

THE TAXONOMICAL VALUE ANALYSIS OF ANATOMICAL  
AND MORPHOLOGICAL CHARACTERS OF CAUCASIAN  
*ASPARAGUS L. SPECIES CLADODIUMS*

K. G. TAMANIAN

Among the Caucasian *Asparagus* species 5 morphological types with the corresponding anatomical structure of cladodiums have been distinguished. The limits of polymorphism of the studied species have been established too.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ильин М. М. Флора СССР, 4, Л., 1935.
2. Мищенко П. И. Вестн. Тифл. бот. сада, 40—41, 1916.
3. Таманян К. Г. Биолог. ж. Армении, 28, 5, 1975.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 11, 1982

УДК 576.851.155.095:575.24

ИНДУЦИРОВАНИЕ НИТРОЗОГУАНИДИНОМ  
МОНОМИЦИНЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ МУТАНТОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ  
БАКТЕРИЙ ЭСПАРЦЕТА И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА

А. П. АЛЕКСАНЯН, А. Д. НАЛБАНДЯН, Т. У. СТЕПАНЯН

Для получения мономицинчувствительных мутантов клубеньковых бактерий эспарцета в качестве мутагена использовали нитрозогуанидин (НГ). Установлена зависимость выживаемости культуры от времени действия НГ. Выделено 11 мономицинчувствительных мутантов, два из которых в условиях вегетационного опыта оказались вирулентными.

*Ключевые слова:* клубеньковые бактерии, нитрозогуанидин, мутанты.

Процесс фиксации атмосферного азота клубеньковыми бактериями в симбиозе с бобовыми растениями привлекает к себе повышенное внимание с точки зрения минерального питания растений и накопления ими кормового белка.

Значительные резервы интенсификации процесса симбиотической азотфиксации заложены в селекционно-генетических исследованиях клубеньковых бактерий, направленных на создание высокоэффективных штаммов этих бактерий.

Под воздействием физических и химических мутагенов получены мутанты клубеньковых бактерий различных видов с дефектами в синтезе нуклеиновых оснований, витаминов, аминокислот и др. [2, 13, 15]. Имеются также многочисленные работы, указывающие на коррелятивную связь между устойчивостью клубеньковых бактерий к антибиоти-

кам и их эффективностью [6, 8, 14]. В ряде работ описаны мутанты клубеньковых бактерий с повышенной устойчивостью к канамицину, неомицину и биомицину, утратившие эффективность [5, 9], а в других — стрептомицин- и канамицинустойчивые, но эффективные по фиксации азота [3, 12]. Однако молекулярные механизмы, определяющие взаимоотношения между типом мутаций и эффективностью азотфиксации, остаются еще неизвестными из-за малой изученности биохимических особенностей клубеньковых бактерий; поэтому более перспективными с точки зрения выяснения генетического контроля симбиотической азотфиксации является получение мутантов, непосредственно затрагивающих азотфиксирующий ферментативный комплекс, а также компоненты, ответственные за установление симбиоза.

Цель нашей работы состояла в получении мономицинчувствительных мутантов клубеньковых бактерий эспарцета и определении степени их нитрат-, нитритредуктазной активности.

*Материал и методика.* Для получения мутантов клубеньковых бактерий эспарцета использовали оригинальный штамм 152 (5881 по ИНМИ АрмССР). Культуру выращивали в колбах Эрленмейера (250 мл) на среде горохового экстракта с 1% маннита (рН 7,0) на качалке (220—240 об/мин) при 28°. Мутанты клубеньковых бактерий эспарцета получали методом Адельберга [7] под воздействием нитрозогуанидина (1 мг/мл) с некоторой модификацией [4]. Первоначальный титр клеток составлял  $5 \cdot 10^8$  клеток/мл. Мономицинчувствительные мутанты выделяли методом реплик [11]. Использовали следующие концентрации мономицина: 128, 256, 512, 1024 и 2048 ед/мл. Нитрат-, нитритредуктазную активность определяли ранее описанным нами методом [1]. Вирулентность полученных мутантов изучали в условиях вегетационного опыта с 4-кратной его повторностью.

*Результаты и обсуждение.* Установлено, что с увеличением действия НГ на бактериальную суспензию количество жизнеспособных клеток уменьшается. Так, после обработки НГ в течение 60-ти мин число выживших клеток составило 1,8%. Кривая выживаемости клеток клубеньковых бактерий эспарцета в зависимости от времени экспозиции НГ представлена на рисунке (рис.).

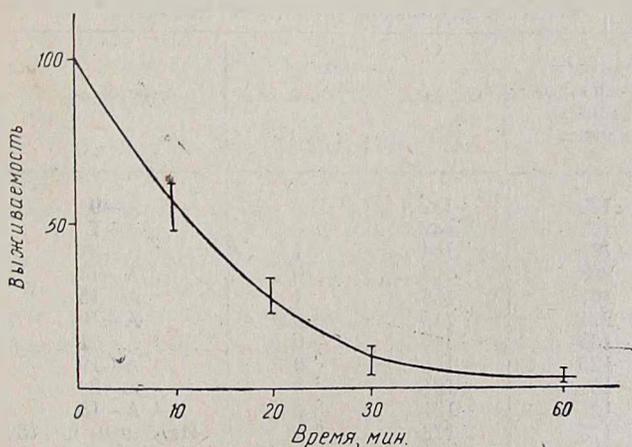


Рис. Зависимость выживаемости клубеньковых бактерий эспарцета, шт. 152, от времени экспозиции нитрозогуанидина.

Зависимость частоты появления мономицинчувствительных мутантов и их выживаемости от времени экспозиции нитрозогуанидином

Время экспозиции, мин	Количество анализируемых клонов	Из них мономицинчувствительных*	Частота, %	Обозначение мутантов	Выживаемость, % (средние данные 6-ти повторностей)
0	145	0	0		100
10	172	0	0		62,7
20	204	3	1,47	A-9, A-7, A-8	21,5
30	268	6	2,27	A-14, A-15, A-10	7,1
60	185	2		A-11, A-12, A-19	
	974	11	1,08	A-20, A-13	1,8

\* В ходе исследований отбирали и учитывали четкие мономицинчувствительные клоны.

Приведенные в табл. 1 данные показывают зависимость частоты появления мономицинчувствительных мутантов от экспозиции воздействия НГ. Среди 317-ти клонов, непосредственно и спустя 10 мин после начала действия НГ, мономицинчувствительных мутантов не обнаружено; последние выявлены при экспозиции 20, 30 и 60 мин; по сравнению с исходным штаммом (512 ед/мл) они чувствительны к 256 ед/мл мономицину.

Судя по полученным данным, частота появления мономицинчувствительных мутантов увеличивается при воздействии НГ в течение 30-ти мин.

Исследовалась также нитратредуктазная активность у 11-ти мутантов клубеньковых бактерий эспарцета: установлено, что у мутантов и исходного штамма она одинаковая. При низкой частоте ( $5 \cdot 10^{-3}$ ) выделены два мутанта, неспособные к усвоению нитратов (табл. 2). Из

Таблица 2

Клональный анализ нитратредуктазной активности мономицинчувствительных мутантов клубеньковых бактерий эспарцета

Количество анализируемых клонов	Из них		Мутанты
	Nit <sup>+</sup>	Nit <sup>-</sup>	
139	139	0	A-9
147	147	0	A-7
185	184	1	A-8
208	208	0	A-14
167	166	1	A-15
215	215	0	A-10
133	133	0	A-11
125	125	0	A-19
161	161	0	A-20
121	121	0	A-13
173	173	0	Исходный шт. 152

11-ти мономицинчувствительных мутантов клубеньковых бактерий эспарцета два оказались вирулентными.

ՆԻՏՐՈԶՈԳՈՒԱՆԻԴԻՆՈՎ ԻՆԴՈՒԿՑՎԱԾ ԿՈՐՆԳԱՆԻ  
ՊԱՒԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՄՈՆՈՄԻՑԻՑԻՆ ՉԳԱՅՈՒՆ ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԸ  
ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԲՆՈՒԹԱԳՐՈՒՄԸ

Ա. Պ. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Ա. Զ. ՆԱԲԱՆԴԻԱՆ, Տ. Զ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

Նիտրոզոգուանիդինի ազդեցութեամբ ստացվել են կորնգանի պալարաբակ-տերիանների մուտանտներ: Ուսումնասիրված 974 գաղութներից անջատվել են 11 մուտանտներ, որից երկուսը վիրուլենտ են: Շատ ցածր հաճախականու-թյամբ ( $5 \cdot 10^3$ ) անջատվել են երկու մուտանտներ, որոնք չեն յուրացնում նիտրատները:

CHARACTERISTICS OF MONOMYCIN SENSITIVE MUTANTS  
OF RHIZOBIUM SIMPLEX INDUCED BY NITROSOGUANIDINE

A. P. ALEKSANJIAN, A. D. NALBANDIAN, T. H. STEPANIAN

Eleven monomycin sensitive mutants have been isolated during the screening of 974 bacterial colonies. It was shown that out of these mutants two were virulent. Two mutants among the investigated didn't assimilate nitrates.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексанян А. П., Налбандян А. Д. Тез. докл. III научн. конф. Закавказск. отд. ВМО АН СССР, 15, 1981.
2. Баканчикова Т. И., Лобанок Е. В. Вестник Белорус. универ., 2, 1, 31, 1976.
3. Имшенецкий А. А., Парийская А. Н., Эрайс Лопес Л. Микробиология, 39, 2, 343, 1970.
4. Налбандян А. Д., Алексанян А. П. Биолог. ж. Армении, 31, 8, 799, 1978.
5. Парийская А. Н., Калининская Т. А. Микробиология, 57, 6, 1120, 1978.
6. Abdel-Wahab S. M., Rifaat O. M., Ahmed K. A., Hamdi Y. A. Zbl. Bacteriol., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyg., 131, 2, 170, 1976.
7. Adelberg E. A., Mandel M., Grace Chein C. C. Biochem., Biophys. Res. Commun. 18, 788, 1965.
8. Amarger N. C. Acad. Sci., 280, 16, 1911, 1975.
9. Mamery J., Alexander M. Soil Sci., 108, 3, 1969.
10. Lederberg J., Lederberg E. M. J. Bacteriol., 63, 3, 399, 1952.
11. Levin R. A., Montgomery M. P. Plant and Soil, 41, 3, 669, 1974.
12. Lorkiewicz Z., Zurkowski W., Kowalczyk E., Gorska-Melke A. Acta microbiol. polon., Ser. A., 3, 20, 101, 1971.
13. Pankhurst C. E. J. Gen. Microbiol., 23, 8, 1026, 1977.
14. Schwinghamer E. A. Canad. J. Microbiol., 15, 611, 1969.