

ԷԹԻԼԵՆԻՄԻՆԻ ԵՎ ՈՒԼՏՐԱՉԱՅՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱԶՈՏՈՐԱԿՏԵՐԻ ՎՐԱ

Վ. Գ. ՆԻԿՈՂՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է էթիլենիմինի (էԻ) և ուլտրաձայնի (ՈԻՁ) ազդեցությունը *Az. chroococcum*-ի կենսոնակության վրա: Ստացվել են էԻ-ով ինդուցված ազոտորակտերի անտի-րիոտիկադիմացկուն մուտանտներ:

Պարզվել է, որ էԻ-ի ներգործումից մեծ քանակով անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտներ ստացվել են *Az. chroococcum*-ի զարգացման վաղ լողարիթմական ֆազայում: Նման մուտանտների ստացումը ՈԻՁ-ի ներգործումից չի հաջողվել:

Հայտնի են մի շարք աշխատանքներ, որոնք նվիրված են ֆիզիկական տարրեր ազենտների և տրանսֆորմացիայի օգնությամբ ազոտորակտերի դանադան մուտանտների ստացմանը [1, 8, 9, 11, 16]:

Քիմիական մուտագենների ազդեցությունն ազոտորակտերի վրա անհամեմատ քիչ է ուսումնասիրվել [10, 12, 14]: Ազոտորակտերի վրա էԻ-ի ներգործության վերաբերյալ ուսումնասիրություններ գրականությանից մեզ հայտնի չեն, չնայած քիմիական ալդ մուտագենի գենետիկական էֆեկտիվությունը հայտնի է հիշյալ օբյեկտների վրա կատարված շատ ուսումնասիրություններից [3, 7, 13, 15]:

Որոշ հեղինակներ գտնում են, որ ՈԻՁ-ը կենդանի բջջի վրա կարող է ունենալ մահացու ներգործություն կամ առաջացնել բջջի կառուցվածքի ֆունկցիոնալ խանգարումներ [4]:

Ներկա աշխատանքում մեր նպատակն է եղել պարզել էԻ-ի և ՈԻՁ-ի ազդեցությունը *Az. chroococcum*-ի կենսոնակության վրա ու անտիբիոտիկների նկատմամբ կայուն մուտանտների ստացման հնարավորությունները:

Ազոտորակտերի մուտագենիզի հետ կապված հարցերի պարզաբանումը ու նրա կտրիվ տեսակների ստացումը տեսական և գործնական մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում ազոտորակտերի նոր արդյունավետ շտամների ստացման առումով:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների համար օգտագործվել է *Az. chroococcum* 53 (Գյուլգ. միկրոբ. համաժողով. գիտահետ. ինստիտուտ) շտամը, որն աճեցվել է էջրի հեղուկ (առանց կալիճի) սննդամիջավայրում՝ թափահարիչի վրա: Զարգացման լողարիթմական ֆազայի տարրեր ժամանակներում (12, 24, 48 ժամ) կուլտուրալ հեղուկն անց է կացվել հոմոգենիզատորով (բազմաշաբաղներից մաքրելու և բջիջների նստեցումը հեշտացնելու նպատակով), ապա ցենտրիֆուգվել էԻ-ի ներգործության դեպքում, բջիջների լվացման ու սուսպենզիաների ստացման համար, օգտագործվել է ֆոսֆատային բուֆեր (0,05M, pH-7,1), իսկ ՈԻՁ-ի դեպքում՝ ֆիզիոլոգիական լուծույթ:

Փորձարկման են էի-ի 0,1, 0,02, 0,01% խտությունները, 15, 30, 60, 120 րոպե տևողության ընթացքում: Մուտանտների ստացման համար օգտագործվել է Ադելբերգի եղանակը [11]: Ուլտրաձայնային ալիքի ազդեցության ուսումնասիրությունների համար օգտագործվել է ցածր հաճախականության ուլտրաձայնային դիսպերգատորը (ՈՒԶԴ-1), որի ճառագայթման ակուստիկական հզորությունը կազմել է 50 վտ/սմ², իսկ տատանման հաճախականությունը՝ 22 և 44 կ՝ց:

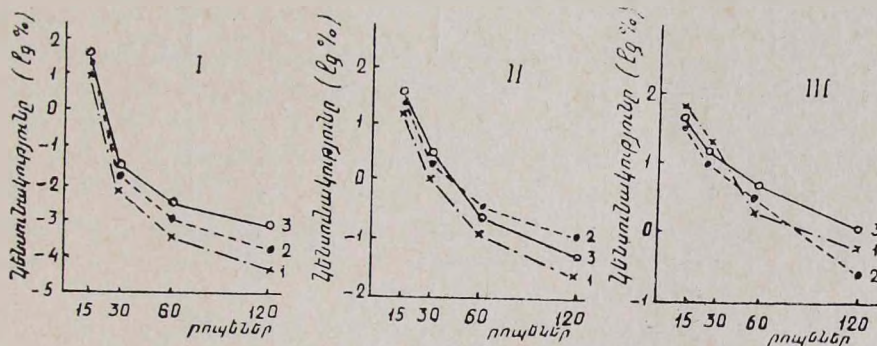
ՈՒԶ-ի ներգործությանն է ենթարկվել ապակյա փորձանոթներում *Az. chroococcum*-ի 4 մլ, 2,2 · 10⁸ խտության բակտերիալ սուսպենզիաները՝ 1, 3, 6, 10, 15 և 25 րոպե տևողությամբ, սառը պայմաններում:

էի-ի և ՈՒԶ-ի ներգործությունից հետո, *Az. chroococcum*-ի առանձին զաղութների ստացման ու կենսոճանկի բնութագրի հաշվառման համար, կատարվել է ցանքս էշրի-ի ագարային սննդամիջավայրում: Կուլտուրաների ընտրությունն ու մեկուսացումը կատարվել է զխա-վորակալն 1%-ից ցածր կենսոճանկության տարբերակներից, հիմնականում հաշվի առնելով նրանց կուլտուրալ առանձնահատկությունները:

Մեկուսացված կուլտուրաները հետազոտվել են որոշակի քանակի անտիբիոտիկ պարունակող էշրի-ի հեղուկ և ագարային սննդամիջավայրերում ու ստուգվել նրանց տարբեր անտիբիոտիկների նկատմամբ ձեռք բերած կայունությունը: Անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտների ստացման համար օգտագործվել է նաև ագարային սննդամիջավայրում (անտի-բիոտիկի զրադիկնալային խտությամբ) մուտանտների սելեկցիայի մեթոդը [2]:

Անտիբիոտիկներից փորձարկվել են սարեպտոմիցինը, պեմիցիկլինը (բենզիլպենիցիլինի կալիումական աղը) և տետրացիկլինը (տետրացիկլինի հիդրոքլորիդը):

Արդյունքներ և բնագրություն: Նկարում բերված ալյալներից հետևում է, որ 12, 24 և 48 ժամ աճեցված *Az. chroococcum*-ի բնիշների դիմացկունությունը, էի-ի փորձարկված խտությունների 15 և 30 րոպե ներգործության դեպքում, միայնացից մեծ չափերով չեն տարբերվել: Որոշ տարբերություն



Նկ. էի-ի տարբեր խտությունների ազդեցությունը *Az. chroococcum*-ի կենսունակության վրա: I—էի—0,1%, II—էի—0,02%, III—էի—0,01%: 1. 12 ժամ աճեցված կուլտուրա, 2. 24 ժամ աճեցված կուլտուրա, 3. 48 ժամ աճեցված կուլտուրա:

Նկատվել է միայն մուտագենի ներգործության տևողությունը երկարացնելիս (60—120 րոպե), ըստ որում՝ 0,1 և 0,01% խտության դեպքում, համեմատաբար ավելի մեծ կայունություն են ցուցաբերել *Az. chroococcum*-ի 48 ժամ աճեցված բնիշները:

Az. chroococcum-ի զարգացման լոգարիթմական ֆազայում էի-ի լետալ խտությունը կազմել է 0,2 ու 0,1%, համապատասխանաբար 1 և 3 ժամ ներգործելիս:

Ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ ՈՒՁ-ը ևս որոշակի լետալ ներգործություն է ցուցաբերում *Az. chroococcum*-ի հանդեպ, որն առանձնապես ուժեղ է արտահայտվում 44 կճց հաճախականության ալիքի տատանումների դեպքում: Եթե 25 րուպե 22 կճց հաճախականության ներգործումից ազոտոբակտերի կենսունակությունը կազմել է 0,0004%, ապա նույն տեղությունամբ 44 կճց հաճախականության ներգործումից ազոտոբակտերի կենսունակ բջիջներ շեն հայտնաբերվել:

Ինչ վերաբերում է հիշյալ ազենտների ներգործության գենետիկական էֆեկտիվությանը, ապա անհրաժեշտ է նշել, որ էՌ-ի ներգործությանը ենթարկված ազոտոբակտերի կուլտուրաների մի մասը, ելային կուլտուրայի համեմատ, որոշ անտիբիոտիկների հանդեպ ձևաբ է բերել նկատելի կայունություն, որը պահպանվել է հաջորդ գեներացիաներում: ԷՌ-ի մուտագենային ազդեցությունն ավելի մեծ է *Az. chroococcum*-ի զարգացման վաղ լոգարիթմական ֆազայում, որը պարզ նկատվում է աղյուսակում բերված տվյալներից: Նույն տվյալներից կարելի է հետևել նաև, որ էՌ-ով ինդուկցված *Az. chroococcum*-ի մուտանտների դիմացկունությունը հիշյալ անտիբիոտիկների նկատմամբ ավելացել է 20—200 անգամ:

Աղյուսակ

ԷՌ-ով ինդուկցված *Az. chroococcum*-ի անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտների ստացումը լոգարիթմական ֆազայի տարբեր ժամանակամիջոցներում:

Աճեցման տեղություն	Ինդուկցված կուլտուրաների թիվը	Ստրպտոմիցինի (20 մկգ/մլ) նկատմամբ կայուն կուլտուրաների		Պենիցիլինի (100 կգ/մլ) նկատմամբ կայուն կուլտուրաների		Տետրացիկլինի (15 կգ/մլ) նկատմամբ կայուն կուլտուրաների	
		թիվը	տոկոսը	թիվը	տոկոսը	թիվը	տոկոսը
12	136	12	8,8	27	19,8	9	6,6
24	244	10	4,1	8	3,2	4	1,6
48	106	5	4,7	10	9,4	4	3,8

Մանիֆեստություն. — *Az. chroococcum*-ի ելային կուլտուրայի բակտերիոստատիկ խտությունը ստրպտոմիցինի, տետրացիկլինի և պենիցիլինի դեպքում համապատասխանաբար կազմել է 0,1, 0,5 և 5 մկգ/մլ:

Մաքսիմալ քանակի դրական մուտացիաներ ստացվել են 0,1% մուտագենի — 30—60 րուպե ներգործումից, որի ժամանակ կենսունակությունը կազմել է 0,1—0,01%: Կուլտուրալ ու մորֆոլոգիական առանձնահատկություններով ելային կուլտուրայից գրեթե շտաբբերվող *Az. chroococcum*-ի որոշ անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտներ հրեմն ստացվել են ավելի բարձր կենսունակության տարբերակներից:

ԷՌ-ով ինդուկցված *Az. chroococcum*-ի անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտները հետազայում (անտիբիոտիկի քանակությունն աստիճանաբար ավելացնելով) բազմիցս ցանվել են անտիբիոտիկի գրադիենտային խտություն պարունակող էջերի ազարային սննդամիջավայրի վրա ու ստացվել են ազոտոբակտերի առավել անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտներ: Օրինակ՝ *Az. chroococcum*-ը, որը փորձարկված անտիբիոտիկներից անհամեմատ

դրություն է ստրեպտոմիցինի հանդեպ (աղյուսակ), նշված մեթոդի օգտագործման միջոցով հաջողվեց ստանալ մուտանտներ (Մ—31, Մ—34, Մ—17, Մ—29), որոնք դարգանում են 100—200 մկգ/մլ ստրեպտոմիցին պարունակող սննդամիջավայրերում:

Ստրեպտոմիցինի նկատմամբ իրենց ունեցած մեծ կայունությամբ նշված մուտանտները նմանվում են նախկինում մեր ուսումնասիրած մի շարք օլիգոնիստրոֆիլ միկրոօրգանիզմներին [7]:

Ջարգանալով մեծ քանակությամբ ստրեպտոմիցին պարունակող սննդամիջավայրերում, այդ մուտանտների բջիջները վերածվում են տարբեր հաստության երկար ձողերի, որոնք տարբեր մասերում, հաճախ, սպորանման դոչացումներ են առաջացնում, իսկ գաղութները՝ S և M տիպի լորձնային են, վարդապան ուշ շրջանում դարչնագույն պիգմենտավորում չեն առաջացնում, այլ միայն դեղնում են:

Կուլտուրալ առանձնահատկությունների որոշ փոփոխություններ նկատվել են նաև *Az. chroococcum*-ի վրա ՈՒՁ-ի ներգործումից, սակայն այդ ճանապարհով անտրիոտրիկադիմացկուն մուտանտների ստացում չի հաջողվել:

ՀՍՍՀ ԳԱ մանրէաբանության
ինստիտուտ

Ստացված է 12. VII. 1979 թ.

ДЕЙСТВИЕ ЭТИЛЕНИМИНА И УЛЬТРАЗВУКА НА АЗОТОБАКТЕР

В. Г. НИКОГОСЯН

Изучены выживаемость и образование антибиотикоустойчивых мутантов *Az. chroococcum* при воздействии этиленимином (ЭИ) и ультразвуком (УЗ).

Под воздействием ЭИ получены мутанты, устойчивые к стрептомицину, пенициллину и тетрациклину. Подобных мутантов азотобактера под воздействием УЗ получить не удалось.

ACTION OF ETHYLENEIMINE AND ULTRASONICS ON AZOTOBACTER

V. G. NIKOGHOSSIAN

Mutants of *Az. chroococcum* resistant to penicillin, streptomycin and tetracyclin have been received by the use of ethylene imine. The use of ultrasonics didn't give mutants.

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Батикян Г. Г., Варданян К. А. Биолог. ж. Армении, 26, 4, 1973
2. Браун В. Генетика бактерий. М., 1968.

3. Губанова Л. Л. Сб. Микробиол. исслед. в Зап. Сибири, 26, Новосибирск, 1976.
4. Зименка Т. Г., Гарнак Н. М., Ковалева М. К. Изв. АН БССР, сер. биол. н., 4, 65, 1966.
5. Имшенецкий А. А., Парийская А. Н. и Эррайс Лопес Л. Микробиология, 39, 2, 343, 1970.
6. Наседкина Г. А. Бюлл. ВНИИ защиты раст., 18, 44, 1971.
7. Никогосян В. Г. Биолог. ж. Армении, 31, 1, 1978.
8. Романова Н. Б., Широкова Н. И. Сб. Успехи в обл. изуч. и производства антибиотиков, 1, 68, М., 1976.
9. Фадеева Н. П., Эльпинер И. Е. Микробиология, 28, 4, 1959.
10. Шилова М. А., Носикова Т. А. Сб. Селекция и генетика микробов, 22, Новосибирск, 1971.
11. Adelberg E. A., Mandel M. a. Chen C. C. Biochem. Biophys. Res. Comms, 18, 788, 1965.
12. Kashyap L. R., Chopra V. L. Use Radiat. and Radioisot. Stud. plant prod. 775, Bombay, 1974.
13. Khurana A. S., Venkataraman G. S. Indian J. Exp. Biol., 10, 2, 136, 1972.
14. Müller H. P. Ann. Microbiol. et Enzymol., 24, 2, 181, 1974.
15. Sen Mitra, Pal T. K., Sen S. P. A. Leeuwenhoek J. Microbiol. a. Serol., 35, 4, 533, 1969.
16. Sorger G. J., Trofimenkoff D. Proc. Nat. Acad. Sci., USA. 65, 1, 74. 1970.