

назочковидные, полуживые. Аэробы, граммоложительны (образуют активные амлолитические и протеолитические свойства). Морфологофизиологические особенности изучаемых культур *B. thuringiensis* соответствуют описаниям в известных определениях [3, 9].

Культуры бактерий выращивали в жидких условиях, в колбасных жидкостях (250 мл) по 25 мл на рыбном бульоне следующего состава (г/л): гидролизат рыбный - 20,0, сернокислый марганец - 0,002, вода дистиллированная - до 1 литра, конечный рН среды 7,2. Плазмы культивировали на крутовой зачалке (250 об/мин) при 30° в течение 16 ч для выделения плазмидной ДНК, по известному методу [10] с модификациями, предложенными ранее [11].

Разделение плазмидной ДНК для определения их относительной подвижности в молекулярной массе проводили электрофорезом в 0,7 % агарозном геле (18 × 18 × 0,3 см) в буфере: 40 мМ трис-ацетат, 5 мМ ацетат натрия и 1 мМ ЭДТА, рН 7,8, в течение 16 ч при 30 вольтках. После окрашивания геля этидий бромидом (0,5 мкг/мл) молекулы ДНК визуализировали по их свечению в ультрафиолетовом свете. Подвижность плазмид и их примерную молекулярную массу определяли по их относительной относительной маркерных молекул с известными молекулярными массами. При визуальной экстракции выделяются как сверхсверхуплотные, так и кольцевые формы плазмид. Дифференцирование этих форм проводили методом относительной подвижности сверхсверхуплотных и кольцевых форм ряда маркерных молекул.

Результаты и обсуждение Полученные данные мы обобщили в виде таблицы, из которой видно, что исследованные плазмиды *B. thuringiensis* содержат плазмиды, количество и молекулярная масса которых варьирует в зависимости от штамма. В некоторых случаях удается выявить также и высокомолекулярные плазмиды. Что касается функции выделенных плазмид, то известно, что одна из высокомолекулярных плазмид содержит ген кристаллического токсина. Вес этой плазмиды варьирует в зависимости от серотипа. Относительно функции низкомолекулярных плазмид было высказано предположение, что они принимают участие в регуляции биосинтеза токсина [14]. Обнаружены также локализация гена устойчивости к тетрациклину на плазмиде 5,2 МД у *B. thuringiensis* var. *berliner* [3]. Однако надо отметить, что других сообщений не было и большинство авторов не рассматривает низкомолекулярные плазмиды как несущие устойчивость к разным антибиотикам. В целом функции низкомолекулярных плазмид остаются критическими.

Исследованные плазмиды	Количество плазмид	Молекулярные веса выделенных плазмид, МД
Серотипированные шт.		
1093 (серотип 3)	5	1,5; 2,2; 5; 6,6; 20
2002 (серотип 4)	7	3,9; 4,3; 5,9; 8,6; 9,2; 10,5; 23,1
1000 (серотип 5)	3	3,6; 4,9; 23,1
2275 (серотип 10)	7	2,5; 3; 3,6; 4,4; 6,6; 8; 13,2
2470 (серотип 15)	3	3,3; 3,96; 4,4
2471 (серотип 16)	2	3,3; 4,4
2472 (серотип 17)	3	4; 5,6; 29,7
2473 (серотип 18)	3	3,6; 5,3; 46,2
2774 (серотип 19)	3	4,6; 8,6; 26,4
Несеротипированные шт.		
131c	2	7,3; 30
132	2	7,3; 30
151	2	5,6; 6,6

164	2	5,6; 6,6
2290	4	6; 8,6; 14; 26,6
2293	1	6,6
2297	5	3,6; 4,4; 6,3; 16,5; 29,7
2298	4	3,6; 4,4; 13,2; 20
2299	3	6; 9; 20
2367	6	2,6; 7,3; 7,6; 9,2; 16,5; 36,3
2368	6	4; 5,2; 5,6; 7,3; 7,6; 16,5
2378	3	4,3; 16,5; 33
2393	5	3,3; 8,6; 9,2; 10,6; 15,5
2397	4	3,6; 5,3; 16,5; 30

При внимательном рассмотрении таблицы можно заметить, что плазмиды с одинаковыми молекулярными весами обнаруживаются у представителей различных серотипов. Плазида 3,6 МД встречается у штаммов 1000, 2275, 2473 и у несеротипированных штаммов 2297, 2298, 2397. Анализ плазмидных спектров несеротипированных штаммов показывает, что у штаммов 151 и 164, а также 131с и 132 плазмидные спектры идентичны в рамках используемых методов выделения плазмид. Другие штаммы, как, например, 2297 и 2298, имеют частично сходные плазмидные спектры. Спектры плазмид некоторых несеротипированных штаммов имеют частичное сходство со спектрами плазмид некоторых серотипированных штаммов. Так, штаммы 2297 и 2298 имеют спектр плазмид, частично сходный со спектром штамма 2471. Некоторое сходство наблюдается и между штаммами 2397 и 2473. Можно предположить, что плазида имеет единое происхождение и распространилась среди штаммов в результате конъюгативного переноса между серотипами. Возможность такого переноса показана в работах Чапмана [3] и Джарета [9]. Учитывая, что в литературе обсуждается вопрос о серотипоспецифичности плазмидного спектра [8, 10, 15], а также опираясь на данные собственных исследований [1], можем сделать заключение о генетическом родстве штамма 2298 с серотипом 16, а штамма 2397 - с серотипом 18. Подобный вывод можно сделать и в отношении штаммов 131с и 132, а также 151 и 164, могущих быть объединенными в один и тот же серотип соответственно.

Вопрос о возможном использовании плазмидных спектров в качестве дополнительной характеристики при описании штаммов особенно интересен в применении к виду *B. thuringiensis* [4, 8, 15], так как практически все исследованные штаммы этого вида содержат плазмиды [7, 13]. Однако к другим видам рода *Bacillus* данный подход нельзя считать приемлемым. Лонгетт и Брамунци [12] обнаружили плазмиды всего у 2 из 18 исследованных штаммов *B. subtilis*, и у 3 из 20 штаммов *B. pumilus*. Танака выявил плазмиды только у 4 из 19 исследованных штаммов *B. subtilis* [16]. 4 штамма *B. subtilis*, исследованных Нонэмурой, вообще не содержали плазмид [17]. При изучении 11 серотипов *B. thuringiensis* и 6 штаммов *Bacillus cereus* Митова [13] обнаружила плазмиды у всех исследованных штаммов *B. thuringiensis* и только у 3 штаммов *B. cereus*. Полученные нами результаты и данные литературы подтверждают тезис о повышенном содержании внехромосомных генетических элементов у бактерий вида *B. thuringiensis* по сравнению со всеми другими видами рода *Bacillus*.

