

ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМ РЕСТРИКЦИИ И МОДИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ *ERWINIA HERBICOLA*

Ранее с помощью вирулентных фагов Erh14 и Erh16 у штаммов бактерий *E. herbicola* было обнаружено наличие систем рестрикции [1].

В представляемой работе приводятся результаты их первичной характеристики.

Материал и методика

В работе использовали штаммы *E. herbicola* ЕН-103 (получен из Национальной коллекции фитопатогенных бактерий, США); *E. herbicola* G-150 (получен из Отдела сельского хозяйства и рыбоводства, Шотландия), а также 10 штаммов *E. herbicola*, у которых ранее [1] были выявлены системы рестрикции.

Методы культивирования бактерий и определения эффективности посева фагов описаны ранее [1, 2].

Рестрикционно-дефектные мутанты *E. herbicola* получали путем обработки клеток N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидином в концентрации 50 мкг/мл в цитратном буфере [3], ацетатном буфере [4], полноценной жидкой питательной среде [5] и в фосфатном буфере [6].

Фенотипы мутантов устанавливали путем определения эффективности посевов соответствующих фагов [7].

Результаты и их обсуждение

Данные экспериментов (табл. 1) свидетельствуют о том, что системы рестрикции и модификации (РМ-системы) исследуемых штаммов различаются. Так, клетки штаммов *E. herbicola* 30/1, 39/1, 42/2 и 43/8, по-видимому, обладают идентичными РМ-системами, поскольку эффективность посева фага Erh16 при перекрестных посевах на этих штаммах равна 1, тогда как бактерии штаммов *E. herbicola* 37/13 и 37/15 ограничивают репродукцию данного фага, размноженного в клетках указанных четырех штаммов. В бактериях штамма 39/3 репродукция фага Erh16, модифицированного клетками перечисленных шести штаммов, также ограничивается, что указывает на различие их РМ-систем. Штамм *E. herbicola* ЕН-103 также обладает РМ-системой, так как клетки данного штамма ограничивают репродукцию фага Erh16, модифицированного клетками штаммов 30/1, 39/1, 42/2 и 43/8. Таким образом, с помощью фага Erh16 в клетках *E. herbicola* идентифицированы четыре различные системы рестрикции и модификации.

Таблица 1

Эффективность посева фага Erh16 на штаммах бактерий-хозяев

Фаг	Эффективность посева фагов на штаммах							
	ЕН-103	30/1	37/13	37/15	39/1	39/3	42/2	43/8
Erh16(ЕН-103)*	1,0	$6 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$
Erh16(30/1)	$8 \cdot 10^{-3}$	1,0	$3 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-6}$	1,0	$6 \cdot 10^{-3}$	1,0	1,0
Erh16(37/13)	1,0	$1 \cdot 10^{-3}$	1,0	1,0	$2 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$
Erh16(37/15)	1,0	$2 \cdot 10^{-3}$	1,0	1,0	$2 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-9}$
Erh16(39/1)	$9 \cdot 10^{-3}$	1,0	$9 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-6}$	1,0	$3 \cdot 10^{-5}$	1,0	1,0
Erh16(39/3)	1,0	$9 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-1}$	$5 \cdot 10^{-1}$	$7 \cdot 10^{-4}$	1,0	$7 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$
Erh16(42/2)	$7 \cdot 10^{-3}$	1,0	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5}$	1,0	$6 \cdot 10^{-5}$	1,0	1,0
Erh16(43/8)	$7 \cdot 10^{-3}$	1,0	$9 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	1,0	$9 \cdot 10^{-5}$	1,0	1,0

* Здесь и далее в скобках указывается номер штамма, на котором предварительно репродуцировался данный фаг.

Сходные данные (табл. 2) получены в опытах с фагом Erh14, репродукция которого ограничивается бактериальными штаммами *E. herbicola* 9/3, 9/5, 9/9 и G-150. Анализ результатов, приведенных в табл. 2, позволяет утверждать, что у исследованных в данных экспериментах четырех штаммов *E. herbicola* имеются две различные РМ-системы.

Таблица 2

Эффективность посева фага Erh14
на различных штаммах бактерий-хозяев

Фаг	Эффективность посева фагов на штаммах				
	ЕН-103	G-150	9/3	9/5	9/9
Erh14(ЕН-103)	1,0	$6 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-5}$
Erh14(G-150)	1,0	1,0	1,0	$4 \cdot 10^{-3}$	1,0
Erh14(9/3)	1,0	1,0	1,0	$7 \cdot 10^{-3}$	1,0
Erh14(9/5)	1,0	$4 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$	1,0	$4 \cdot 10^{-3}$
Erh14(9/9)	1,0	1,0	1,0	$6 \cdot 10^{-3}$	1,0

Таким образом, данные экспериментов, описанных выше, четко показывают, что клетки исследованных штаммов обладают шестью различными системами рестрикции и модификации.

Путем нитрозогуанидинового мутагенеза получены г⁻-мутанты бактерий *E. herbicola* 39/1 и *E. herbicola* 39/3, клетки которых не ограничивали репродукцию фага Erh16, и г⁻-мутанты штамма *E. herbicola* 9/5, не ограничивающие репродукцию фага Erh14. Мутанты штаммов *E. herbicola* 39/1 и 39/3, дефектные по РМ-системам, получали с частотой $6 \cdot 10^{-4}$ при обработке бактерий мутагенным агентом в цитратном буфере. Мутанты такого же фенотипа из бактерий *E. herbicola* 9/5 удалось изолировать лишь при обработке клеток нитрозогуанидином в фосфатном буфере (табл. 3).

Таблица 3

Получение г⁻-мутантов *Erw. herbicola*

Штамм	Время обработки, мин	Среда, в которой проводилась обработка, рН	Выживаемость, %	Кол-во проверенных колоний	Кол-во изолированных мутантов	Частота появления мутантов
39/1	20	Цитратный буфер (рН 5,5)	0,8—0,9	3300	2	$6 \cdot 10^{-4}$
39/3	10	»	0,9—1,0	6360	4	$6 \cdot 10^{-4}$
9/5	20	»	0,8—1,1	9500	—	—
	30	Ацетатный буфер (рН 5,0)	0,1—0,3	5630	—	—
	20	Полноценная жидкая питательная среда (рН 7,4)	50	3250	—	—
	40	»	15	3350	—	—
	60	»	1,0—1,5	5400	—	—
	60*	»	1,0—1,5	5000	—	—
	60	Фосфатный буфер (рН 7,2)	1,0—1,5	9750	2	$2 \cdot 10^{-4}$
	60*	»	1,0—1,5	6800	—	—
	120	»	0,2—0,4	4350	—	—
	120*	»	0,2—0,4	3250	2	—

* Клетки после обработки мутагеном дважды отмывались физиологическим раствором, ресуспендировались в полноценной питательной среде и выращивались в течение 18 ч.

Клетки мутантов штаммов *E. herbicola* 39/1 и *E. herbicola* 9/5 и три мутанта *E. herbicola* 39/3, дефектные по способности ограничивать репродукцию соответствующих бактериофагов, по всей вероятности, имеют генотип $g^{-}m^{+}$, так как фаги, репродуцированные в их клетках, при последующей репродукции в исходных штаммах дикого типа не ограничивались. Последнее свидетельствовало об интактности модифицирующих систем у изолированных g^{-} -мутантов. Клетки одного g^{-} -мутанта, полученного из штамма *E. herbicola* 39/3, обладают $g^{-}m^{-}$ -фенотипом, поскольку после репродуцирования в них фага E_h16 его репродукция в исходном хозяине вновь ограничивается (табл. 4).

Таблица 4

Эффективность посева фага E_h16
на g^{-} -мутантах штамма *E. herbicola* 39/3

Штамм	Эффективность посева фага E _h 16, размноженного на клетках штамма			
	ЕН-103	39/3	39/3 $g^{-}m^{+}$	39/3 $g^{-}m^{-}$
ЕН-103	1,0	1,0	1,0	1,0
39/3	$1 \cdot 10^{-5}$	1,0	1,0	$2 \cdot 10^{-5}$
39/3	1,0	1,0	1,0	1,0
39/3	1,0	1,0	1,0	1,0

Сделать альтернативный вывод о том, что у данного мутанта изменен распознающий белок, что приводит к нарушению и рестрикции, и модификации, или же он является двойным мутантом с нарушенными генами, контролирующими рестриктазу и метилазу, в данной работе не представляется возможным.

Список литературы

1. Чернов С. П., Абдель-Сабур М. С., Фомичев Ю. К. // Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геогр.—1985.— № 1.— С. 30.
2. Чернов С. П. // Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геогр.—1979.— № 2.— С. 45.
3. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике.— М., 1976.— С. 116.
4. Cerda-Olmedo E., Hanawalt P. C., Guerola N. // J. Molec. Biol.—1968.— V. 33.— № 3.— P. 705.
5. Glover S. W. and Colson C. // Genet. Res. Camb.—1969.— V. 13.— № 2.— P. 227.
6. Colson C. and Aline Van Pel. // Molec. gen. Genet.—1974.— V. 129.— № 4.— P. 325.
7. Arber W. and Linn S. // An. Rev. Biochem.—1969.— V. 38.— P. 467.

УДК 591.524.12

Н. М. КРЮЧКОВА

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЗООПЛАНКТОНА ПО АКВАТОРИИ ОЗЕРА НАРОЧЬ

При гидробиологических исследованиях планктонного сообщества различных водоемов возникает необходимость выбора определенного числа станций, на которых проводится стационарный отбор проб.

Еще в 1938 г. Риккер [1] высказал предположение, что пробы с одиной центральной станции глубоких озер должны хорошо отражать количество зоопланктона в пелагической его части. Более поздние исследования Раусона [2] по горизонтальному распределению зоопланктона в западных канадских озерах, а также обзор Хатчинсона [3] показали,