

В. ТОХВЕР, Э. ЛОКК

К ВОПРОСУ О ПРОТОТРОФНОСТИ И РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

Уже в относительно ранних работах по радиационной генетике микроорганизмов указана возможность применения ионизирующих излучений для практических нужд селекции (см., напр., Jordan, 1952; Гальцова, Вакина, 1957; Ремезова, 1957). На такую возможность указывает и одна из первых крупных современных монографий по радиобиологии (Fritz-Niggli, 1959). Как известно, в последние годы в этой области достигнуты значительные успехи, которые особенно заметны в селекции продуцентов некоторых важных биохимических соединений, кроме того, имеется ряд данных и указаний по применению ионизирующих излучений и для селекции микроорганизмов на основе более комплексных признаков, в частности для селекции клубеньковых бактерий (Алиханян, 1958, 1961; Емцев, 1962). С. Алиханян обрисовал при этом главные черты схемы селекции клубеньковых бактерий с использованием ионизирующих излучений, в том числе и рентгеновского. В опытах В. Емцева на *Rhizobium lupini* использовалось γ -излучение в дозах 50—500 кр, причем были получены некоторые более активные по сравнению с исходными варианты клубеньковых бактерий люпина, несмотря на то, что процент выживаемости составил лишь 7,5.

В связи со сказанным представляет интерес вопрос о возможности применения в селекции клубеньковых бактерий более мягких условий облучения, тем более, что селекция этих бактерий в целях получения новых активных форм представляет собой постоянную задачу (Доросинский, 1965).

Одной из первых задач при установлении правильных условий облучения (в том числе и дозы) для селекции микробов является получение данных о резистентности объект-организмов к данному виду излучения. Исходя из этого, нами изучалась резистентность некоторых видов и штаммов клубеньковых бактерий к рентгеновскому излучению. Исследование радиорезистентности связывалось с изучением прототрофности клубеньковых бактерий, т. е. их способности жить и размножаться за счет простых минеральных веществ. Цель такого комплексного исследования состояла в выяснении возможной связи между указанными признаками. Особое значение для клубеньковых бактерий имеет при этом их требовательность к усвояемому азоту в питательной среде (Rangaswami, Oblisami, 1962), а также к факторам роста (витаминам) (Graham, 1963) и комплексным формам органического вещества.

Объектами исследования служили быстрорастущие виды *Rhizobium leguminosarum* (штаммы 209-А и 134, соответственно из гороха и вики) и *Rhizobium meliloti* (штаммы 276 и 425-А, соответственно из белого донника и люцерны) и медленно растущие виды *Rhizobium japonicum* (штамм 631) и *Rhizobium lupini* (штамм 359-А).

Методика опытов

Определение степени прототрофности бактерий. Маточные культуры выращивали в пробирках на косом агаре следующего состава (среда № 28 американской коллекции типовых культур, см. Manual of Microbiological Methods, 1957, стр. 113):

дрожжевой экстракт	— 1 г
агар	— 15 г
почвенный экстракт	— 200 мл
водопроводная вода	— 800 мл
маннит	— 10 г

После инкубации при 27,5°C бактериальную массу собирали и приготавливали суспензии (в 0,15M NaCl) для высева в среды различной обогащенности азотом, витаминами (факторами роста) и комплексом органических веществ. Применяли следующие среды:

Среда № 1 — минимальная	
дистиллированная вода	— 1000 мл
K ₂ HPO ₄	— 0,5 г
MgSO ₄	— 0,2 г
NaCl	— 0,1 г
CaCl ₂	— 0,2 г
смесь микроэлементов по М. В. Федорову	— 1,0 мл
глюкоза	— 5,0 г
Среда № 2 — минимальная среда (№ 1) + 0,5 г/л NH ₄ NO ₃	
Среда № 3 — минимальная среда (№ 1) + 10 мл/л смеси факторов роста (витаминов)	
Среда № 4 — минимальная среда (№ 1) + 0,5 г/л NH ₄ NO ₃ + 10 мл/л смеси факторов роста (витаминов)	
Среда № 5 (обогащенная) — минимальная среда (№ 1) + 100 мл/л дрожжевого экстракта	

При изготовлении сред с факторами роста к минимальной среде прибавляли 10 мл/л смеси витаминов следующего состава:

дистиллированная вода	— 100 мл
тиамин (<i>thi</i> , витамин B ₁)	— 10 мг
рибофлавин (<i>rib</i> , витамин B ₂)	— 10 мг
пиридоксин (<i>pd</i> , витамин B ₆)	— 5 мг
витамин B ₁₂	— 1 мг
никотиновая кислота (<i>nic</i> , витамин B ₃)	— 5 мг
пантотеновая кислота (<i>pan</i> , витамин B ₅)	— 3 мг
пара-аминобензойная кислота (<i>pab</i>)	— 3 мг
биотин (<i>bio</i> , витамин H)	— 10 мг

Опыты проводили в 50-миллилитровых эрленмейеровских колбах, содержащих по 30 мл соответствующей питательной среды, в 4-кратной повторности (для каждой повторности опыта выращивали свою маточную культуру), причем в каждой повторности заражали по 3 колбы. Общая повторность опытов была, таким образом, 12-кратная. Все колбы заражались 1,0 мл второго разведения суспензии клеток в 0,15M NaCl. Инкубация при 27,5° продолжалась для быстрорастущих видов (*Rh. leguminosarum*, *Rh. meliloti*) 3 дня, а для медленно растущих видов (*Rh. japonicum*, *Rh. lupini*) — 7 дней. В конце инкубации определяли концентрацию клеток в культуре (методом прямого счета под микроскопом) и мутность культуры (методом нефелометрии), принимая эти данные за показатели интенсивности размножения клеток на данной среде.

Средние данные численности бактерий (мутности культуры) на определенной среде выражали в процентах от соответствующих показателей на минимальной среде, которые принимали за 100%. Более сильно выраженной прототрофности отвечает при этом менее значительное возрастание интенсивности размножения бактерий (т. е. менее значительное возрастание концентрации клеток в течение инкубации) в результате обогащения среды азотом, витаминами и, в частности, дрожжевым экстрактом.

Следует отметить, что указанные относительные цифры, вычисленные на основе данных, полученных методами прямого счета и нефелометрии, в наших опытах хорошо

сспадали. Найденный на основе 30 пар соответствующих данных коэффициент корреляции составляет 0,855. Такое значение коэффициента корреляции позволяет ожидать совпадения результатов обоих методов с вероятностью >99,9%. Следовательно, данные нефелометрии хорошо отражают численность клубеньковых бактерий в жидкой среде.

Определение радиорезистентности бактерий. Маточные культуры выращивали по методике, аналогичной вышеописанной, т. е. в пробирках на косом агаре (на указанной американской среде) в течение 6-8 дней. После этого производили облучение культур рентгеновскими лучами в установке РУМ-7, применяя мощность излучения 31,3 р/сек. Дозировку облучения обеспечивали варьированием продолжительности экспозиции. Применялись дозы 0,5; 2,0; 8,0; 16,0 и 20,0 кр, соответствующие временам экспозиции 0'16"; 1'04"; 4'16"; 8'32" и 10'40". Повторность облучения была 3-кратная, т. е. каждой данной дозой облучали по 3 пробирки с маточной культурой.

Непосредственно после облучения культур данного вида (штамма) готовили по 3 суспензии из каждой пробирки, забывая платиновой петлей маленькую порцию бактериальной массы из середины облученной площадки. Для приготовления суспензии применяли 0,15M NaCl. Этот же раствор применялся и для разведения полученных суспензий клеток до концентрации примерно $4 \cdot 10^3$ клеток в миллилитре. Посевы на агаровую среду № 5 производились 0,05 мл разведенной суспензии в чашках Петри. Так как повторность посевов для каждой суспензии облученной культуры была 3-кратная, общая повторность опытов для каждой дозы облучения была 9-кратная. Культуры быстрорастущих видов инкубировались при 27,5° в течение 72 ч, а культуры медленно растущих видов — в течение 166 ч, после чего устанавливали число выросших колоний и на основе полученных данных вычисляли долю жизнеспособных клеток в посевном материале, принимая, что каждая выросшая колония отвечает одной жизнеспособной клетке. Полученные таким образом результаты выражали в процентах от результата необлученного контроля, принимая полученные цифры за показатели радиорезистентности подопытных культур.

Кроме того, радиорезистентность изученных клубеньковых бактерий характеризовалась и продолжительностью начальных фаз приспособления (начальной стационарной и лаг-фаз) до появления логарифмического размножения клеток. Для получения соответствующих данных культуры выращивали на жидкой среде № 5 (в 50-миллилитровых эрленмейеровских колбах, аналогично опытам по выяснению прототрофности культур) в 9-кратной повторности для каждой дозы облучения. Через 6-часовые интервалы определяли численность клеток прямым счетом под микроскопом и мутность культуры нефелометрически. На основе этих данных строили графики динамики роста культуры, по которому устанавливали продолжительность стационарной и лаг-фаз.

По данным этих же опытов устанавливали интенсивность размножения бактерий во время логарифмической фазы. За количественный показатель интенсивности размножения клеток брали при этом значение коэффициента «меры роста культуры» по Слейтору (Porter, 1947), вычисляемого по уравнению

$$0,434k = \frac{1}{t} \log \frac{b}{B},$$

где 0,434k — указанный коэффициент, t — время в подходящих единицах измерения (в наших опытах — в часах), B — концентрация бактериальных клеток в начале и b — в конце интервала времени, определенного через t . Из уравнения видно, что большей интенсивности размножения клеток отвечает большее значение 0,434k.

Результаты опытов

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что клубеньковые бактерии очень резко реагируют уже на прибавление в минимальную среду одного минерального азота — в результате этого наблюдается увеличение

численности клеток в культуре на 85—618, в среднем на 321%. Это лишний раз доказывает, что клубеньковые бактерии в условиях лабораторных чистых культур проявляют значительную потребность в связанных формах азота, несмотря на свою способность к росту и без прибавления азота за счет тех минимальных его количеств, которые находятся в реактивах, используемых для приготовления питательных сред.

В то же время прибавление только смеси витаминов, как правило, практически не дает эффекта. Но прибавление витаминов одновременно с минеральным азотом заметно повышает эффективность последнего — происходит увеличение численности клеток в среднем на 415%. Факторы роста проявляют, следовательно, положительный эффект при условии снабженности культуры питательными элементами, в частности азотом.

Наибольший эффект (в смысле интенсификации роста культур клубеньковых бактерий) получается, если в минимальную среду прибавляется целый комплекс органических веществ в виде дрожжевого экстракта. В результате такого обогащения среды численность клеток в наших опытах увеличивалась на 524—992, в среднем на 844%. Оценивая такое повышение интенсивности роста культур с точки зрения прототрофности (или ауксотрофности) изучаемых микроорганизмов, можно сказать, что клубеньковые бактерии по этому признаку лежат где-то между «настоящими» прото- и ауксотрофами. При этом, конечно, более сильно выраженной прототрофности (или же менее сильно выраженной ауксотрофности) отвечает меньший эффект от обогащения минимальной среды. Возникает вопрос — каковы в этом отношении различия между видами и штаммами изученных клубеньковых бактерий? Проведенный дисперсионный анализ дал по этому поводу следующую картину:

Источник варьирования	S	n'	σ^2	F	Критический F при уровне значимости $p = 0,05$
Тотальное варьирование	182	23			
Виды и штаммы	16	5	3,20	1,09	2,901
Питательные среды	122	3	40,7	13,9	3,287
Факторы остатка	44	15	2,94		

Из такого распределения данных следует, что главной причиной варьирования является различие питательных сред. Статистически достоверного варьирования по видам и штаммам бактерий на основе суммарного сопоставления данных не установлено. Тем не менее, специальные приемы сравнения позволяют обнаружить реальные различия между прототрофностью медленно- и быстрорастущих видов клубеньковых бактерий (соответственно *Rh. japonicum* и *Rh. lupini*, с одной стороны, и *Rh. leguminosarum* и *Rh. meliloti*, с другой). Нами была вычислена минимальная различимая цифровая дифференция для проведенных опытов (d_{min}), с использованием уравнения

$$d_{min} = t \cdot \pm \sqrt{\sigma^2_{\text{остатка}} \cdot [(1/n_1) + (1/n_2)]},$$

где обозначения символов обычные для статистики. Оказалось, что $d_{min} = \pm 158$, причем различие между средними данными, характеризующими прототрофность сравниваемых видов, равняется ± 226 (средняя эффективность дрожжевого экстракта для быстрорастущих + 631 и

Таблица 1

Рост культур видов и штаммов рода *Rhizobium* при различной обогатенности питательной среды азотом, органическим веществом и факторами роста

Виды и штаммы	Интенсивность роста культур, % от показаний роста на минимальной среде											
	Среда № 2			Среда № 3			Среда № 4			Среда № 5		
	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	t	P, %	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	t	P, %	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	t	P, %	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	t	P, %
<i>Rh. leguminosarum</i> 209-A (горох)	185 ± 62	3,0	95	166 ± 17	9,8	99	522 ± 165	3,2	95	624 ± 179	3,5	95
<i>Rh. leguminosarum</i> 134 (вика)	316 ± 88	3,6	97,5	128 ± 11	11,6	99,8	529 ± 235	2,2	90	670 ± 256	2,6	90
<i>Rh. meliloti</i> 276 (белый клевер)	718 ± 290	2,5	95	93 ± 3	31,0	99,9	530 ± 177	3,0	95	845 ± 479	1,8	87,5
<i>Rh. meliloti</i> 425-A (люцерна)	465 ± 192	2,4	95	83 ± 3	27,7	99,9	327 ± 87	3,7	97,5	786 ± 299	2,6	95
<i>Rh. japonicum</i> 631 (соя)	320 ± 50	6,4	99	109 ± 6	18,1	99,9	448 ± 63	7,1	99,5	822 ± 236	3,5	97,5
<i>Rh. lupini</i> 359-A (люпин)	523 ± 165	3,2	95	106 ± 4	26,5	99,9	708 ± 184	3,8	97,5	1092 ± 410	2,7	95

Примечание. P, % — уровень значимости \bar{x} , % при односторонней оценке; число степеней свободы во всех случаях $n' = 3$.

Таблица 2
Радиорезистентность различных видов и штаммов рода *Rhizobium*

Виды и штаммы	Выживаемость клеток (% от необлученного контроля) при дозе облучения														
	0,5 кр			2,0 кр			8,0 кр			16,0 кр			20,0 кр		
	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	n'	P, %	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	n'	P, %	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	n'	P, %	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	n'	P, %	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	n'	P, %
<i>Rh. leguminosarum</i> 209-A (горох)	91,0 ± 1,01	8	99,9	89,0 ± 1,37	8	99,9	67,6 ± 1,30	8	99,9	54,7 ± 1,60	8	99,9	47,9 ± 1,19	8	99,9
<i>Rh. leguminosarum</i> 134 (вика)	80,8 ± 2,23	8	99,9	93,0 ± 4,06	8	99,9	68,1 ± 4,63	8	99,9	39,1 ± 2,94	8	99,9	38,1 ± 3,85	8	99,9
<i>Rh. meliloti</i> 276 (белый донник)	74,1 ± 6,52	5	99,9	73,1 ± 2,14	5	99,9	68,8 ± 6,89	8	99,9	51,5 ± 5,10	7	99,9	38,9 ± 5,90	8	99,9
<i>Rh. meliloti</i> 425-A (люцерна)	98,4 ± 2,83	8	99,9	93,1 ± 4,03	8	99,9	63,3 ± 2,17	8	99,9	60,9 ± 3,81	8	99,9	55,8 ± 1,96	8	99,9
<i>Rh. japonicum</i> 631 (соя)	73,9 ± 1,99	8	99,9	65,5 ± 4,37	8	99,9	43,9 ± 4,20	8	99,9	34,3 ± 3,36	8	99,9	29,5 ± 4,54	8	99,9
<i>Rh. lupini</i> 359-A (люпин)	74,6 ± 4,10	2	99	69,3 ± 3,87	2	99	65,4 ± 9,08	2	98	33,0 ± 4,85	2	95	23,4 ± 0,94	2	99,8

Примечание. n' — число степеней свободы; P, % — уровень значимости \bar{x} , % при двухсторонней оценке.

для медленнорастущих +857%). Следовательно, можно сказать, что медленнорастущие виды проявляют хотя и не совсем четко, но все же достоверно меньшую прототрофность, чем быстрорастущие виды. Быть может, именно этим и объясняется меньшая скорость их роста в лабораторных условиях.

Что касается радиорезистентности изученных клубеньковых бактерий к рентгеновскому излучению, то полуметаллами для них являются дозы примерно в пределах 8,0—16,0 кр (табл. 2). При этом быстрорастущие виды характеризуются LD_{50} , приближающимся к верхнему пределу (16 кр), а медленнорастущие — LD_{50} , лежащим вблизи 8,0 кр.

Таблица 3

Влияние рентгеновских лучей на продолжительность фаз приспособления и интенсивность размножения в логарифмической фазе

Виды и штаммы	Продолжительность начальной стационарной и лаг-фаз, ч		Коэффициент интенсивности размножения в логарифмической фазе роста (0,434k)	
	в контроле	в облученной 20 кр культуре	в контроле	в облученной 20 кр культуре
<i>Rh. leguminosarum</i> 209-A (горох)	35 ÷ 38	52 ÷ 54	0,055	0,057
<i>Rh. leguminosarum</i> 134 (вика)	35 ÷ 37	55 ÷ 57	0,061	0,053
<i>Rh. meliloti</i> 276 (белый донник)	31 ÷ 35	49 ÷ 50	0,067	0,059
<i>Rh. meliloti</i> 425-A (люцерна)	32 ÷ 35	45 ÷ 46	0,085	0,072
<i>Rh. japonicum</i> 631 (соя)	92 ÷ 94	110 ÷ 118	0,034	0,034
<i>Rh. lupini</i> 359-A (люпин)	81 ÷ 82	110 ÷ 113	0,031	0,037

Различная радиочувствительность обеих групп видов рода *Rhizobium* особенно отчетливо видна по данным выживаемости клеток при дозе облучения 20 кр (табл. 2). Кроме того, этот вывод подтверждается и данными о продолжительности начальной стационарной и лаг-фаз культур, облученных дозой в 20 кр (табл. 3). У быстрорастущих видов в результате облучения происходит увеличение продолжительности указанных фаз приспособления на 11—20, а у медленнорастущих — на 28—31 ч.

Дисперсионный анализ данных, приведенных в табл. 2, дал следующие результаты:

Источник варьирования	S	n'	σ^2	F	Критический F при уровне значимости $p = 0,05$
Тотальное варьирование	126	29			
Виды и штаммы	30	5	6,00	10,9	2,711
Дозы облучения	85	4	21,25	38,7	2,866
Факторы остатка	11	20	0,55		

Из данных анализа видно, что хотя главным источником варьирования и являются различные дозы облучения, статистически доказанное варьирование происходит и за счет различий чувствительности отдельных видов. Далее, нами вычислена и минимальная достоверно различимая дифференция d_{min} для данного опыта (см. уравнение, приведенное выше). Оказалось, что $d_{min} = 6,0$ (%), в то время как при дозе 20 кр средние показатели выживаемости для быстро- и медленнорастущих видов различаются на 17,8 (%) (средние показатели — 45,2 и 26,4 соответственно). Значение t для установленной дифференции, вычисленное

по уравнению (Bailey, 1959) $t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$, равно 2,78, что означает,

что при данном числе степеней свободы $n' = 4$ уровень значимости этой дифференции отвечает 0,95, или 95%. Следовательно, полученные данные достоверно показывают меньшую радиорезистентность медленнорастущих видов клубеньковых бактерий по сравнению с быстрорастущими. При этом, как показывает проведенный χ^2 -анализ, нуль-гипотеза о гомогенности ответа штаммов быстрорастущих видов статистически действительна, что позволяет сравнивать среднее по этим видам с данными медленнорастущих видов ($\chi^2 = 9,4$, причем критическое значение χ^2 при числе степеней свободы $n' = 12$ и уровне значимости нуль-гипотезы $p = 0,05$ отвечает 21,03).

Заслуживает внимания тот факт, что в логарифмической фазе роста не обнаружено существенных, систематических по направлению и значениям различий между коэффициентами интенсивности размножения клеток у облученных и необлученных культур, несмотря на то, что фазы приспособления таких культур по продолжительности значительно различаются. В то же время у быстро- и медленнорастущих видов клубеньковых бактерий наблюдаются весьма большие различия между значениями коэффициента 0,434k (табл. 3).

Далее представляет интерес сопоставление данных о прототрофности и радиорезистентности изученных видов и штаммов. Для изучения соотношения изменений соответствующих показателей нами вычислялся коэффициент корреляции r между данными, характеризующими ауксотрофность или «отрицательную» прототрофность (эффективность прибавления в минимальную среду дрожжевого экстракта), и данными, характеризующими радиорезистентность изучаемых видов и штаммов (выживаемость при дозе облучения 20 кр). Значение коэффициента $r = -0,674$. Это означает, что корреляция между сравниваемыми величинами отрицательна и отвечает при числе степеней свободы $n' = 10$ уровню значимости 99,8%. Такое же отношение между прототрофностью и радиорезистентностью (большей прототрофности отвечает большая радиорезистентность) установлено и при применении для анализа ранговой корреляции (коэффициента корреляции Спирмана ρ). Значение ρ вычислялось по формуле $\rho = 1 - \frac{6\sum d^2}{n^3 - n}$. Оно равно $-0,60$ и отвечает уровню значимости 95%. Как видно, ранговая корреляция в отличие от предыдущего указывает на меньший уровень значимости (в пределах статистической достоверности), но показывает такую же направленность отношения изменений в изучаемых признаках, как и «обычный» корреляционный анализ.

Выводы

1. Изученные виды клубеньковых бактерий *Rh. leguminosarum* (штаммы гороха и вики), *Rh. meliloti* (штаммы белого донника и люцерны), *Rh. japonicum* (штамм сои) и *Rh. lupini* (штамм люпина) характеризуются ограниченной прототрофностью по отношению к азоту, факторам роста и комплексным органическим веществам, причем у медленнорастущих видов (*Rh. japonicum* и *Rh. lupini*) указанные свойства выражены слабее, чем у быстрорастущих (*Rh. leguminosarum* и *Rh. meliloti*).

2. Факторы роста, внесенные в минимальную среду, оказывают эффективное положительное влияние на рост и размножение клубеньковых бактерий лишь при одновременном внесении минерального азота, т. е. при условии обеспеченности культуры питательными элементами, в то время как минеральный азот проявляет значительный эффект и без внесения витаминов.

3. По резистентности к рентгеновскому излучению изученные виды четко делятся на две группы. В первую входят быстрорастущие виды (*Rh. leguminosarum*, *Rh. meliloti*), которые отличаются значительно большей радиорезистентностью, чем медленнорастущие виды (*Rh. japonicum*, *Rh. lupini*), входящие во вторую группу. LD₅₀ у первых равно около 16 кр, у вторых — около 8—10 кр. При облучении дозой 20 кр у первых продолжительность фаз приспособления увеличивается на 11—20, у вторых — на 28—31 ч, а средняя выживаемость при такой дозе у быстрорастущих видов равна 45,2% против 26,4 у медленнорастущих.

4. Доказана статистически достоверная корреляция между степенью прототрофности и радиорезистентностью у клубеньковых бактерий: более высокой степени прототрофности отвечает большая устойчивость к влиянию рентгеновских лучей.

ЛИТЕРАТУРА

- Алиханян С. И., 1958. Бюлл. Моск. о-ва испыт. природы, отд. биол. 63 (3).
 Алиханян С. И., 1961. Тр. Ин-та микробиол. 10 : 46—58.
 Гальцева Р. Д., Вакина И. П., 1957. Тезисы докл. на Всес. конф. по применению радиоактивных и стаб. изотопов и излучений : 61—62. М.
 Доросинский Л. М., 1965. Успехи микробиологии 2 : 145—169. М.
 Емцев В. Т., 1962. Изв. АН СССР Сер. биол. (5) : 732—739.
 Ремезова Т. С., 1957. Тезисы докл. на Всес. конф. по применению радиоактивных и стаб. изотопов и излучений : 57. М.
 Bailey N. T. J., 1959. Statistical Methods in Biology. London.
 Fritz-Niggli H., 1959. Strahlenbiologie. Grundlagen und Ergebnisse. Stuttgart.
 Graham P. H., 1963. J. Gen. Microbiol. 30 (2).
 Jordan D. I., 1952. Canad. J. Bot. 30 (2).
 Manual of Microbiological Methods by the Society of American Bacteriologists, 1957. New York.
 Porter J. R., 1947. Bacterial Chemistry and Physiology. New York.
 Rangaswami G., Oblisami G., 1962. J. Indian Soc. Soil Sci. 10 (3).

Тартуский государственный университет
 Институт экспериментальной биологии
 Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
 8/XII 1965

V. TOHVER, E. LOKK

MÜGARBAKTERILIIKIDE PROTOTROOFSUSEST JA RADIO-RESISTENTSUSEST

Resümees

Uuritud mügarbakteriliike (*Rh. leguminosarum* — herne ja viki tüvi, *Rh. meliloti* — valge mesika ja lutserni tüvi, *Rh. japonicum* — soja tüvi, *Rh. lupini* — lupiini tüvi) iseloomustab piiratud prototroofsus lämmastiku kasvufaktorite ja kompleksse orgaanilise aine suhtes. Seejuures on prototroofsus aeglaselt kasvavatel liikidel (*Rh. japonicum*, *Rh. lupini*) nõrgemini väljendunud kui kiiresti kasvavatel liikidel (*Rh. leguminosarum*, *Rh. meliloti*). Väärib tähelepanu, et minimaalsöötmesse lisandamisel avaldub kasvufaktorite positiivne efekt vaid siis, kui kultuuri samaaegselt varustatakse lämmastikuga, kuna viimane on efektiivne ka vitamiini lisandamata.

Resistentsuse poolest röntgenkiirgusele jagunevad uuritud liigid selgesti kahte gruppi, mis ühtivad eeltoodud jaotusega kiiresti ja aeglaselt kasvavateks liikideks. Märgatavalt vastupidavamad kiirgusele on esimesed. LD₅₀ on esimestel ligikaudu 16 kr, teistel 8—10 kr. 20 kr doosi puhul pikeneb kohastumisfaaside kestus kiiresti kasvavatel liikidel 11—20 tundi, aeglaselt kasvavatel liikidel 28—31 tundi. Seejuures on esimestel keskmiseks üleelamismääraks 45,2%, teistel 26,4%.

Artiklis toodud andmetest ilmneb statistiliselt usaldusväärne korrelatsioon mügarbakterite prototroofsusastme ja radioresistentsuse vahel: kõrgemale prototroofsusastmele vastab suurem resistentsus röntgenkiirtele.

Tartu Riiklik Ülikool
Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetusse
8. XII 1965

V. TOHVER, E. LOKK

ON THE PROTOTROPHIC PROPERTIES AND X-RAY RESISTANCE
IN ROOT NODULE BACTERIA

Summary

In laboratory cultures the species of the root nodule bacteria under investigation (*Rh. leguminosarum* — garden pea and common vetch strains, *Rh. meliloti* — white sweetclover and alfalfa strains, *Rh. japonicum* — fodder soybean strain, *Rh. lupini* — blue lupine strain) were found to reveal limited prototrophic properties relative to nitrogen, growth factors and complex organic matter (yeast extract). Besides the slowly growing species, *Rh. japonicum* and *Rh. lupini* were found to be to some extent less prototrophic with regard to these substances than the rapidly growing ones (*Rh. leguminosarum* and *Rh. meliloti*). It is worth mentioning that in minimum media the positive effect of growth factors becomes apparent only if nitrogen is added simultaneously, while nitrogen is effective already without growth factors.

With reference to X-ray resistance, the root nodule bacteria may be divided into two distinct groups. The rapidly growing species form the more resistant one, the slowly growing species belonging to the less resistant group. The LD₅₀ for the rapidly growing species is approximately 16 kr, while the LD₅₀ for the slowly growing species is only about 8—10 kr. If the 20 kr dose was used, the continuance of the phases of adaptation lengthened by 11—20 hours and 28—31 hours respectively. Under these conditions the survival rate of the first group was 45.2 per cent, and that of the second group — 26.4 per cent.

Data presented in this paper show that there exists a statistically substantiated positive correlation between the rates of prototrophic properties and X-ray resistance in root nodule bacteria species.

Tartu State University
Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology

Received
Dec. 8, 1965