МИКРОБИОЛОГИЯ, 2002, том 71, № 2, с. 194–199

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 579.8.047:577.113

ВЛИЯНИЕ АУТОИНДУКТОРОВ АНАБИОЗА БАКТЕРИЙ НА ГЕНОМ МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ

© 2002 г. О. Н. Ильинская*, А. И. Колпаков*, П. В. Зеленихин*, З. Ф. Круглова*, Б. Чойдаш**, Е. В. Дорошенко***, А. Л. Мулюкин***, Г. И. Эль-Регистан***

*Казанский государственный университет

**Монгольский государственный университет, Улан-Батор

***Институт микробиологии РАН, Москва

Поступила в редакцию 22.05.01 г.

В работе с использованием теста Эймса исследована мутагенная активность химических аналогов микробных аутоиндукторов анабиоза (ауторегуляторных факторов d_1 – дифференцировки) группы алкилоксибензолов (АОБ), биологической функцией которых является ингибирование клеточной пролиферации, повышение устойчивости клеток и индукция их перехода в анабиотическое состояние. АОБ, различающиеся гидрофобностью молекул – метилрезорцин (C_1-АОБ), гексилрезорцин (C_6-АОБ) и неалкилированный резорцин, взятый для сравнения, обладали разным ростингибирующим действием и мутагенным эффектом в диапазоне исследованных концентраций (0.1–100 мкг/мл). C_6-АОБ с выраженной ростингибирующей активностью индуцировал мутагенез в клетках *Salmonella typhimurium* TA100 (1.8 ревертантов/нмоль). Не влияющий или стимулирующий при низких дозах рост бактерий C_1-АОБ, напротив, оказывал антимутагенное действие. Неалкилированный резорцин практически не влиял на рост бактерий и обладал слабой мутагенной активностью. Установлено, что при действии возрастающих концентраций C_6-АОБ пропорционально величине ростингибирующего эффекта индуцировался переход клеток исходного фенотипа, дающего S-колонии, в R-формы. Обсуждается роль микробных ауторегуляторов (гомологов АОБ), обладающих функциями эндогенных мутагенов, в регуляции и сопряженности двух процессов – фенотипической диссоциации микробной популяции и образовании покоящихся форм, при прорастании которых реализуется свойство метастабильности вида. Возможно, накопление (повышение концентраций) в естественных условиях в стареющих микробных культурах алкилированных АОБ является эндогенным селекционным фактором, индуцирующим адаптивные мутации, которые обуславливают изменения экспрессии генов и индуцируют развитие минорных субпопуляций (фенотипов), обеспечивая адаптацию культур микроорганизмов к изменившимся условиям.

Ключевые слова: алкилоксибензолы, ростингибирующая активность, мутаген, геном, тест Эймса, фенотипическая диссоциация, сальмонелла.

Диссоциация микробной популяции на различающиеся фенотипическими признаками варианты (клоны, субпопуляции) как один из способов адаптации микроорганизмов к окружающим условиям и эволюционно выработанный механизм стабилизации и сохранения вида – хорошо известна [1, 2]. Причиной этого явления на генетическом уровне считают происходящие спонтанно внутригеномные рекомбинантные перестройки различных типов, которые относят к адаптивным мутациям [3]. Однако молекулярные механизмы проявления и регуляции фенотипической стабильности (вариабельности микроорганизмов) изучены недостаточно. Наш интерес к этой проблеме вызван обнаруженной нами ранее при работе с *Bacillus cereus*, штамм 504 (ВКМ) зависимости между "индукцией" (количественным увеличением) развития минорных субпопуляций (колониально-морфологических вариантов), проявляющейся при развитии покоящихся форм (ПФ), и уровнем внеклеточных аутоиндукторов анабиоза (факторов d_1), которые контролируют образование ПФ [4].

Вопрос, вытекающий из результатов, полученных в наших исследованиях, – повышается ли частота возникновения адаптивных мутаций у бактерий при переходе клеток в анабиотическое состояние, или геном покоящихся клеток сохраняется без модификаций, и они возникают при первой репликации ДНК во время прорастания покоящихся форм.

В последнее время накапливается все больше фактов, свидетельствующих о том, что мутации могут возникать в неделящихся, пролиферативно покоящихся, возможно анабиотических, клетках бактерий и животных. Предполагается существование нескольких возможных механизмов данного процесса. Считают, что изменения ДНК, вызванные действием эндогенных мутагенов, могут

обуславливать образование РНК-транскриптов с нарушенным кодом. Если последним удается инициировать репликацию ДНК, изменения ДНК реализуются в так называемые адаптивные мутации. Другой механизм проявляется как следствие ошибок полимеразы в ходе криптического синтеза ДНК, который в голодающих клетках бактерий может вызывать более значимое обновление ДНК, чем собственно ее дупликация [5]. Криптический синтез ДНК в этой версии рассматривают как источник вариабельности генетического материала для последующей реализации.

Показано, что фракции ди- и триоксиалкилбензолов из растений могут вызывать Cu(II)-зависимое расщепление ДНК, усиливающееся с увеличением длины алкильного радикала АОБ. Расщепление ДНК 5-алкилрезорцинами (группа АОБ), вероятно, включает начальное окисление бензольного кольца, – процесс, который протекает в щелочной среде в присутствии Cu^{2+} и O_2. Образующиеся модифицированные триоксиалкилбензолы опосредованно приводят к расщеплению ДНК в реакции, включающей восстановление Cu^{2+} оксибензольными единицами в составе алкилированных соединений с соответствующим образованием активных видов кислорода. Каталаза предотвращает разрывы цепи ДНК [6].

В то же время алкилрезорцины проявляют антиоксидантные, а значит, и антимутагенные свойства, причем эффективность их действия в липосомных системах впрямую зависит от длины алкильной цепи [7]. Гидроксильная группа бензольного кольца является первичной мишенью для изъятия водорода после образования свободного радикала. Однако углеродная боковая цепь также может вносить свой вклад в антиоксидантные свойства алкилрезорцинов. Образование радикала при кислороде гидроксила инициирует изменение электронной плотности, которое дестабилизирует всю систему и соответственно приводит к окислению бензольного кольца [7].

Таким образом, одно и то же свойство алкилрезорцинов поставлять водород гидроксила для взаимодействия со свободными радикалами может привести либо к затуханию свободнорадикальных реакций вследствие перераспределения электронной плотности по всей молекуле, либо к их активации при связывании с медью кислорода гидроксильной группы алкилрезорцина.

Так как аутоиндукторы анабиоза, представленные у ряда бактерий и дрожжей алкилоксибензолами (АОБ), в том числе алкилрезорцинами [8, 9], накапливаются в покоящихся формах микроорганизмов [10, 11], при прорастании которых реализуется способность популяции к фенотипической диссоциации, то нельзя исключить их непосредственного мутагенного воздействия на генетический материал клетки.

Следовательно, вопрос о мутационных изменениях ДНК, индуцированных действием АОБ, различающихся гидрофобностью их молекул (длиной алкильного радикала), может быть решен только экспериментально. Так как в развивающейся микробной культуре АОБ (аутоиндукторы анабиоза) представлены смесью изомеров и гомологов АОБ [8, 11], в настоящей работе для исследования были выбраны химически синтезированные аналоги микробных ауторегуляторов – АОБ, различающиеся длиной алкильного радикала, в сравнении с неалкилированным резорцином. Целью работы явилось выяснение возможности модификации генома бактерий под действием возрастающих концентраций химических аналогов аутоиндукторов анабиоза бактерий при переходе клеток в пролиферативно покоящееся состояние.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве химических аналогов ауторегуляторных факторов d_1 бактерий использовали – C_6-алкилоксибензол (C_6-АОБ, M = 196) и C_1-алкилоксибензол (C_1-АОБ, M = 124) со степенью очистки 99.9%, а также взятый для сравнения неалкилированный резорцин (M = 112, производство "Химреактив", Москва) высокой степени очистки. Вещества растворяли в диметилсульфоксиде, конечная концентрация растворителя в среде опытных и контрольных вариантов не превышала 3%.

Ростингибирующую активность исследуемых веществ оценивали по их влиянию на развитие тестерного штамма *Salmonella typhimurium* TA100 (*his*G46, *rfa*, Δ*uvr*B, *pKM101*, предоставленного ВНИИ по БИХС, Купавна) на жидкой (МПБ) и агаризованной (МПА) средах в сравнении с ростом на контрольной среде без добавления АОБ. Штамм позволяет регистрировать мутации как замены пар оснований, так и сдвига рамки считывания гена. Методически в одном варианте тестирование проводили с использованием полужидкого агара, когда 0.1 мл раствора исследуемого вещества с исходными концентрациями 3000, 300 и 30 мкг/мл вносили в пробирку с 2.9 мл 0.8%-ного питательного агара, содержащего культуру бактерий фазы экспоненциального роста, перемешивали и затем наслаивали на твердый 2%-ный мясопептонный агар (МПА) в чашках Петри. Другой вариант теста включал высев на МПА культуры, выросшей в жидкой среде, содержащей соответствующие количества исследуемых веществ. О показателях роста судили по числу колониеобразующих единиц (КОЕ) в клеточной суспензии.

Генотоксическое действие АОБ выявляли в стандартном тесте Эймса без метаболической активации [12]. Тестируемое вещество полагали мутагенным, если регистрировали превышение частоты

Таблица 1. Влияние алкилоксибензолов на рост бактерий *S. typhimurium* TA100 на агаризованной питательной среде

Соединение, мкг/мл	Число колониеобразующих единиц $\times 10^6$/мл (% жизнеспособных по сравнению с контролем)
Контроль	409 ± 17 (100)
Гексилрезорцин	
100	0*
10	12 ± 3 (2.9)*
1	184 ± 13 (45.0)*
Метилрезорцин	
100	330 ± 5 (80.7)*
10	435 ± 15 (106.3)*
1	392 ± 17 (95.8)*

* Достоверно отличается от контроля ($p < 0.001$).

возникновения ревертантов над спонтанным фоном в 2 раза и более. Силу мутагена рассчитывали как отношение числа колоний ревертантов к концентрации вещества на прямом отрезке графика зависимости числа индуцируемых ревертантов от концентрации тестируемого соединения. Позитивным контролем служил известный мутаген N-метил-N'-нитрозомочевина производства фирмы "Sigma" (10 мкг/чашку).

Статистический анализ проводили с использованием стандартных математических методов (*t*-теста Стьюдента) в программе Microsoft Excel-2000. Критерий вероятности $P < 0.05$ принимали достаточным для достоверной разницы опытной и контрольной групп данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Факторы d_1 микроорганизмов, представленные у некоторых бактерий и дрожжей алкилоксибензолами (АОБ), обладают функциями аутоингибиторов роста (плотностных факторов). Когда их количество в развивающейся культуре достигает порогового уровня, они лимитируют рост численности популяции, а при дальнейшем повышении концентрации – индуцируют переход клеток в анабиотическое состояние [8–12]. Поэтому для корректной оценки возможного влияния химических аналогов факторов d_1 на геном клетки в стандартном тесте Эймса первоначально необходимо было определить интервал концентраций АОБ, в которых их ростингибирующая активность ("токсичность") не перекрывала бы прогнозируемый мутагенный эффект. В табл. 1 представлены данные стандартного анализа сохранения пролиферативной способности бактерии *Salmonella typhimurium* в присутствии химических аналогов фактора d_1 – C_6-АОБ и C_1-АОБ. В опытах оценивали число колониеобразующих единиц (КОЕ) при росте тест-культуры на агаризованной среде. Как следует из полученных результатов, C_6-АОБ обладал существенно большим ингибиторным эффектом по сравнению с C_1-АОБ. Согласно Марон и Эймсу, использование высоких концентраций анализуемых веществ, подавляющих колониеобразующую способность (КОЕ ≤ 3%), не позволяет достоверно выявить мутагенный эффект [12]. Поэтому в наших исследованиях действие C_1-АОБ могло быть обнаружено при любых исследуемых концентрациях, а эффект C_6-АОБ – только при концентрациях менее 10 мкг/мл (~5×10^{-6} М).

Ростингибирующую активность исследуемых АОБ, а также коммерческого препарата резорцина, не имеющего алкильного радикала и взятого нами для сравнения, определяли также с использованием другого теста – при внесении АОБ в жидкую среду роста бактерий (МПБ) вместе с инокулятом. После 5 ч роста бактерий в стандартных условиях число клеток, способных к пролиферации, определяли при высеве аликвот погруженных культур на плотную среду. Результаты этих опытов представлены в табл. 2. При непосредственном высеве бактерий, выращенных в присутствии 5 и 50 мкг C_6-АОБ, на плотную среду пролиферативной способностью обладали около 3% клеток (в сравнении с контролем). В этих концентрациях C_1-АОБ, равно как и неалкилированный резорцин, практически не оказывал влияния на рост сальмонелл в погруженной культуре.

Особого внимания заслуживает тот факт, что при действии возрастающих концентраций алкилоксибензолов (особенно C_6-АОБ) пропорционально величине ростингибирующего эффекта индуцировался переход клеток исходного фенотипа, дающего на плотных средах гладкие, слизистые, полупрозрачные, округлые колонии S-типа, в R-формы, образующие шероховатые, тусклые, сухие колонии (табл. 2). Так, практически все бактерии, росшие при высокой концентрации C_6-АОБ (50 мкг/мл), давали колонии R-типа. Влияние C_6-АОБ на смену фенотипов сальмонелл тем более интересно, что популяционная вариабельность связана с токсикогенностью этих бактерий. Обычно клетки субпопуляции, дающей колонии R-типа, не вирулентны и, как правило, не выделяются из клинических образцов [13].

В следующем блоке экспериментов, центральном для данной работы, было установленно, что индивидуальные алкилоксибензолы влияют на уровень мутирования в тесте Эймса (рисунок). Мутагенным эффектом, регистрируемым по двойному и более превышению числа колоний-ревертантов по гистидину над спонтанным фоном реверсий, обладали C_6-АОБ и неалкилированный резорцин. Высокая ростингибирующая активность C_6-АОБ нивелировала регистрируемое мутагенное дейст-

Таблица 2. Влияние алкилоксибензолов на пролиферативную способность клеток погруженной культуры *S. typhimurium* TA100

Соединение, мкг/мл	Число колониеобразующих единиц $\times 10^6$/мл (% жизнеспособных по сравнению с контролем)	Число R-колоний $\times 10^6$/мл (% от общего числа колоний в соответствующем варианте)
Контроль	1196 ± 43 (100)	32 ± 4 (2.7)
Гексилрезорцин		
50	35 ± 5 (2.6)*	27 ± 4 (85.7)
5	33 ± 3 (2.7)*	6 ± 1 (18.5)
Метилрезорцин		
50	1120 ± 19 (99.1)	47 ± 6 (4.2)
5	1268 ± 28 (106.0)	26 ± 5 (2.1)
Резорцин		
50	920 ± 22 (76.9)	2 ± 1 (0.2)
5	992 ± 37 (82.9)	5 ± 1 (0.5)

* Достоверно отличается от контроля ($p < 0.01$).

вие в области концентраций свыше 3 мкг/мл, в то время как практически не влияющий на рост бактерий резорцин продемонстрировал превышение числа ревертантов над их спонтанным фоном при всех исследуемых концентрациях. Мутагенный эффект резорцина, показанный в тесте Эймса, описан раннее в тестах по индукции хромосомных аберраций в растительных клетках и сестринских хроматидных обменах в клетках костного мозга крыс *in vivo* [14]. Интересно отметить, что не влияющий на рост в исследуемых концентрациях C_1-АОБ совершенно не обладал мутагенной активностью в наших экспериментах. Более того, полученные нами данные подтверждают установленный раннее антимутагенный эффект этого вещества по отношению к бензапирену и γ-радиации в тестах по индукции генных мутаций в клетках сирийского хомячка V-79 и индукции микроядер в ретикулоцитах костного мозга мышей [15]. Таким образом, исследованные алкилоксибензолы обладают слабым мутагенным эффектом: в исследованном диапазоне концентраций для C_6-АОБ – 1.8 ревертантов/нмоль, резорцина – 0.7 ревертантов/нмоль. Для сравнения: сила известных мутагенов 2-нафтиламина, 1-нитропирена и афлатоксина B1 соответственно равна 8.5; 453; 1057 ревертантов/нмоль [16].

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено, что алкилоксибензолы, входящие в активное начало ауторегуляторных факторов d_1 бактерий, в зависимости от гидрофобности их молекул и концентрации могут индуцировать возникновение мутаций как типа замены пар оснований, так и сдвига рамки считывания гена, что выявляется в использованном нами тесте Эймса [12].

Выраженным мутагенным эффектом (хотя и слабым) обладал C_6-АОБ, который как следует из его химической структуры, имеет функциональность как интеркалирующего, так и алкилирующего агента. В концентрациях выше 3 мкг/мл его мутагенное действие не выявлялось, что может быть обусловлено как ростингибирующей активностью C_6-АОБ, так и его протекторным действием против собственного воздействия. Защитная функция C_6-АОБ была показана нами ранее для клеток культуры *ras*-трансформированных фибробластов мыши, подвергаемых воздействию генотоксических концентраций РНКазы или этанола (5%) [17]. Изложенные доводы согла-

Индукция образования колоний ревертантов алкилрезорцинами в тесте Эймса: *1* – гексилрезорцином; *2* – метилрезорцином; *3* – резорцином. Спонтанный фон мутирования показан пунктиром.

суются с имеющимися в литературе данными о стабилизации ДНК микробными метаболитами (неустановленной структуры), обеспечивающими ее метаболическую инактивацию и устойчивость при переходе клеток в покоящееся состояние [18]. Также предполагается, что накопление в голодающей культуре такого рода соединений (с ауторегуляторной активностью) приводит к уменьшению частоты спонтанных реверсий по мере повышения плотности популяции у ауксотрофного по гистидину штамма *S. typhimurium*, штамм BA13 [19]. В отличие от C_6-АОБ менее гидрофобный C_1-АОБ во всем диапазоне исследованных концентраций не проявлял антимутагенную активность. В то же время резорцин, не имеющий алкильного радикала и обладающий только действием интеркалятора, проявлял мутагенную активность, хотя и слабую. Результаты наших исследований не противоречат приведенным выше сведениям о различиях в физико-химических взаимодействиях разных гомологов АОБ с нуклеиновыми структурами клетки, что может обуславливать различающиеся эффекты воздействия АОБ.

Подчеркнем, что обнаруженное в настоящей работе действие алкилоксибензолов на фенотипическую стабильность сальмонелл не является видоспецифичным. Нами обнаружено, что как природные ауторегуляторы анабиоза (факторы d_1), так и их химические аналоги влияют на диссоциативнную способность микробных культур, в частности *Bacillus cereus* [4] и *Staphylococcus aureus* [20]. Действие АОБ на метастабильность вида реализуется через выщепление минорных вариантов (клонов, серотипов, субпопуляций), замещающих доминантный тип. Диссоциация культуры в этих случаях обнаруживается при прорастании покоящихся форм [4], образование которых контролируется повышающимися концентрациями факторов d_1 (АОБ) в развивающихся микробных культурах [10, 11].

Мутационная природа фенотипической диссоциации микроорганизмов обсуждалась во многих оригинальных работах и обзорах [1–4]. Согласно современным представлениям популяционная вариабельность бактерий обусловлена процессами внутригеномной рекомбинации генетического материала клетки [3]. Однако неясно, что индуцирует эти генетические перестройки, которые можно отнести к мутационным изменениям особого типа, возникающим с высокой частотой (10^{-2}–10^{-4} на клеточную генерацию), спонтанным и высоко ревертабельным. Полученные нами данные акцентируют внимание на той роли, которую играют микробные ауторегуляторы анабиоза (алкилоксибензолы) в метастабильности вида, а также на сопряженности обоих контролируемых АОБ процессов: развития и поддержания покоя и фенотипической диссоциации микробной популяции.

Мутагенные свойства АОБ, по-видимому, должны также учитываться при объяснении механизмов такого явления, как возрастная изменчивость микроорганизмов. Увеличение удельной доли минорных вариантов (фенотипов) в развивающейся культуре микроорганизмов с максимумом их в стационарной фазе (пролиферативно покоящиеся клетки) было впервые описано Красильниковым при наблюдении за стрептомицетами [21] и затем подтверждалось другими авторами для микроорганизмов разных таксонов. Мы полагаем, что отмеченные возрастные изменения в проявлении популяционной вариабельности микроорганизмов, показанные нами также у *Bacillus cereus* [4], могут быть обусловлены закономерным возрастанием в развивающихся культурах микроорганизмов концентрации факторов d_1 (АОБ), обладающих функциями аутоингибиторов роста и мутагенной активностью. Это, как показано в данной работе, сопряжено с фазовой сменой фенотипов бактерий (S ⟵⟶ R). Возможно, пороговые количества АОБ (гомолога с мутагенной активностью), накапливающихся в естественных условиях в стареющей культуре микроорганизмов, индуцируют адаптивные перестройки генетического материала (мутации), необходимые для развития группы клеток с измененной экспрессией генов (другой фенотип) и более адекватными реакциями на изменившиеся условия. Возможная наследственная закрепленность таких мутаций предполагается высоким процентом реверсий к исходному фенотипу и является одним из механизмов стабилизации и сохранения вида в пределах нормы его реакций на изменения окружающих условий.

Работа выполнена благодаря финансовой поддержке грантов "Университеты России – фундаментальные исследования", № 015.11.01.13 и РФФИ, № 01-04-48771.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Головлев Е.Л.* Метастабильность фенотипа у бактерий // Микробиология. 1998. Т. 67. № 2. С. 149–155.
2. *Милько Е.С., Егоров Н.С.* Гетерогенность популяции бактерий и процесс диссоциации. М.: Изд-во МГУ, 1991. С. 143.
3. *Прозоров А.А.* Рекомбинантные перестройки генома бактерий и адаптация к среде обитания // Микробиология. 2001. Т. 70. № 5. С. 581–594.
4. *Дорошенко Е.В., Лойко Н.Г., Ильинская О.Н., Колпаков А.И., Горнова И.Б., Климанова Е.В., Эль-Регистан Г.И.* Характеристика диссоциантов *Bacillus cereus* // Микробиология. 2001. Т. 70. № 6. С. 811–819.
5. *Bridges B.A.* DNA turnover and mutation in resting cells // Bioessays. 1997. V. 19. № 4. P. 347–352.
6. *Singh U.S., Scannell R.T., An H.Y., Carter B.J., Hecht S.M.* DNA cleavage by di- and tryhydroxyalkyl-

benzenes. Characterization of products and the roles of O_2, Cu(II) and alkali // J. Amer. Chem. Soc. 1995. V. 117. № 51. P. 12691–12699.

7. *Hladyszowski J., Zubik L., Kozubek A.* Quantum mechanical and experimental oxidation studies of pentadecylresorcinol, olivetol, orcinol and resorcinol // Free Radic. Res. 1998. V. 28. № 4. P. 359–368.

8. *Осипов Г.А., Эль-Регистан Г.И., Светличный В.А., Козлова А.Н., Дуда В.И., Капрельянц А.С., Помазанов В.В.* О химической природе ауторегуляторного фактора d_1 *Pseudomonas carboxydoflava* // Микробиология. 1985. Т. 54. Вып. 2. С. 186–190.

9. *Батраков С.Г., Эль-Регистан Г.И., Придачина Н.Н., Ненашева В.А., Козлова А.Н., Грязнова М.Н., Золотарева И.Н.* Тиразол – ауторегуляторный фактор d_1 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Микробиология. 1993. Т. 62. Вып. 4. С. 633–638.

10. *Светличный В.А., Романова А.К., Эль-Регистан Г.И.* Изучение содержания мембраноактивных ауторегуляторов при литоавтотрофном росте *Pseudomonas carboxydoflava* // Микробиология. 1986. Т. 55. Вып. 1. С. 55–59.

11. *Мулюкин А.Л., Козлова А.Н., Капрельянц А.С., Эль-Регистан Г.И.* Обнаружение и изучение динамики накопления ауторегуляторного фактора d_1 в культуральной жидкости и клетках *Micrococcus luteus* // Микробиология. 1996. Т. 65. Вып. 1. С. 20–25.

12. *Maron M., Ames B.N.* Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test // Mut. Res. 1983. V. 113. P. 173–215.

13. Медицинская микробиология / Под ред. Покровского В.И., Поздеева О.К. М.: ГЕОТАР Медицина, 1998. С. 344–416.

14. Каталог химических мутагенов. Свердловск: УР отд. АН СССР, 1990. Т. 2. С. 626–628

15. *Pashin Iu.V., Bakhitova L.M., Bantkhen T.I.* Experimental study of the antimutagenic proprties of 5-methylresorcinol // Bull. Eksp. Biol. Med., 1985. V. 100. ISS 7. P. 63–65

16. *Zeiger E., Anderson B., Haworth S., Lawlor T., Morteimans K. Salmonella* mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals // Environ. Mol. Mut. 1988. Suppl. 12. P. 1–158

17. *Ильинская О.Н., Колпаков А.И., Мулюкин А.Л., Дрейр Ф., Эль-Регистан Г.И.* Влияние мембраноактивных микробных ауторегуляторов на рост культуры *ras*-трансформированных фибробластов // Прикл. биохимия и микробиология. 2000. Т. 62. № 5. С. 475–480.

18. *Siegele D.A., Kolter R.* Life after log // J. Bacteriol. 1992. V. 174. № 2. P. 345–348.

19. *Бабынин Э.В., Гизатуллин Ф.Ш.* Анализ зависимости частоты возникновения His^+-реверсий у *Salmonella typhimurium* от плотности клеточной популяции // Генетика. 1997. Т. 33. № 9. С. 1215–1220.

20. *Ильинская О.Н., Колпаков А.И., Шмидт М.А., Дорошенко Е.В., Мулюкин А.Л., Эль-Регистан Г.И.* Роль бактериальных ауторегуляторов роста группы алкилоксибензолов в ответе стафилококков на стрессовые воздействия // Микробиология. 2002. Т. 71. № 1. С. 15–20.

21. *Красильников Н.А.* Микроорганизмы и плодородие почв // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1954. № 2. С. 14–39.

The Effect of Anabiosis Autoinducers on the Bacterial Genome

O. N. Il'inskaya*, A. I. Kolpakov*, P. V. Zelenikhin*, Z. F. Kruglova*, B. Choidash, E. V. Doroshenko***, A. L. Mulyukin***, and G. I. El'-Registan*****

**Kazan State University, ul. Kremlevskaya 18, Kazan, 420008 Russia*

***Mongolian State University, Ulaanbaatar, Mongolia*

****Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, pr. 60-letiya Oktyabrya 7, k. 2, Moscow, 117312 Russia*

Abstract—The mutagenic activity of chemical analogues of microbial anabiosis autoinducers (the autoregulatory d_1 factors of cell differentiation), which act to inhibit cell proliferation, to enhance cell tolerance, and to induce the transition of cells to anabiotic state, was studied using the Ames test. In the range of concentrations studied (0.1 to 100 μg/ml), alkyl-substituted hydroxybenzenes (AHBs) differing in hydrophobicity, i.e., methylresorcinol (C_1-AHB) and hexylresorcinol (C_6-AHB), as well as unsubstituted resorcinol, showed different growth-inhibiting and mutagenic effects. C_6-AHB was found to inhibit the growth of *Salmonella typhimurium* TA100 and to induce its mutagenesis at a rate of 1.8 revertants/nmol. C_1-AHB taken at low concentrations not only failed to inhibit bacterial growth but even stimulated it and exerted an antimutagenic effect. Unsubstituted resorcinol virtually did not influence bacterial growth and showed weak mutagenic activity. The growth-inhibiting effect of elevated C_6-AHB concentrations correlated with the degree of the transition of the original phenotype producing S-type colonies to a phenotype producing R-type colonies. The role of AHB homologues, as microbial autoregulators with mutagenic activity, in the regulation and correlation of two processes (the phenotypic dissociation of microbial populations and the formation of resting microbial forms) is discussed. The accumulation of AHBs in senescent microbial cultures may induce adaptive mutations, change the expression of genes, and promote the development of minor cell subpopulations (phenotypes), thus providing for the adaptation of these cultures to varying environmental conditions.

Key words: alkyl hydroxybenzenes, growth-inhibiting activity, mutagen, genome, Ames test, phenotypic dissociation, *Salmonella*.