

А. П. Петросян, Р. Ш. Арутюнян

Температура развития экотипов клубеньковых бактерий

Температурные условия являются одним из важных факторов для эффективного и нормального симбиоза бобовых растений и клубеньковых бактерий.

Установлено, что оба симбионта довольно хорошо приспособились к одинаковым условиям температуры. Оптимальная температура для бобового растения обычно является оптимальной и для развития клубеньковых бактерий (Федоров, 1952).

Ряд исследователей занимался вопросом установления температурных кривых для развития различных бобовых культур, а также выявлением действия их на жизнедеятельность и активность клубеньковых бактерий (Буткевич, Гукова, 1941; Тимурджи, 1940 и др.).

Установлено, что наиболее благоприятной температурой для большинства клубеньковых бактерий и бобовых растений является температура 24°C или же между $20-28^{\circ}\text{C}$; только для клубеньковых бактерий некоторых растений оптимум доходит до $29-31^{\circ}\text{C}$. Более высокие температуры действуют на клубеньковые бактерии отрицательно (Красильников и Кореняко, 1946; Петросян, Наринян и Карагулян, 1949 и др.).

По данным ряда авторов, максимальной температурой для клубеньковых бактерий является $50-60^{\circ}\text{C}$, иногда даже $70-75^{\circ}\text{C}$. Однако нужно отметить, что в жидких питательных средах они гибнут быстрее, чем в почве. Вообще повышенные температуры отрицательно действуют на развитие клубеньковых бактерий.

По экспериментальным данным некоторых авторов (Израильский, Рунов и Бернارد, 1933; Доросинский и Лам-

повщиков, 1948) низкие температуры в отличие от высоких влияют на клубеньковые бактерии менее резко. Об этом говорит, например, перезимовка их в почве или сохранение их жизнедеятельности в замороженном нитрагине. Установлено даже, что замораживание стимулирует рост и активность клубеньковых бактерий, но повторное замораживание и оттаивание действуют губительно.

Как видно из приведенных литературных данных, установлены оптимальные и предельные температурные точки для клубеньковых бактерий различных бобовых культур, а также оптимальные точки, при которых усиливается рост и активность клубеньковых бактерий в клубеньках.

Отличительной стороной настоящей работы является установление температурных кривых для различных экотипов клубеньковых бактерий и их адаптации к различным почвенно-климатическим условиям.

Изучение экологии микроорганизмов, в частности почвенных, можно сказать, впервые начато Е. Н. Мишустинным (1925, 1935). В дальнейшем он подробно изучил экологические особенности группы *Vas. mycoides* (1947).

Нами изучено отношение к температурным условиям экотипов клубеньковых бактерий наиболее распространенных в АрмССР бобовых культур, как-то: люцерны, клевера, эспарцета, вики и фасоли.

Для установления температурных кривых различных экотипов клубеньковых бактерий было отобрано 36 штаммов этих бактерий вышеуказанных бобовых культур. Некоторые штаммы были выделены из почв побережья Черного моря, остальные — из различных почвенно-климатических условий АрмССР, начиная с 500 до 3200 м над уровнем моря.

При постановке опытов все испытываемые штаммы трехдневной культуры пересеивались по две пробирки на бобовый отвар-агар и выдерживались в течение двадцати одного дня при температуре 0, 7, 17, 21, 27, 30, 35, 40, 45°C. Первые десять дней ежедневно, а затем через день, проводились наблюдения и подробное описание интенсивности ро-

ста каждой культуры. Одновременно готовились живые и окрашенные препараты для изучения морфологических изменений клубеньковых бактерий при различных температурах.

Надо отметить, что в таблицах приведены данные наблюдений двух сроков, которые соответствуют минимальному и максимальному росту бактерий. Интенсивность роста клубеньковых бактерий отмечена по пятибалльной системе.

Таблицы 1, 2, 3, 4 и 5 показывают отношение различных видов и экотипов клубеньковых бактерий к различным температурам.

Для большей наглядности часть данных демонстрирована также в виде фотоснимков, произведенных при максимальном росте культур.

Данные, приведенные в таблицах, показывают, что температурная кривая для клубеньковых бактерий различных бобовых культур неодинакова и зависит от основной зоны культивирования данного растения. Например, люцерна как более теплолюбивое и чувствительное к влаге растение, в основном культивируется в низменной поливной зоне. Для испытуемых нами экотипов клубеньковых бактерий люцерны в основном установлена следующая температурная кривая: минимум 7° , оптимум $27-30^{\circ}$, максимум 45° .

У клубеньковых бактерий эспарцета минимальная температура равняется 0° , оптимум $21-27^{\circ}$ и максимум 40° . Эта кривая вполне закономерна, так как эспарцет в основном культивируется в горных неполивных районах республики. Поэтому температурный минимум клубеньковых бактерий этой культуры значительно ниже, чем у люцерны и находится в пределах 0° . Надо отметить, что эспарцет очень хорошо развивается и дает большой урожай также и в низменных районах. Вообще эта культура менее чувствительна к внешним условиям среды, холодостойкая, сухостойкая и т. д.

Клевер — культура в основном средней и влажной зоны. Температурный минимум клубеньковых бактерий клевера равен 7° , оптимум $21-27^{\circ}$, максимум $30-35^{\circ}$.

Таблица 2
Отношение экотипов клубеньковых бактерий эспаргета к температурным условиям

№ штаммов	Год выделения	Высота местн. выделен. штамм. в м над ур. м.	Испытуемые температуры (в °С)														
			0		7	17	21	27	30	35	40	45					
			Дни минимального и максимального роста														
			3	14	3	14	3	9	3	9	3	9	3	9			
48	1948	501	сл	1	сл	3	3	5	3	5	3	1	0	0	0	0	0
47	1948	900	0	2	0	4	3	5	3	5	3	2	4	4	5	3	4
50	1948	1500	0	0	0	3	2	5	2	5	3	5	1	4	1	3	0
58	1948	1925	0	0	0	3	1	5	2	5	3	5	сл	2	1	4	0
60	1951	2000	сл	1	0	3	2	5	2	5	2	4	1	2	0	0	0
61	1951	2250	сл	1	сл	5	3	5	4	5	3	5	4	5	4	2	3

Таблица 4

Отношение экотипов клубеньковых бактерий фасоли к температурным условиям

№ штаммов	Год выделения	Высота местн. выделения штам-мов в м над ур. моря	Испытуемые температуры (в °С)														
			0	7	17	21	27	30	35	40	45						
			Дни минимального и максимального роста														
			3	11	3	9	3	9	3	9	3	9	3	9			
87	1951	б. моря	0	0	4	3	5	3	5	4	5	2	5	0	0	0	0
88	1951	"	0	0	3	сл	5	2	5	3	5	3	2	5	0	0	0
90	1948	500	0	0	1	1	3	2	4	3	4	4	2	5	0	0	0
92	1948	900	0	0	2	2	4	2	5	3	3	5	1	2	0	0	0
96	1951	1000	0	0	сл	3	1	4	2	5	3	5	0	5	0	0	0
98	1948	1350	0	0	2	2	5	2	5	3	5	3	1	4	сл	2	сл
102	1948	1700	сл	1	1	1	4	1	4	2	5	2	5	1	2	0	0
107	1951	1700	0	0	3	1	5	2	4	3	5	2	5	0	2	0	0
109	1951	1700	0	0	3	1	4	3	4	3	4	3	4	0	0	0	0

Таблица 5

Отношение экотипов клубеньковых бактерий вики к температурным условиям

№ штаммов	Год выделения	Высота мест. выделен. штамм. в м над ур. м.	Испытуемые температуры (в °С)														
			Дни минимального и максимального роста														
			0	7	17	21	27	30	35	40	45						
			3	21	3	14	3	9	3	9	3	9	3	9			
110	1948	900	0	0	0	3	2	5	2	5	4	5	0	5	0	0	0
111	1948	1300	0	0	0	4	1	5	2	4	2	5	2	4	0	0	0
112	1948	1925	0	сл	0	3	сл	5	1	4	2	5	2	4	0	0	0
114	1951	2250	0	сл	сл	2	0	3	1	5	2	5	2	5	0	0	0

Температурная кривая для клубеньковых бактерий фасоли в общем соответствует температурной кривой клевера, только оптимум у первой культуры достигает 20—30°, а один штамм, в виде исключения, развился при 40°.

Клубеньковые бактерии вики имеют одинаковую температурную кривую с культурами клевера и фасоли, с той разницей, что два горных штамма вики слабо развились при температуре 0°.

Следует отметить, что установленные нами оптимальные температуры для клубеньковых бактерий различных бобовых растений почти совпадают с данными, имеющимися в литературе; что касается максимальной температуры, то здесь у нас большие расхождения с литературными данными. В наших опытах рост клубеньковых бактерий прекращается при 35—40 и 45°, а по литературным данным при 60—70 и 75°.

Наиболее важным и интересным фактом в наших исследованиях является установление температурных кривых для различных экотипов клубеньковых бактерий. Кардинальные температурные точки различных экотипов одних и тех же видов клубеньковых бактерий заметно различны. Штаммы, выделенные из почв низменной зоны, хорошо развиваются при высокой температуре, а выделенные из горных и высокогорных почв развиваются при сравнительно низкой температуре. Например, для штаммов клубеньковых бактерий люцерны из низины оптимальная температура колеблется в пределах 27—35°. Для горных штаммов этот оптимум заметно ниже, в пределах 21—30°. Максимальная температура для штаммов низины выше 45°, а у горных штаммов рост прекращается при 40—45° (таблица 1). Горные штаммы клубеньковых бактерий клевера развиваются только до 30° и со слабой интенсивностью (рост = 2—3 баллам), а штаммы низины при 35° дают интенсивный рост в 4—5 баллов (табл. 3).

Такой же пример имеется с клубеньковыми бактериями вики: штамм из низины при 35° развился с интенсивностью, равной 5 баллам, горный штамм совсем не дал роста при

той же температуре (табл. 5). Вообще можно отметить, что максимальная температурная точка для низинных штаммов клубеньковых бактерий клевера, фасоли, вики и люцерны на 5—10 градусов выше максимальной температуры горных штаммов.

Вышеприведенные данные не относятся к клубеньковым бактериям эспарцета, так как адаптация к температурным условиям, за исключением единичных штаммов, для различных экотипов клубеньковых бактерий эспарцета не проявляется. Кардинальные точки и оптимальная температура низинных и горных штаммов клубеньковых бактерий эспарцета в основном не подчиняются никакой закономерности, как это ясно видно было для остальных видов клубеньковых бактерий.

Вышеизложенные данные говорят об адаптации естественных рас клубеньковых бактерий к температурным условиям места своего обитания. Необходимо отметить, что адаптированные расы наследственно передают свои особенности и сохраняют их при измененных условиях среды. Доказательством этого положения может служить тот факт, что при наших исследованиях свежевыделенные и хранимые в лаборатории культуры, в течение двух-трех лет проявили одинаковое отношение к различным температурам.

Наши исследования экотипов клубеньковых бактерий из вертикальных зон Армении подтверждают данные Мишустина (1947) о стабильности адаптации различных географических рас *Vas. tuscoides*. Отношение различных экотипов клубеньковых бактерий к температурным условиям иллюстрировано на фотоснимках 1, 2 и 3.

По фотоснимкам 1, 2 и 3 ясно видна адаптация различных экотипов клубеньковых бактерий к измененным условиям температуры. При высоких температурах 35—40°, горные штаммы не дали роста, тогда как штаммы из низины имели богато развившуюся колонию. При низких же температурах, наоборот, горные штаммы росли весьма интенсивно, а штаммы из низины совершенно не дали роста.

Эта закономерность отмечается по всем испытуемым видам клубеньковых бактерий, кроме клубеньковых бактерий эспарцета, и всем температурам.

Как уже было сказано выше, при изучении температурных кривых клубеньковых бактерий различных бобовых культур были изучены также морфологические изменения всех 36 штаммов при испытуемых температурах.

В работе приводятся данные морфологических изменений только некоторых штаммов на 4-й день постановки опыта, когда культуры были свежие, молодые и претерпеваемые морфологические изменения можно приписать в основном влиянию различных температур и индивидуальным свойствам самих бактерий. В дальнейших наблюдениях эти изменения более углубляются, но тут уже играют роль не только упомянутые факторы, но и возраст самих культур.

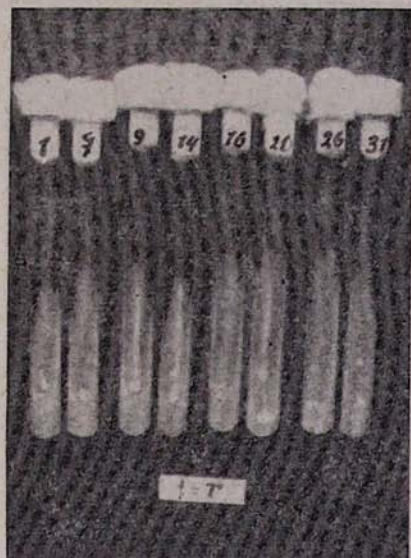


Рис. 1. Рисунок 1 показывает интенсивность роста клубеньковых бактерий различных бобовых культур при 7°.

Пробирка 1—	люц. 32	с высоты 500 м
7	43	2300 м
9	эсп. 49	500 м
14	61	2300 м
16	клев. 69	у бер. Черн. моря
21	79	с выс. 2350 м
26	фас. 90	500 м
31	107	1700 м

Установлено, что сильному морфологическому изменению подвергаются клубеньковые бактерии при минимальной и максимальной температуре и что для клубеньковых бактерий различных бобовых культур и экотипов эти изменения не одинаковы. Например, штамм люцерны 1 с низины (500 м над ур. моря) при температуре 0° роста не дал и клетки посев-

ного материала при этой температуре подверглись сильным морфологическим изменениям. Эта культура при всех температурах до 40° дала нормальные опоясанные палочки различной длины. В некоторых случаях встречались и овальные, не окрашенные клетки. При 40° все клетки превращаются в бактероиды различной величины и формы, а при 45° , то есть максимума температуры, они превращаются в совершенно мелкие зерна' (рисунок 4).

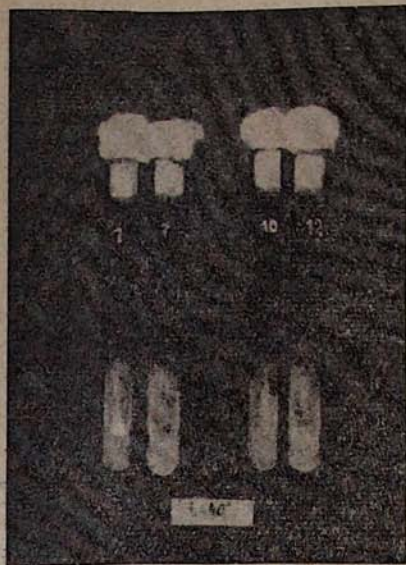


Рис. 2. Рисунок 2 показывает интенсивность роста различных экотипов клубеньковых бактерий клевера при 35° .

Пробирка	75	№ 65	у бер. Черн. моря
"	16	№ 69	у бер. Черн. моря
"	18	№ 76	с выс. 1925 м
"	21	№ 79	" 2350 м
"	22	№ 85	" 3200 м

описанным выше, только с той разницей, что у этого горного штамма рост уже прекращается при 35° и мелкие зернышки появляются не при 40° и 45° , а при 35° (рисунок 5).

Как видно из рисунка 5, клубеньковые бактерии фасоли при предельных температурах морфологически доволь-

Штамм люцерны 3 с низины (900 м над ур. моря) претерпевает почти такие же морфологические изменения, с той разницей, что при температуре 0° он совсем не дает роста, а при 40° и 45° наблюдались однотипные, очень мелкие зерна.

Горный штамм люцерны с высоты 1925 м н. у. м. при температуре 0° в первые дни дает очень слабый рост, клетки мелкие, овальные не окрашенные. При остальных температурах морфологические изменения этого штамма соответствуют

но сильно изменяются; это заметно особенно при температуре 7 и 35°.

Кроме этого, по рисунку видно, что горный штамм 109 при различных температурных условиях не претерпевает сильных морфологических изменений, как это заметно по штаммам низины 88 и 96. Из приведенных выше данных можно сделать следующие выводы:

1. Температурная кривая развития клубеньковых бактерий люцерны, эспарцета, клевера, фасоли и вики не одинакова. Она зависит от зоны культивирования соответствующего бобового растения.

2. Различное отношение экотипов клубеньковых бактерий к разным температурам объясняется адаптацией испытуемых штаммов к температурным условиям места их обитания.

Адаптированные свойства клубеньковых бактерий в отношении температурных условий переходят наследственно и сохраняются долго.

3. Максимальная температура штаммов из низины на 5—10° выше, чем у горных штаммов. Штаммы из низины развиваются интенсивно при высоких температурах, а горные, наоборот,—при низких температурах.

4. Среди экотипов клубеньковых бактерий эспарцета только некоторые штаммы проявили адаптивность к темпе-

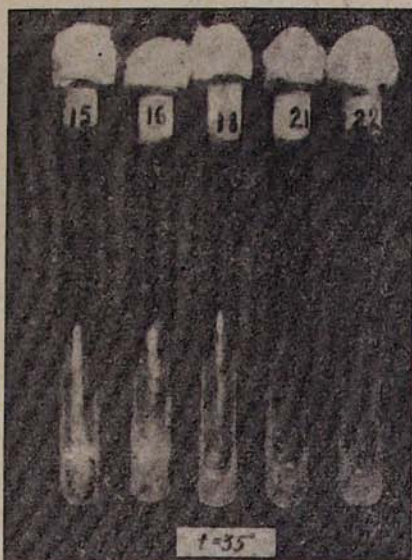
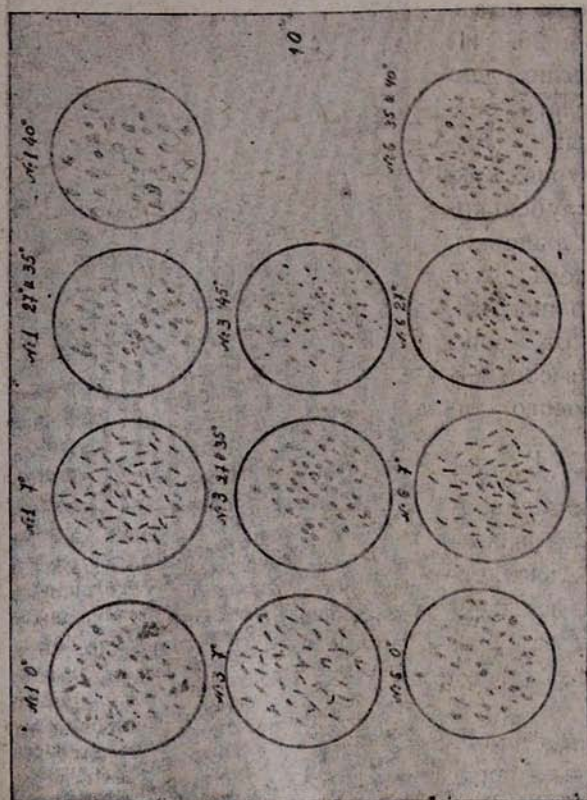


Рис. 3. На рисунке 3 иллюстрировано отношение экотипов клубеньковых бактерий люцерны и эспарцета к температуре 40°.

Пробирка 1 люц. 32 с выс. 500 м

"	7	"	43	"	2250 м
"	10	эсп.	47	"	1000 м
"	12	"	60	"	2000 м



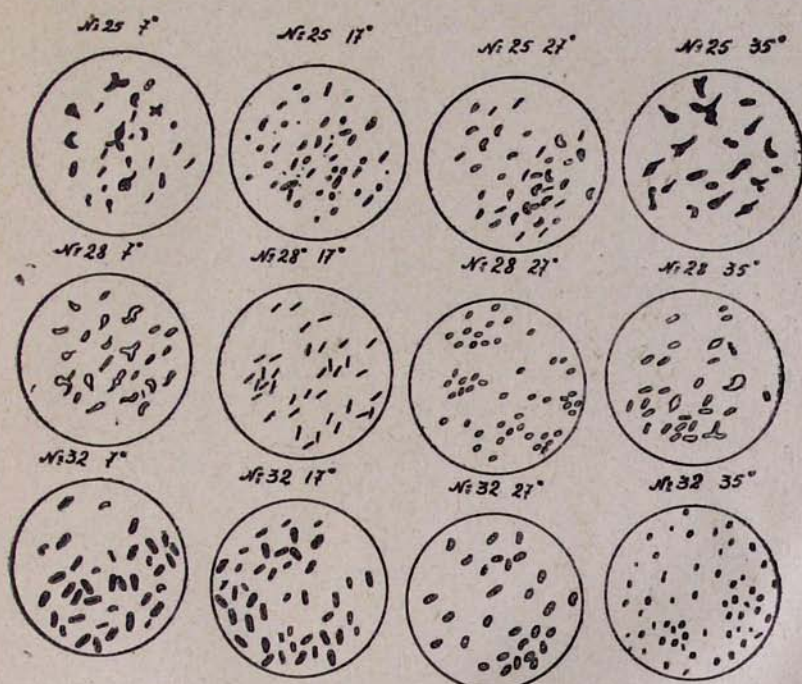


Рис. 5. Морфологические изменения экотипов клубеньковых бактерий фасоли при различных условиях:

№ 25 фасоль 88 выделен. у б. Черн. моря.

№ 28 „96“ на высоте 1000 м. н. у. моря.

№ 32 „109“ на высоте 2200 м. н. у. моря.

ратурным условиям. Большинство же не отличалось экологическими особенностями в отношении температурных условий.

5. Испытуемые экотипы клубеньковых бактерий, кроме эспарцета, подвергаются заметным морфологическим изменениям в основном при предельных температурах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. и Гукова М. 1941. Влияние аэрации и температуры почвы на развитие инокулированных и неинокулированных растений сои. Доклады. Ак. наук СССР, т. 31, вып. 9, стр. 936.
2. Доросинский Л. М. и Ламповщиков П. К. 1948. Влияние низких температур на эффективность нитрагина. Сб. „Пути повышения активности клубеньковых бактерий“, стр. 95.
3. Израильский В. П., Рунов Е. Ф. и Бернард В. В. 1933. Клубеньковые бактерии и нитрагин. Сельхозгиз.
4. Красильников Н. А. и Коренько А. И. 1946. Влияние клубеньковых бактерий на азотфиксацию клевера в условиях стерильных культур. Микробиология, т. XV, вып. 2, стр. 279.
5. Мишустин Е. Н. 1925. Анализ температурных условий бактериальных процессов почв в связи с приспособлением бактерий к климату. Почвоведение, № 1, стр. 43.
6. Мишустин Е. Н. 1933. Приспособление почвенных бактерий к температурным условиям климата. Микробиология, т. II, вып. 2, стр. 174.
7. Мишустин Е. Н. 1947. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. Изд. АН СССР.
8. Петросян А. П., Наринян А. А. и Карагулян С. А. 1949. Распространенность азотфиксирующих бактерий в ризосфере хлопчатника и люцерны. Микробиологический сборник Сектора микробиологии АН АрмССР, вып. IV, стр. 13.
9. Тимурджи Г. К. 1940. Влияние температуры и влажности почвы при инокуляции нута. Сб. н.-и. работ Азово-черноморск. с.-х. ин-та, т. XI, стр. 75.
10. Федоров М. В. 1948, 1952. Биологическая фиксация азота атмосферы. Сельхозгиз.

Ա. Պ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Ռ. Շ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ՊԱԼԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԷԿՈՏԻՊԵՐԻ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ
ԱՆՀՐԱԺԵՇՏ ԶԵՐՄԱՍՏԻՃԱՆԸ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Պալարաբակտերիաների ու թիթեռնածաղկավոր բույսերի նորմալ և էֆեկտիվ սիմբիոզի կարևոր գործոններից մեկն էլ ջերմությունն է:

Գրականության տվյալներով հաստատված է, որ այս երկու սիմբիոնտների համար անհրաժեշտ ջերմության պայմանները համարյա նույնն են, այսինքն թիթեռնածաղկավոր բույսերի համար բարենպաստ ջերմությունը միաժամանակ բարենպաստ է և պալարաբակտերիաների համար:

Մի շարք հետազոտություններով պարզված են տարբեր թիթեռնածաղկավոր բույսերի և պալարաբակտերիաների զարգացման համար անհրաժեշտ ջերմության աստիճանները:

Ներկա աշխատության նպատակն է՝ պարզել պալարաբակտերիաների տարբեր էկոտիպերի զարգացման համար անհրաժեշտ ջերմության աստիճանները: Այս նպատակով ուսումնասիրված է առվույտի, կորնգանի, երեքնուկի, վիկի և լոբու պալարաբակտերիաների տարբեր էկոտիպերի 36 շտամներ՝ 0, 7, 17, 21, 27, 30, 35, 40 և 45 ջերմաստիճանի պայմաններում:

Ուսումնասիրվել են նշված ջերմության պայմաններում պալարաբակտերիաների զարգացման արագությունը և մորֆոլոգիական փոփոխությունները: Պարզվել է, որ՝

1. Առվույտի, երեքնուկի, կորնգանի, վիկի և լոբու պալարաբակտերիաների զարգացման համար անհրաժեշտ ջերմաստիճանները տարբերվում են միմյանցից և հիմնականում համապատասխանում են նշված թիթեռնածաղկավոր բույսերի մշակման դոտիներին բնորոշ ջերմաստիճաններին:

2. Պալարաբակտերիաների էկոտիպերի տարբեր վերաբերմունքը դեպի ջերմաստիճանները բացատրվում է տեղի պայմաններին նրանց ադապտացիայով:

3. Ջերմության որոշ պայմանների հարմարված պալարաբակտերիաներն իրենց այդ հատկությունը պահպանում են բավական երկար և ժառանգաբար սերնդից սերունդ են փոխանցում:

4. Դաշտավայրի պայմաններից մեկուսացված պալարաբակտերիաների զարգացման մաքսիմում ջերմաստիճանը 5—10-ով ավելի բարձր է, քան լեռնային պալարաբակտերիաներինը:

5. Դաշտավայրից մեկուսացված շտամներն ինտենսիվ աճ են տալիս բարձր ջերմաստիճանների պայմաններում, իսկ լեռնային շտամները, ընդհակառակը, ցածր ջերմաստիճանների պայմաններում:

6. Կորնգանի պալարաբակտերիաներից միայն մի քանի շտամ են ադապտացիոն ունակութունն ցուցաբերում դեպի տարբեր ջերմաստիճանները, իսկ մեծ մասը ադապտիվ էկոլոգիական առանձնատկութուն չեն ցուցաբերում:

7. Պալարաբակտերիաների փորձարկվող էկոտիպերը, բացի կորնգանի պալարաբակտերիաներից, մորֆոլոգիական որոշ փոփոխութուններ են կրում, մանավանդ մինիմում և մաքսիմում ջերմաստիճանների պայմաններում: