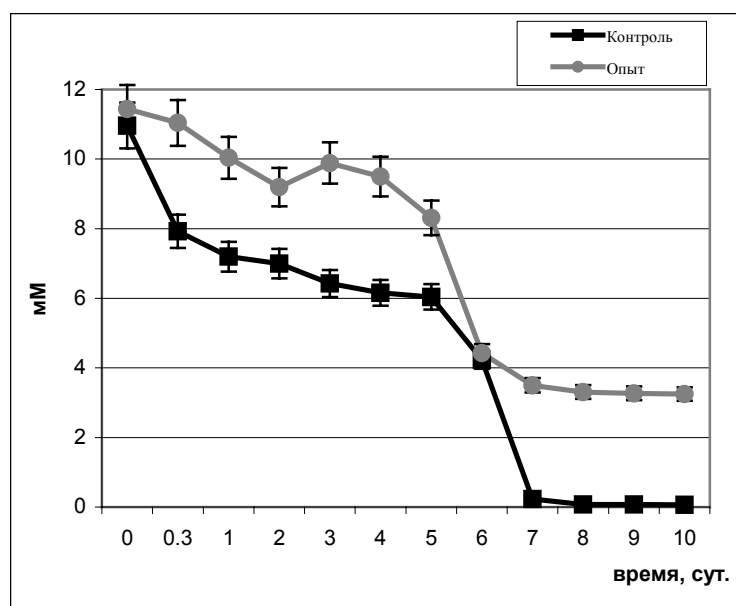


Рис. 6. Динамика утилизации глюкозы клетками *A. lwoffii JK* из синтетической среды с ТНТ в концентрации 200 мг/л (опыт) и без него (контроль)

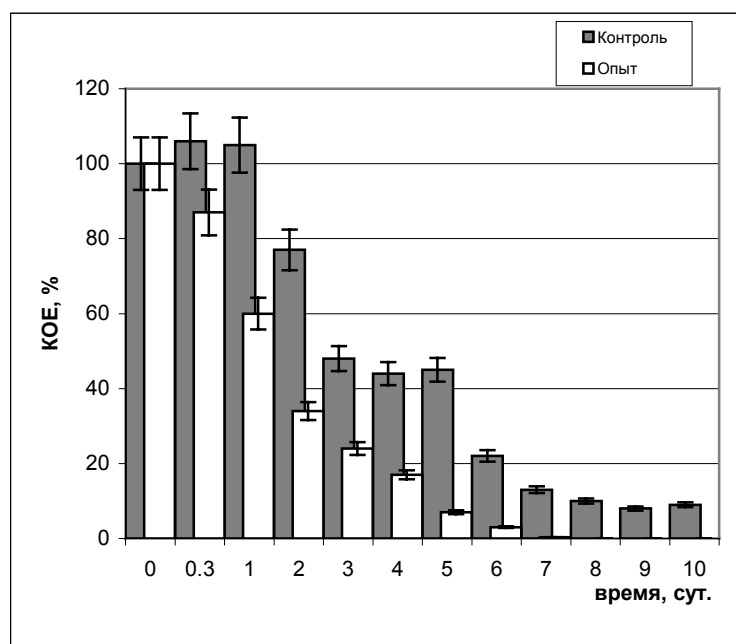


Рис. 7. Количество колониеобразующих единиц клеток *A. lwoffii JK*, высеянных из синтетической среды с ТНТ в концентрации 200 мг/л (опыт) и без него (контроль), и выросших на МПА. За 100% принимали количество КОЕ в нулевой момент времени

Принимая во внимание отсутствие КОЕ и окрашивание 40% клеток опытного варианта на 7–8 сутки культивирования (рис. 8), следует сделать вывод,

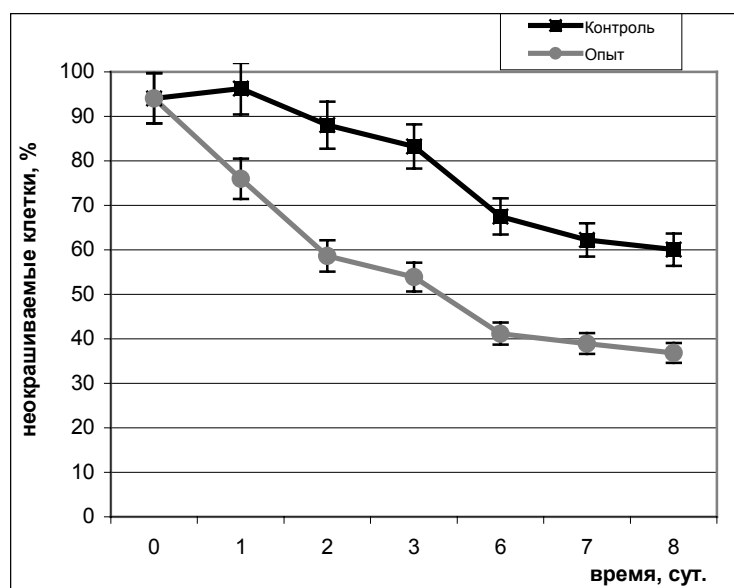


Рис. 8. Количество живых и жизнеспособных (неокрашиваемых пропидиум йодидом) клеток *A. lwoffii* JK в тесте на жизнеспособность

что неокрашиваемые клетки на этот срок наблюдения являются жизнеспособными, но некультивируемыми.

После перехода культуры в некультивируемое состояние для оценки жизнеспособности клеток использовали тест Когуре [11].

Табл. 1

Процентное содержание клеток в 14, 21 и 28-суточной суспензии *A. lwoffii* JK (тест Когуре)

Клетки, %	Время, сутки		
	14	21	28
Крупные клетки	60	7	0
Мелкие клетки	32	68	59
Мертвые клетки	8	25	41

Было отмечено, что на 14 сутки на внесение экзогенного питательного субстрата отвечало 60% клеток, при содержании мертвых и мелких клеток 8% и 32% соответственно (табл. 1). Мелкие клетки, не реагирующие на внесение питательного субстрата, не окрашивались фуксином, как окрашивались мертвые клетки в опыте, что подтверждает их жизнеспособность. На 21 сутки картина изменилась: количество мертвых клеток возросло в три раза, количество мелких – в два раза, в то время как количество крупных клеток снизилось с 60% до 7%. На 28 сутки количество мертвых и мелких клеток практически сравнялось, что свидетельствует о постепенном отмирании культуры и, следовательно, о постоянном токсическом давлении, оказываемом ксенобиотиком.

Оба метода оценки жизнеспособности культуры – окрашивание пропидиум йодидом и тест Когуре – показали наличие некультивируемых, но жизнеспособных клеток, начиная с 7–8 суток культивирования.

Таким образом, можно сделать вывод, что помимо прочих токсических эффектов в отношении микроорганизмов – генотоксичность и мутагенность [24], ингибирование ключевых ферментов утилизации глюкозы [22, 26], изменение морфологии клеток, увеличение удельной плотности клеток [27], увеличение проницаемости внешней липопротеидной мембраны [10] – 2,4,6-тринитротолуол способен приводить штамм *A. lwoffii* JK в жизнеспособное, но некультивируемое состояние уже на 8 сутки культивирования.

Summary

J.F. Kostytcheva, R.E. Davidov, B.M. Kurinenko. Induction of viable but nonculturable state of *Acinetobacter lwoffii* JK by 2,4,6-trinitrotoluene.

Dynamics of transformation of *Acinetobacter lwoffii* JK cells by cultivation under non-optimal conditions (with presence of xenobiotic 2,4,6-trinitrotoluene) into viable but nonculturable form has been studied. The transition of the culture to nonculturable state goes along with the estimation of the following parameters: counting colonies, measuring optical density, glucose utilization, xenobiotic elimination from the cultivation medium, appearance of the initial products of TNT transformation, dynamics of reduced cofactors. The transition of the culture to the nonculturable state has been shown on the 8th day of incubation with 2,4,6-trinitrotoluene.

Литература

1. Roszak D.B., Grimes D.J., Colwell R.R. Viable but nonrecoverable stage of *Salmonella enteritidis* in aquatic systems // Can. J. Microbiol. – 1984. – V. 30, No 3. – P. 334–338.
2. Bovill R.A., Mackey B.M. Resuscitation of 'non-culturable' cells from aged cultures of *Campylobacter jejuni* // Microbiol. – 1997. – V. 143. – P. 1575–1581.
3. Pushkareva V.I., Emel'ianenko E.N., Didenko L.V., Konstantinova N.D., Ponomareva L.V., Litvin V.I., Gintsburg A.L. Dormant forms of *Yersenia pseudotuberculosis* during interaction with green algae and their cometabolites // Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. – 1998. – No 5. – P. 9–13.
4. Kroos L., Zhang B., Ichikawa H., Yu Y.T. Control of sigma factor activity during *Bacillus subtilis* sporulation // Mol. Microbiol. – 1999. – V. 31. – P. 1285–9124.
5. Su S.S., Tanaka Y., Samejima I., Tanaka K., Yanagida M. A nitrogen starvation-induced dormant G0 state in fission yeast: the establishment from uncommitted G1 state and its delay for return to proliferation // J. Cell. Sci. – 1996. – V. 109. – P. 1347–1357.
6. Cunningham A.F., Spreadbury C.L. Mycobacterial stationary phase induced by low oxygen tension: cell wallthickening and localization of the 16-kilodalton alpha-crystallin homolog // J. Bacteriol. – 1998. – V. 180. – P. 801–808.
7. Votyakov T.V., Kaprelyants A.S., Kell D.B. Influence of viable cells on the resuscitation of dormant cells in *Micrococcus luteus* cultures held in an extend stationary phase. The population effect // Appl. Environ. Microbiol. – 1994. – V. 60. – P. 3284–3291.
8. Kaprelyants A.S., Mukamolova G.V., Kormer S.S., Weichart D.H., Young M., Kell D.B. Intercellular signalling and the multiplication of prokaryotes: bacterial cytokines // Microbial Signalling and Communication / Eds. R. England, G. Hobbs, N. Bainton, D. McL. Roberts. – Cambridge: Cambridge University Press, 1999. – P. 33–69.

9. Gorontzy T., Kuver J., Blotevogel K.-H. Microbial transformation of nitroaromatic compounds under anaerobic conditions // J. Gen. Microbiol. – 1993. – V. 139. – P. 1331–1336.
10. Куриненко Б.М., Дениварова Н.А., Яковлева Г.Ю. Чувствительность различных штаммов *Escherichia coli* к токсическому действию 2,4,6-тринитротолуола // Прикл. биохимия и микробиология. – 2005. – Т. 41, № 1. – С. 53–57.
11. Kogure K., Simudu U., Taga N. A tentative direct microscopic method for counting living marine bacteria // Can. J. Microbiol. – 1979. – V. 25. – P. 415–420.
12. Лукьянова Л.Д., Балмуханов Б.С., Уголев А.Т. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. – М.: Наука, 1982. – С. 300.
13. Harrison D.E.F., Chance B. Fluorimetric technique for monitoring changes in the level of reduced nicotinamide nucleotides in continuous cultures of microorganisms // Appl. Microbiol. – 1970. – V. 19, No 3. – P. 446–450.
14. Benito A., Ventoura G., Casadei M., Robinson T., Mackey D. Variation in resistance of natural isolates of *Escherichia coli* O157 to high hydrostatic pressure, mild heat, and other stresses // Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – V. 65, No 4. – P. 1564–1569.
15. Bergmeyer H.U., Bert E., Schmidt F. Methods of enzymatic analysis / Ed. H.U. Bergmeyer. – N. Y.: Acad. Press, 1974. – V. 3. – P. 1196.
16. Лурье Ю.Ю., Рыбников А.И. Химический анализ промышленных сточных вод. – М.: Химия, 1974. – С. 285–287.
17. Карпер П. Курс органической химии. – Л.: Хим. лит., 1962. – С. 204.
18. Наумова Р.П., Амерханова Н.Н., Золотухина Л.М. Превращение 2,4,6-тринитротолуола под действием микроорганизмов // Прикл. биохимия и микробиология. – 1983. – Т. 19, № 4. – С. 507–512.
19. Hanson R.S., Phillips J.A. Manual of methods for general bacteriology/ Eds. P. Gerhardt, R.G.E. Murray, R.N. Costilow. – Washington, D.C.: Amer. Soc. Microbiol. – 1981. – P. 328–364.
20. Куриненко Б.М., Яковлева Г.Ю., Дениварова Н.А., Абреимова Ю.В. Влияние токсических концентраций 2,4,6-тринитротолуола на физические свойства и морфологию клеток *Bacillus subtilis SK1* // Прикл. биохимия и микробиология. – 2003. – Т. 39, № 3. – С. 313–317.
21. Kalafut T., Wales M., Rastogi V., Naumova R., Zaripova S., Wild J.B. Biotransformation patterns of 2,4,6-trinitrotoluene by aerobic bacteria // Curr. Microbiol. – 1998. – V. 36, No 1. – P. 45–54.
22. Наумов А.В., Зарипова С.К., Суворова Е.С., Хамидуллина Э.Т., Боронин А.М., Вайлд Д., Наумова Р.П. Трансформация 2,4,6-тринитротолуола молочнокислыми бактериями с образованием гидроксиламино-динитротолуолов // Докл. РАН. – 1998. – Т. 361, № 2. – С. 264–267.
23. Наумов А.В., Суворова Е.С., Боронин А.М., Зарипова С.К., Наумова Р.П. Трансформация 2,4,6-тринитротолуола лактобациллами с образованием токсичных гидроксиламинопроизводных // Микробиология. – 1999. – Т. 68, № 1. – С. 65–71.
24. Медицинская микробиология. – М.: Гэотар Медицина, 1999. – 1183 с.
25. Каримова Н.С., Ильинская О.Н., Иванченко О.Б. Мутагенная активность 2,4,6-тринитротолуола: роль метаболизирующих ферментов // Генетика микроорганизмов. – 1994. – Т. 30, № 7. – С. 898–902.
26. Djerassi L. Hemolytic crisis in G6PD-deficient individuals in the occupational setting // Int. Arch. Occup. Environ. Health. – 1998. – V. 71. – P. 26–28.

27. Куриненко Б.М., Яковлева Г.Ю., Дениварова Н.А., Абреимова Ю.В. Особенности токсического эффекта 2,4,6-тринитротолуола в отношении *Bacillus subtilis SK1* // Прикл. биохимия и микробиология. – 2003. – Т. 39, № 2. – С. 194–198.

Поступила в редакцию
12.08.05

Костычева Юлия Фаридовна – аспирант кафедры микробиологии Казанского государственного университета.

E-mail: *Kostytcheva@mail.ru*

Давыдов Рустем Энверович – кандидат биологических наук, научный сотрудник НИЛ ИЭН кафедры микробиологии Казанского государственного университета.

Куриненко Борис Михайлович – доктор биологических наук, научный руководитель НИЛ ИЭН кафедры микробиологии Казанского государственного университета.

E-mail: *Boris.Kurinenko@ksu.ru*