

ОБНАРУЖЕНИЕ СИСТЕМ РЕСТРИКЦИИ И МОДИФИКАЦИИ У БАКТЕРИЙ *ERWINIA HERBICOLA*

В настоящее время явление рестрикции и модификации описано для многих видов бактерий и актиномицетов и многие системы рестрикции и модификации (РМ-системы) весьма детально изучены [1—3]. Рестриктирующие ферменты нашли широкое применение в различных областях молекулярной биологии [4] и установлено их взаимоотношение с модифицирующими метилазами [5], определяющее возможность и степень гидролиза гетерологичной ДНК. В связи с изложенным представляется целесообразным поиск РМ-систем у новых групп микроорганизмов. В этом плане достаточно перспективными могут оказаться бактерии рода *Erwinia*, которые, несмотря на их широкое распространение в природе, изучены слабо, и данные о наличии у этих бактерий РМ-систем в литературе практически отсутствуют.

Целью представляемой работы являлось выявление с помощью фагов РМ-систем у бактерий *Erwinia herbicola*.

Материал и методика

В работе использовали штаммы *E. herbicola*: ЕН-103, полученный из Национальной коллекции фитопатогенных бактерий (США); G-138, G-150, G-157 из Отдела сельского хозяйства и рыбоводства (Шотландия), и 8606, полученный из Института микробиологии имени Д. К. Заболотного АН УССР, и 91 штамм *E. herbicola* из коллекции Проблемной НИЛ экспериментальной биологии Белгосуниверситета имени В. И. Ленина.

Для обнаружения РМ-систем применяли 4 бактериофага *E. herbicola* (2, 14, 16 и 26), изолированные из природных источников [6].

Все эксперименты проводили с использованием жидких и плотных питательных сред, состав и техника приготовления которых была описана ранее [7].

Эффективность посева (ЭП) фагов выражали отношением титра фага, получаемого на исследуемом штамме, к титру его на индикаторных бактериях ЕН-103, принимавшимся за 1.

Наличие систем рестрикции и модификации определяли путем перекрестного пассирования фагов на тест-бактериях [1].

Результаты и их обсуждение

Определение эффективности посева исследуемых 4 фагов на различных штаммах *E. herbicola* показало, что наибольшей активностью характеризуются фаги 2 и 16, которые способны репродуцироваться соответственно в 69 и 62 из 95 проверенных штаммов (табл. 1), однако репродукция фага 16 в значительной степени ограничивалась на 7 штаммах. Фаги 14 и 26 характеризуются несколько меньшим спектром литической активности. Фаг 14 размножается в 23 штаммах с эффективностью посева, равной 1, и ограничивается при репродукции в 4 штаммах. В табл. 2 представлены данные по определению ЭП на отобранных 11 штаммах, из которых видно, что ЭП фага 14 на штаммах G-150, 9/3, 9/5, 9/9 составляет 10^{-6} — 10^{-4} , а ЭП фага 16 на штаммах 39/3, 30/1, 37/13, 37/15, 39/1, 42/2 и 43/8 варьирует от 10^{-5} до 10^{-3} . Эти данные позволили предположить наличие систем рестрикции и модификации у клонок указанных штаммов и в последующих экспериментах была определена эффективность посева фагов 14 и 16, размноженных поочередно на ограничивающих и индикаторном штаммах.

На рисунке (а) представлены результаты определения ЭП фага 16

Т а б л и ц а 1

Число штаммов *E. herbicola*,
чувствительных к фагам 2, 14, 16, 26.

Фаги	Количество чувствительных штаммов	Число штаммов, на которых репродуцируются фаги с эффективностью посева		
		1	10 ⁻² —10 ⁻¹	10 ⁻⁶ —10 ⁻²
2	69	25	44	0
14	37	23	10	4
16	62	21	34	7
26	43	10	33	0

Т а б л и ц а 2

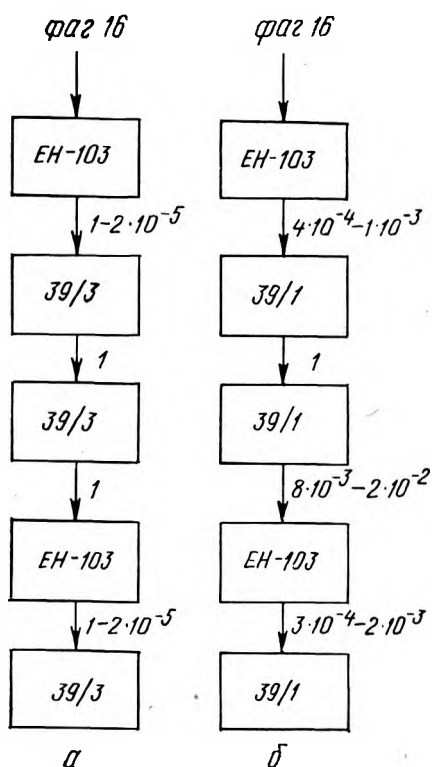
Эффективность посева на исследованных штаммах *Erwinia herbicola*

Штамм	Эффективность посева фагов			
	2	14	16	26
ЕН-103	1	1	1	1
G-150	4·10 ⁻¹	1—3·10 ⁻⁴	4·10 ⁻¹	1
39/3	0	1	1—2·10 ⁻⁵	1
9/3	3·10 ⁻²	1—3·10 ⁻⁶	1·10 ⁻¹	0
9/5	4·10 ⁻²	2—5·10 ⁻⁴	1·10 ⁻¹	0
9/9	3·10 ⁻²	1—2·10 ⁻⁶	1·10 ⁻¹	0
30/1	4·10 ⁻¹	1	6—8·10 ⁻³	4·10 ⁻¹
37/13	4·10 ⁻¹	0	1—3·10 ⁻³	1
37/15	2·10 ⁻¹	0	1—2·10 ⁻³	1
39/1	3·10 ⁻¹	4·10 ⁻¹	4·10 ⁻⁴ —1·10 ⁻³	3·10 ⁻¹
42/2	1	1	7·10 ⁻⁴ —2·10 ⁻³	4·10 ⁻¹
43/8	1	1	4·10 ⁻⁴ —2·10 ⁻³	1

на штаммах ЕН-103 и 39/3. На газоне штамма 39/3 фаг 16 (ЕН-103)* формирует негативные колонии с ЭП 1—2·10⁻⁵. Препараты фага, полученные из негативных колоний фага 16 (39/3), при повторных пассажах на штамме 39/3 формируют на этом и на индикаторном штаммах негативные колонии с ЭП, равной 1, а после размножения на индикаторном штамме вновь ограничиваются клетками штамма 39/3. Аналогичные результаты были получены с фагами 14 (G-150), 14 (9/3), 14 (9/5), 14 (9/9), 16 (37/13) и 16 (37/15). Определение эффективности посева фага 16 (ЕН-103) на штамме 39/1 показало (см. рисунок, б), что он формирует негативные колонии на данном штамме с ЭП, равной 4·10⁻⁴—1·10⁻³, а после пассирования на штамме 39/1 эффективность посева фага 16 (39/1) на индикаторном штамме ЕН-103 составила 8·10⁻³—2·10⁻². После повторного пассирования фага 16 (39/1) на штамме ЕН-103 снова наблюдается ограничение его репродукции на штамме 39/1. Аналогичные результаты получены и с другими фагами: 16 (30/1), 16 (39/1), 16 (42/2) и 16 (43/8).

Таким образом, с помощью фагов 14 и 16 удалось выявить наличие РМ-систем у 11 штаммов *E. herbicola*. В отношении фагов 2 и 26 можно

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



Эффективность посева фага 16 на индикаторном штамме ЕН-103 и на штаммах 39/3 (а) и 39/1 (б). Обозначения штаммов приведены в квадратах; цифрами обозначена эффективность посева фага

предположить, что в их геноме отсутствуют нуклеотидные последовательности, распознаваемые РМ-системами штаммов, ограничивающих репродукцию фагов 14 и 16. Штаммы G-150, 9/3, 9/5 и 9/9, по-видимому, обладают идентичной РМ-системой, распознающей сайты в ДНК фага 14, тогда как штаммы 37/13, 37/15 и 39/3 имеют отличающуюся РМ-систему. Полученные данные позволяют также предположить, что штамм ЕН-103, используемый в качестве индикаторного, также обладает РМ-системой, способной ограничивать и модифицировать фаг 16, предварительно размноженный на других клетках-хозяевах (штаммы 30/1, 39/1, 42/2 и 43/8), имеющих отличающиеся РМ-системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arber W., Linn S.—Ann. Rev. Biochem., 1969, v. 38, p. 467.
2. Поляновский О. Л., Носков В. В.—В кн.: Итоги науки и техники. Сер. биол. М., 1978, т. 14, с. 7.
3. Воейкова Т. А., Славинская Е. В., Орехов А. В., Ломовская Н. Д.—Генетика, 1979, т. 15, № 10, с. 1746.
4. Roberts R. J.—Nucl. Acids, Res., 1983, v. 11, p. 135.
5. Nikolskaya I. I., Debov S. S.—Soviet Sci. Rev., 1983, v. 4, p. 127.
6. Чернов С. П., Фомичев Ю. К.—Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1981, № 10, с. 52.
7. Чернов С. П.—Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геогр., 1979, № 2, с. 45.

УДК 577.47.2(28)

В. А. БАБИЦКИЙ, Р. А. ДЕРЕНГОВСКАЯ, Л. В. НИКИТИНА

ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКИ ПАЛЯВААМ (ЧУКОТКА)

Сообщение 1. Температурный и кислородный режим, содержание сухого вещества и золы в обрастаниях

Хозяйственное освоение Чукотки не может не оказывать отрицательного воздействия на экосистемы водотоков. Попадающие в реки взвешенные минеральные и органические частицы влияют на видовой состав и количественное развитие гидробионтов.

В ряде случаев резкое увеличение в воде рек минеральной взвеси ведет к разрушению донных сообществ [1]. В настоящее время уже имеются данные о перестройке целостных водных сообществ Субарктики под влиянием антропогенного воздействия [2, 3].

В июле-августе 1983 г. в соответствии с договором о научно-техническом сотрудничестве между Беллосуниверситетом имени В. И. Ленина и Вычислительным центром Дальневосточного научного центра АН СССР