

Культурные растения составили около 13 % всех отмеченных видов питающих растений. Деревья и кустарники, на которых паразитировали представители рода *Erysiphe*, насчитывали только около 2 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головин П. М. Мучнисто-росяные грибы, паразитирующие на культурных и полезных растениях. — М.—Л., 1960.
2. Ячевский А. А. Карманный определитель грибов. Вып. 2: Мучнисто-росяные грибы. — Л., 1927.
3. Флора споровых растений Казахстана. Том 3: Мучнисто-росяные грибы. — Алма-Ата, 1961.
4. Blumer S. Echte Mehltauipilze (Erysiphaceae). Ein Bestimmungsbuch für die in Europa vorkommenden Arten. — Jena, 1967.
5. Лебедева Л. А. — В кн.: Зап. Белорус. гос. ин-та сельск. и лесн. хоз., 1925, вып. 4, с. 35.
6. Тупяневич С. М. — В кн.: Працы Горы-Горацкага нав. тав., 1930, т. 7, с. 215.
7. Тупяневич С. М. — В кн.: Зборн. прац АН БССР, 1932, ч. 2, с. 81.
8. Лебедева Л. А. — В кн.: Труды бот. ин-та АН СССР. Сер. 2. Споровые растения, 1935, вып. 2, с. 347.
9. Кудряшева З. Н. — В сб.: Ботаника. Минск, 1970, вып. 12, с. 181.
10. Горленко С. В., Панько Н. А. Вредители и болезни интродуцированных растений. — Минск, 1967.
11. Горленко С. В. Определитель болезней цветочно-декоративных растений. — Минск, 1969.

Поступила в редакцию
28.11.81.

Кафедра ботаники

УДК 576.8.095

Е. В. ЛОБАНОК, Т. В. ИВАШИНА

КОНЪЮГАТИВНЫЕ СВОЙСТВА ПЛАЗМИД R68.44 И R68.45 В RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM

Биологическая фиксация молекулярного азота — одна из важнейших проблем современной биологии. Бактерии рода *Rhizobium*, вступающие в симбиоз с бобовыми растениями, относятся к числу наиболее активных азотонакопителей.

Для более детального анализа симбиотической азотфиксации перспективно изучение механизмов генетического контроля данного процесса, что может способствовать успешной селекции высокоэффективных штаммов клубеньковых бактерий. Необходимым условием решения данной проблемы является разработка методов передачи генетической информации из клетки в клетку. Особый интерес в этой связи представляют R-плазмиды группы несовместимости P, которые передаются между различными грамтрицательными бактериями и используются для изучения хромосомного переноса у микроорганизмов, половые факторы у которых не выделены, например, у *Rhizobium leguminosarum* [1—3].

В настоящей статье приведены результаты исследований по конъюгационному переносу плазмид R68.44 и R68.45 от бактерий *R. leguminosarum* 1533 и 1531 соответственно к различным штаммам клубеньковых бактерий и изучению мобилизации переноса хромосомных маркеров с помощью данных экстрахромосомных элементов,

Материал и методика

Бактерии. В качестве реципиентов использовали следующие штаммы бактерий *R. leguminosarum*: 245а, прототроф из коллекции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии; ауксотрофные мутанты 245-I gbf, thi и 245-II thi, полученные в результате обработки бактерий 245а N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидином; 23 штамма дикого типа, выделенные нами из клубеньков гороха №№ 43, 45, 46, 47, 54, 58, 64, 65, 67, 70, 87, 90, 94, 95, 102, 103, 105, 106, 107, 108, 119, 123, 124, которые обладали прототрофными свойствами. Донорами служили *R. leguminosarum* 1531 R68.45

phe, ser) и *R. leguminisatum* 1533 (R68.44, phe, ser), полученные от донора J. Beringer, Англия. Обе плазмиды несли гены устойчивости к тетрациклину, канамицину и пенициллину.

Питательные среды. Состав полноценной питательной среды [4]: KH_2PO_4 0,5 г, MgSO_4 0,1 г, NaCl 0,1 г, глюкоза 10 г, дрожжевой экстракт (Difco) 0,4, дистиллированная вода 1000 мл, pH 7,2. Минимальная среда содержала [4]: KH_2PO_4 1 г, KH_2PO_4 1 г, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,01 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,25 г, NaCl $\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1 г, KNO_3 0,6 г, глюкоза 10 г, дистиллированная вода 1000 мл. Агар-агар добавляли из расчета 15 г/л.

Скрещивание бактерий осуществляли по методике Жакоба и соавторов [5]. Донорные и реципиентные бактерии выращивали на скошенном полноценном питательном агаре в течение 48 ч при 28 °С. Бактерии смывали стерильной дистиллированной водой, затем по 0,5 мл донора и реципиента смешивали с 4 мл стерильной дистиллированной воды и накапывали в количестве 0,1 мл на мембранные фильтры (Sinpor 7, 40μ), помещенные на чашки с полноценной питательной средой. После инкубации в течение 20 ч при 28 °С бактерии смывали 3 мл стерильной дистиллированной воды и высевали на соответствующие селективные среды.

Результаты и их обсуждение

Скрещивание бактерий *R. leguminosatum* 1531 и 1533, несущих соответственно плазмиды R68.45 и R68.44, с клубеньковыми бактериями дикого типа и штаммом 245а показало, что все они, за исключением № 43, № 65,

Таблица 1

Передача факторов R68.44 и R68.45 реципиентным бактериям *R. leguminosatum*

Реципиентные штаммы	Частота переноса плазмиды R68.44	Частота переноса плазмиды R68.45
43	—	—
45	$8,2 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-5}$
46	$9,1 \cdot 10^{-4}$	$6,4 \cdot 10^{-5}$
47	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$
54	$4,3 \cdot 10^{-5}$	$1,7 \cdot 10^{-5}$
58	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,9 \cdot 10^{-5}$
64	$4,6 \cdot 10^{-5}$	$5,3 \cdot 10^{-6}$
65	—	—
67	$5,1 \cdot 10^{-5}$	$1,9 \cdot 10^{-6}$
70	$7,3 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$
87	$1,6 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-6}$
90	$3,2 \cdot 10^{-5}$	$2,7 \cdot 10^{-6}$
94	$7,7 \cdot 10^{-5}$	$8,3 \cdot 10^{-6}$
95	—	—
102	—	—
103	$6,8 \cdot 10^{-5}$	$3,6 \cdot 10^{-6}$
105	$3,9 \cdot 10^{-5}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
106	$1,7 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-6}$
107	$4,1 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{-6}$
108	$1,1 \cdot 10^{-5}$	$2,2 \cdot 10^{-5}$
119	$9,9 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$
123	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$1,4 \cdot 10^{-5}$
124	—	—
245а	$8,5 \cdot 10^{-4}$	$2,3 \cdot 10^{-5}$

№ 95, № 102 и № 124 могут воспринимать данные плазмиды. Перенос плазмиды R68.44 происходил с частотой, варьирующей от 10^{-4} до 10^{-5} , причем максимальной была частота ее восприятия штаммами 245а, № 45, № 46, № 70, в то время как у штаммов № 67, № 94, № 103, № 119 она была самой низкой (табл. 1).

Частота передачи плазмиды R68.45 этим реципиентам была ниже (10^{-5} — 10^{-6}), колебания ее восприятия в зависимости от штамма были почти такими, как и плазмиды R68.44 (см. табл. 1).

Таким образом, частота передачи фактора R68.44 бактериям *R. leguminosarum* была на порядок выше, чем фактора R68.45. Это согласуется с данными Джонстона и соавторов [6], которые показали, что первая плазида более эффективна в половом отношении.

При проверке свойств полученных трансконъюгантов оказалось, что все рационные штаммы приобрели три плазмидных маркера. Сохранение трансконъюгантами, воспринявшими плазмиду, спектра лекарственной устойчивости, присущего донорному штамму, свидетельствовало о том, что эти R-факторы передавались при конъюгации как единые генетические структуры.

Определение уровня лекарственной резистентности полученных трансконъюгантов показало, что по сравнению с донорными штаммами, устойчивыми к канамицину в дозе 50, пенициллину — 25, тетрациклину — 10 мкг/мл, у трансконъюгантов обнаруживается несколько более низкий уровень антибиотикорезистентности (к 40 мкг/мл канамицина, 7 мкг/мл тетрациклина и 15 мкг/мл пенициллина).

Для изучения возможности мобилизации хромосомных маркеров с помощью R-плазмид проводили скрещивание штаммов *R. leguminosarum*, несущих плазмиды R68.44 и R68.45, с ауксотрофными мутантами. Как видно из табл. 2, частота передачи плазмиды R68.44 составила 10^{-5} , а

Т а б л и ц а 2

Скрещивание бактерий *R. leguminosarum* 1531 и 1533 с ауксотрофными мутантами

Донор	Реципиент	Частота переноса плазмид	Перенос хромосомных маркеров, детерминирующих синтез	
			рибофлавина	тиамина
<i>R. leguminosarum</i> 1531 (R68.45)	245-I	$1,3 \cdot 10^{-6}$	$6,6 \cdot 10^{-7}$	—
	245-II	$2,1 \cdot 10^{-6}$	—	—
<i>R. leguminosarum</i> 1533 (R68.44)	245-I	$2,7 \cdot 10^{-5}$	$9,0 \cdot 10^{-6}$	—
	245-II	$5,1 \cdot 10^{-5}$	—	—

R68.45 — 10^{-6} . Обе плазмиды способны были мобилизовать перенос хромосомного маркера, детерминирующего синтез рибофлавина. Перенос маркера, ответственного за синтез тиамина не наблюдался.

Такая мобилизация переноса *gbf*-гена может быть объяснена взаимодействием плазмиды с хромосомой и образованием Hfr-подобных штаммов вблизи генов, детерминирующих синтез рибофлавина.

Полученные результаты согласуются с данными Берингера и соавторов [7] о возможности передачи факторов лекарственной устойчивости R группы несовместимости между штаммами *R. leguminosarum* и мобилизации с их помощью переноса генов бактериальной хромосомы.

Авторы выражают глубокую благодарность Ю. К. Фомичеву за постоянный интерес к работе и помощь, оказанную при написании статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beringer J.— J. Gen. Microbiol., 1974, v. 84, p. 188.
2. Beringer J., Hopwood D.— Nature, 1976, v. 264, p. 291.

3. Vincent J. M. Blacwell Scientific Publications.— Oxford, 1970.
4. Johnston A. W., Beringer J.— Ann. app. Biol., 1978, v. 88, p. 484.
5. Jacob A., Cresswell J., Medges R., Coltze J., Beringer J.— Mol. Gen. Genet., 1976, v. 147, p. 315.
6. Johnston A., Setchell S., Beringer J.— J. Gen. Microbiol., 1978, v. 104, p. 209.
7. Beringer J., Hoggan S., Johnston A.— J. Gen. Microbiol., 1978, v. 104, p. 201.

Поступила в редакцию
05.02.81.

Кафедра микробиологии

УДК 574.5

А. П. ПАВЛЮТИН

ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ВЫСУШИВАНИЯ И ДОБАВОК БИОГЕНОВ (АЗОТ И ФОСФОР) НА РАЗЛОЖЕНИЕ ХАРОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

В опытах по разложению макрофитов многие исследователи пользуются предварительно высушенным материалом. Имеются сведения, что добавка азота и фосфора увеличивает скорость разложения.

Цель настоящей работы выяснить влияния этих факторов на изменение некоторых показателей (калорийность сухого и органического вещества, содержание органического вещества) в процессе разложения макрофитов, а также динамику изменения концентрации азота, фосфора, растворенного органического вещества и бактерий в воде экспериментальных сосудов.

Опыты по разложению хары (*Chara* sp.) проводили в 20-литровых баллонах с отстойной артезианской водой. Для поддержания аэробных условий и перемешивания в баллон через барбаты подавали очищенный в системе ватных и водяных фильтров воздух. Перед внесением водорослей в баллоны измеряли содержание растворенного в воде органического вещества (РОВ), бактерий, минерального азота, фосфора, а также определяли соотношение сухого веса к сырому у хары, количество органического вещества в ней и калорийность.

Содержание РОВ органического вещества и калорийность определяли по руководству [1], количество взвешенных в воде бактерий — методом прямого счета, концентрацию минерального азота и фосфора — по общепринятым методикам.

В баллон № 1 помещали 10 г сырой хары, измельченной на частицы 2 см и 120 мг NH_4NO_3 + 90 мг KH_2PO_4 (~1 мг N — NO_3 /л и 1 мг P — PO_4 /л).

В баллон № 2 вносили такое же количество сырой хары, но без добавки азота и фосфора.

В баллон № 3 вносили 4 г высушенной хары без добавки биогенов.

Поскольку соотношение сухого веса к сырому у хары было 25 %, во все баллоны вносилось одинаковое количество сухого вещества (200 мг/л). При содержании органического вещества в сухой харе 34,9 % концентрация органического вещества составляла 80 мг/л. Баллоны помещали в темноту при температуре $20 \pm 2,0$ °C. Продолжительность опыта 42 суток. Пробы из баллонов отбирали, предварительно тщательно перемешав содержимое, на 3, 9, 21, 30 и 42-е сутки. Подсчет бактерий в начале опыта проводили более часто. В пробах определяли перечисленные параметры. Результаты опытов приведены на рис. 1—3.

Результаты и их обсуждение

В баллоне № 1, в котором находилась сырая хара с добавкой биогенов, максимальное количество N— NO_2 и минерального фосфора наблюдали на 21-е сутки разложения (рис. 1), что совпадает с максимумом РОВ и численности бактерий в воде баллона (рис. 3). Максималь-