

թյամբ Թունաբանական հատկությունների հետազոտության տվյալները ցույց են տվել, որ սինթետիկ գինեթթուն պատկանում է սակավ թունավոր պատրաստուկների խմբին, այն ստացված չէ կուտակվելու, մաշկը և լորձաթաղանթները գրգռելու հատկություններով և մաշկի միջոցով այն չի ներծծվում:

Այսպիսով, Երևանի բիմիսկան օնակտիվների գործարանում թողարկվող սինթետիկ գինեթթվի մանրէասպան, ախտահանիչ և թունարտնական հատկությունների ուսումնասիրությունների արդյունքները համոզիչ կերպով ցույց են տալիս, որ այդ պատրաստուկը օժտված է լավ արտահայտված մանրէասպան, ախտահանիչ հատկություններով և պատկանում է բիջ թունավոր նյութերի շարքին: Նշված հատկությունները հնարավոր են դարձնում սինթետիկ գինեթթուն առաջարկել որպես ախտահանիչ պատրաստուկ բակտերիալ էթիոլոգիայով ազդեցիկ և կաթիլային վարակիչ հիվանդությունների օջախներում, ինչպես նաև կենցաղում կիրառելու համար:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Асоян Г. С., Чилингарян С. Ц., Мкртчян А. А. Тез. докл. III респ. съезда эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. Ереван, 1983.
2. Вашков В. И. В кн.: Антимикробные средства и методы дезинфекции. М., 1977.
3. Лебедева Н. С. Тр. ЦНИИДИ, в. 18, 1, М., 1967.
4. Ляровский П. П. Сб. научн. трудов, М., 1979.
5. Мнацаканян Ш. С., Мкртчян А. Е., Татевосян А. В. Мат.-лы науч. сессии ЕрГУУВ. Ереван, 1976.
6. Нехорошева А. Г., Белова В. И., Евдокимова М. П. Тр. ВНИИДС, 25, М., 1976.
7. Тубаев С. А. Инфекционные и инвазионные болезни с/х животных в Казахстане. Алма-Ата, 1980.
8. Федоров Н. С. Автореф. канд. дисс., М., 1979.
9. Goitard W., Puritzscher M. Zbl. Bakteriол., Parasitenk. Infektionskrankh. und Hyg., 3, 4, 330, 1976.
10. Metzner V. J., Beckemeier H., Böhm P. Zbl. Pharm., Pharmakol. und Laboratorium, 118, 6, 573, 1979.
11. Volna F. Ceskoslov. epidem., mikrobiol., imunol., 28, 3, 178, 1979.
12. Chalmers L. Domestic and industrial chemical specialties, London, 1966.

Մտնում է 4.XI.1987 թ

Биолог. ж. Армения, т. 41, № 2, 1988

УДК 576.85

О ГОМОЛОГИИ ДНК КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

А. Ю. ГАРИБЯН, А. М. ЛЫСЕНКО, А. Д. НАЛБАНДЯН

Институт микробиологии АН СССР, Москва
Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Клубеньковые бактерии—горох—прахис—гомология ДНК

ДНК-гомология двух сопоставляемых организмов, определяемая с помощью методов молекулярной гибридизации ДНК, в настоящее время является одним из решающих критериев в систематике микроорганизмов.

Клубеньковые бактерии в этом отношении изучены недостаточно [1, 3-5]. Некоторые исследователи наблюдали корреляцию между го-

мологичностью ДНК, составом внеклеточных полисахаридов и нитрогеназной активностью клубеньковых бактерий сои [4].

Целью наших исследований являлось изучение некоторых генетических характеристик клубеньковых бактерий арахиса и гороха.

Материал и методика. Объектом исследований служили выделенные из почв АрмССР клубеньковые бактерии гороха *Rhizobium leguminosarum*, штаммы ИИМИА В-5601, 5602, 5603 и арахиса *Bradyrhizobium sp. (arachidis)*, штаммы ИИМИА В-6091, 6092, 6093, 6094, вошедшие в коллекцию культур Института микробиологии АН АрмССР.

Быстрорастущие клубеньковые бактерии гороха выращивали в бобовом экстракте с добавлением 1% сахарозы на качалке в течение 2 суток, а медленнорастущие культуры арахиса — на пептино-дрожжевой агаризованной среде (пептон—0,2%; дрожжевой экстракт—0,2%; глюкоза—2%; агар—1,8%) в течение 3 суток при 28°.

Выделение и очистку ДНК проводили по методу Мармура [6] с последовательной обработкой клеток лизоцимом (50 мкг/мл, в течение 30—40 мин при 37°) и додецилсульфатом Na (10 мин при 60°). Концентрацию и степень очистки препаратов ДНК определяли спектрофотометрически на спектрофотометре Spectral UV-VIS (ГДР). При необходимости прикиссы полисахаридов из препаратов ДНК удаляли центрифугированием при 25000 об/мин в течение 2 часов.

Определение содержания ГЦ-пар проводили путем термической денатурации раствора ДНК (концентрация 20 мкг/мл в 0,1 буфере (SSC/10, SSC буфер—0,1 M NaCl и 0,015 M цитрат натрия, pH 7,0±0,2) на регистрирующем спектрофотометре марки Pye Unicam SP-1800 (Англия) при скорости нагрева 0,5°/мин. Молекулярный процент ГЦ-пар рассчитывали по формуле ГЦ мол. % = $2,08 \cdot T_{1/2} - 106,4$ [7], аддитивной для плавления ДНК в разбавленных солевых растворах. В качестве внутреннего стандарта использовали ДНК *Escherichia coli* K-12. Степень ДНК-ДНК гибридизации определяли спектрофотометрически по методу Де Лея [2]. Препараты ДНК фрагментировали ультразвуком (УЗДН-1) в течение 5 мин при частоте 22 кГц, концентрацию доводили до 50 мкг/мл и денатурировали нагреванием в 0,1 SSC буфере при 105° в течение 8 мин. Реассоциацию проводили при оптимальной температуре ($T_{опт.} = 0,5 + 47,0$) в течение 40 мин. Процент гомологии рассчитывали по формуле, предложенной Де Леєм с поправкой [2].

Результаты и обсуждение. Приведенные в таблице данные показывают, что все исследованные штаммы клубеньковых бактерий достаточно выражены по нуклеотидному составу, т. е. различия в содержании ГЦ-пар внутри вида не превышают 2—3 мол. %, а диапазон колебаний составляет 59—65% ГЦ, что соответствует литературным данным

Нуклеотидный состав и гомология в ДНК

Штаммы клубеньковых бактерий		Температура плавления ДНК, °C	Нуклеотидный состав ГЦ мол. %	Гомология в ДНК, % по отношению к	
				шт. 5601 гороха	шт. 6093 арахиса
Гороха	5603	79,7	59,4	100	12,0
	5601	80,5	61,1	67,0	—
	5602	80,6	61,2	80,0	—
Арахиса	6093	81,1	62,3	12,0	100
	6094	81,1	62,3	11,0	85,0
	6091	—	—	12,0	96,0
	6092	81,7	63,5	13,0	92,0
	<i>E. coli</i> K-12	78,5	51,3	—	—

Примечание: (—) — исследование не проводилось.

о нуклеотидном составе ДНК у различных видов рода *Rhizobium*. Высокий уровень гомологии ДНК обнаруживается у различных штаммов клубеньковых бактерий арахиса (86—100%), причем в генетическом отношении этот вид отдален от клубеньковых бактерий гороха (обнаружено 10—15% общих гомологичных последовательностей в ДНК).

Определенное генетическое родство, не выходящее за рамки вида, прослеживается у 3 штаммов клубеньковых бактерий гороха (70—100%). Интересно отметить, что определение размера генома у 4 штаммов клубеньковых бактерий арахиса выявляет близкие значения молекулярной массы их ДНК: штаммы 6091, 6092, 6093 и 6094 в расчете на один нуклеотид имеют следующие молекулярные массы ДНК (в дальтонах): $1,6 \times 10^9$; $1,8 \times 10^9$; $1,9 \times 10^9$; $1,5 \times 10^9$ соответственно.

Таким образом, на основании изучения геномной характеристики культур выявлено близкое генетическое родство у 4 штаммов клубеньковых бактерий арахиса и 3 штаммов клубеньковых бактерий гороха, не выходящее за рамки одного вида, причем в генетическом отношении вид клубеньковых бактерий арахиса удален от клубеньковых бактерий гороха.

ЛИТЕРАТУРА

1. Goux V. L., Jarvis B. D. W., Ortenwood R. M. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 31, 2, 152—172, 1981.
2. De Ley J., Carroir H., Reynaerts A. *Eur. J. Biochem.*, 12, 133—142, 1970.
3. Gerald H., Etikan, Usanis R. A. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 21, 4, 295—298, 1971.
4. Huber Thomas A., Agarwal Arun K., Keister D. L. *J. Bacteriol.*, 158, 3, 1168—1171, 1981.
5. Jarvis B. D. W., Dick A. G., Greenwood R. M. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 30, 1, 42—52, 1980.
6. Marmur J. *Mol. Biol.*, 3, 208—218, 1961.
7. Owen R. J., Hill L. R., Lapage S. P. *Biopolymers*, 7, 5, 3, 1969.

Поступило 4.VI 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 2, 1988

УДК 579.64.631

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТИВНЫХ ФОРМ НИТРАГИНА

А. Д. НАЛБАНДЯН, В. А. АВЕТИСЯН

Нитрагин—клубеньковые бактерии—бектониг.

Нитрагинизация бобовых растений применяется во многих странах мира.

В СССР чистый доход от применения нитрагина составляет в среднем 30—50 рублей, а для зон и новых районах ее возделывания—до 150—200 рублей на гектар [5].

В настоящее время в мире выпускается около 60 товарных форм препаратов для нитрагинизации бобовых растений, в виде чистых культур клубеньковых бактерий, смеси их с субстратами-носителями (поч-