

УДК 576.809.516

Ր. Յ. Արսւոյան, Ն. Ա. Կարապետյան, Մ. Ը. Տեփանյան,
Ն. Ս. Կալաճյան, Մ. խ. Կայլախյան

Ингибиторы роста в семенах и корнях бобовых растений и их действие на рост клубеньковых бактерий

В симбиотических взаимоотношениях клубеньковых бактерий и бобовых растений большой интерес представляет явление специфичности, обуславливающее заражение бобовых растений лишь свойственными им клубеньковыми бактериями. Явление специфичности было предметом изучения многих ученых, при этом внимание одних привлекали особенности самих клубеньковых бактерий, других — физиологические свойства бобовых растений.

В первом направлении явление специфичности до сих пор не удалось связать ни с антигенной структурой клубеньковых бактерий, ни с их морфологическими или физиологическими свойствами (Johnson and Means, 1963; Калниньш, Леймане; Класене, 1966).

Во втором направлении явление специфичности связывалось с физиологическим состоянием бобовых растений (Березова, 1950; Петерсон, 1953; Петросян, 1959) и, в частности, с физиологическими особенностями корневой системы (Квасников и Долгих, 1955) или с деятельностью листового аппарата у привитых растений (Hofmann, 1927; Разумовская, 1945).

Значительное внимание было уделено влиянию корневых выделений бобовых растений на торможение роста клубеньковых бактерий (Кореняко, 1942; Красильников и Кореняко, 1947; Кайлахян, Меграбян и Карапетян, 1955; Кайлахян и Меграбян, 1958; Красильников, 1966), а также задерживающему действию семян (Thompson, 1960; Masterson, 1962, 1965). При этом в исследованиях Томпсона и Мастерсона было показано, что в семенах бобовых растений имеются вещества фенольной природы, которые задерживают рост клубеньковых бактерий.

Целью настоящей работы было выявление веществ фенольной природы в семенах и корнях бобовых растений и выяснение их действия на рост разных видов клубеньковых бактерий.

Объекты и методика исследования

Объектами исследования служили семена фасоли, сои, эспарцета, конских бобов, люцерны, вики и гороха, а также корни 20-дневных и находящихся в фазе цветения растений. Фенольные ингибиторы определялись методом бумажной хроматографии, разработанным в лаборатории роста и развития Института физиологии растений имени К. А. Тимирязева АН СССР (Кефели, Турецкая, 1966). Экстракцию делали бутанолом, разделение экстрактов проводили на бумаге, пользуясь растворителем БУВ 100:19:35. Спиртовой раствор наносился на отдельные полосы хроматографической бумаги шириной 1 см, в количестве 0,1 г сухого вещества.

Вещества фенольной природы на хроматограммах идентифицировались с помощью цветных реакций, для чего были использованы следующие реагенты: ДС (дневной свет), ДС+NH₃, УФ (ультрафиолетовый свет), УФ+NH₃, ДСК (диазотированная сульфаниловая кислота), FeCl₃, AlCl₃, AlCl₃+Na₂CO₃, AgNO₃, AgNO₃+Na₂CO₃, раствор ванилина в HCl, реактив Сальковского. В табл. 2, 4 и 5 названия всех соединений по группам даны на основании сделанных авторами идентификаций (табл. 1).

После высушивания хроматограмм их действие испытывали на штаммах разных видов клубеньковых бактерий с помощью метода биоавтографии (Красильников, 1966). Рамки из органического стекла протирали спиртом, после чего на них наливали равномерным слоем агаризованную среду, содержащую суспензию клеток испытанных культур. В качестве тест-объекта были использованы односуточные культуры разных видов клубеньковых бактерий, штаммы которых были получены из Ленинградского института сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ. На застывший агар накладывали полоски хроматограмм. Рамки с хроматограммами ставились на сутки в термостат. Через сутки на агаре, на месте расположения ингибиторов, появились стерильные зоны. В табл. 3 и 6 приведены величины R_f фенольных соединений, задерживающих рост клубеньковых бактерий.

Результаты и их обсуждение

Анализ хроматограмм показали, что в семенах бобовых растений: фасоли, сои, эспарцета, конских бобов, гороха, вики и люцерны преобладают фенолкарбоновые кислоты, фенолальдегиды, кроме того, были обнаружены простые фенолы,

Таблица I
Физико-химические показатели, характеризующие некоторые соединения фенольной и индольной природы

Вещество	ДС	УФ	ДСК	$FeCl_3$	$AlCl_3$	$AgNO_3$	Ванилин	Сальковский
Феноляль-дегид	слабо-желтая	ярко-голубая, темно-сиреневая или бурая	нет	нет	слабо-желтая	нет	слабо-розовая или малиновая	нет
Фенолкарбиновая кислота	нет	темно-сиреневая или светло-голубая	нет	нет	нет	слабо-каштановая	нет	нет
Флавоноид	нет	светло-сиреневая	нет	нет	слабо-желтая	нет	нет	нет
Фенол кислоты	нет	сиреневая	слабо-розовая	серо-голубая	слабо-желтая	нет	нет	нет
Фенол	слабо-желтая	темно-сиреневая или слабо-голубая	нет	нет	слабо-желтая	слабо-каштановая	нет	очень слабо-розовая
Лейкоантоцианы	нет	темно-сиреневая	нет	нет	нет	нет	темно-малиновая	нет
Флавоноид-глюкозид	темно-желтая	буро-или ярко-желтая	оранжевая	серая со слабо-розовым оттенком	темно-желтая	нет	слабо-абрикосовая	нет

Таблица 2

Содержание фенольных соединений на различных участках хроматограмм (Rf) экстрактов из семян бобовых растений

Rf	Фасоль	Соя		Эспарцет		Конские бобы		Вика		Горох		Ленгрина	
		Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения
0.26		0.22	фенол	0.17	фенол	0.13	фенолкарбо- новая кис- лота	0.2	фенолазальде- гид	0.50	фенолазальде- гид	0.50	фенолазальде- гид
0.32	лейкоанто- цианы	0.26	фенолкарбо- новая кис- лота	0.22	.	0.21	.	0.4	.				
0.39		0.33	фенол	0.23	фенолкарбо- новая кис- лота	0.24	.	0.45	ф. нолкар- боновая кислота				
0.60	фенолкарбо- новая кис- лота	0.40	.	0.26	фенол	0.30	.	0.80	фенолазальде- гид				
0.73	флавонол гликозид	0.51	фенолкарбо- новая кис- лота	0.30	.	0.37	.						
0.75	фенолазальде- гид	0.74	фенолазальде- гид	0.34	фенолазальде- гид								
0.85	флавонол- гликозид			0.60	.	0.50	фенолазальде- гид						
				0.65	.								
				0.70	.								
				0.90	.								

фенольные кислоты, флавоноиды и флавонолгликозиды (табл. 2).

Как показывают данные табл. 2, этими веществами более богаты семена фасоли, сои, эспарцета и конских бобов, менее богаты семена вики, а в семенах гороха и люцерны обнаружен только фенолальдегид.

Таким образом, выяснилось, что семена фасоли, сои и эспарцета, для которых отмечена более узкая специализация клубеньковых бактерий, содержат больше фенольных соединений, чем семена вики, гороха и люцерны, клубеньковые бактерии которых менее специализированы.

Результаты испытания различных участков хроматограмм экстрактов семян, сделанных биоавтографическим методом, показали, что фенольные вещества, находящиеся в семенах бобовых растений, задерживают рост некоторых штаммов клубеньковых бактерий (табл. 3).

Таблица 3

Влияние фенольных соединений экстрактов из семян бобовых растений с разных участков хроматограмм на рост клубеньковых бактерий

Штаммы клубеньковых бактерий	Фасоли			Конских бобов		Вики		Гороха	
	682	683	685	94	95	134	143	129	202
Семена бобовых растений	Rf фенольных соединений задерживающий рост клубеньковых бактерий								
Фасоли			0,75				0,26 0,39		0,26 0,39
Конских бобов						0,37 0,43 0,90			
Вики			0,80					0,45	
Сои	0,22 0,26	0,51	0,51 0,74			0,6	0,74		
Эспарцета		0,34			0,43 0,60	0,34			

Выяснилось, что вещества, задерживающие рост клубеньковых бактерий, в большинстве случаев находились на хроматограммах на участках с Rf 0,34—0,9; с помощью цветных реакций они были идентифицированы как фенолкарбоновые кислоты и фенолальдегиды. Некоторые вещества, также задерживающие рост клубеньковых бактерий, находились на хроматограмме экстракта из семян сои на участках с Rf 0,22—0,26; с помощью цветных реакций они идентифицированы как

фенолы. В семенах гороха и люцерны вещества, задерживающие рост клубеньковых бактерий, не были обнаружены.

Кроме семян, определение фенольных соединений, задерживающих рост клубеньковых бактерий, производилось в экстрактах из корней бобовых растений. Так как в корнях бобовых растений клубеньки образуются уже через две недели после инокуляции, то можно было предполагать, что вещества, влияющие на рост клубеньковых бактерий, образуются уже в корнях 20-дневных растений. Хроматографические анализы экстрактов из корней 20-дневных растений показали, что они содержат в основном фенолальдегиды, которые обнаруживаются во всех изученных корнях растений; фенолы были обнаружены в корнях конских бобов, фенолкарбоновые кислоты — в корнях фасоли, гороха и вики. По уровню содержания фенольных соединений выделяются корни фасоли, меньше всего их содержат корни вики и люцерны (табл. 4).

По данным табл. 2 и 4 видно, что в семенах бобовых растений имеется большее количество фенольных веществ, чем в корнях 20-дневных растений. Как показали дальнейшие определения, содержание фенольных веществ в корнях растений, находящихся в фазе цветения, повышается. В этой фазе в корнях фасоли, конских бобов, гороха и люцерны обнаруживаются фенолальдегиды и фенольные кислоты (табл. 5).

Результаты испытаний различных участков хроматограмм экстрактов из корней, сделанных биоавтографическим методом, показали, что некоторые фенольные вещества, в основном фенольные альдегиды, находящиеся в корнях 20-дневных растений фасоли, сои, конских бобов и вики, задерживают рост некоторых штаммов клубеньковых бактерий (табл. 6).

Эти фенольные альдегиды находятся на участках с R_f 0,70—0,95. Веществами, задерживающими рост штаммов клубеньковых бактерий, явились и фенолкарбоновые кислоты, расположенные на участках с R_f 0,04—0,3 экстрактов из корней фасоли, эспарцета, конских бобов и гороха.

Сопоставление данных табл. 3 и 6 показывает, что ингибиторные вещества, находящиеся в семенах и корнях бобовых растений, не задерживают рост штаммов клубеньковых бактерий, относящихся к своему виду, за исключением фасоли. Как видно по заштрихованным клеткам табл. 3 и 6, фенольные соединения, извлеченные из семян конских бобов и вики и корней эспарцета, конских бобов, вики и гороха, не задерживают рост специфичных для них клубеньковых бактерий.

Однако они не действуют на рост всех штаммов других

Таблица 4

Содержание фенольных соединений на различных участках хроматограмм
(Rf) экстрактов из корней 20-дневных бобовых растений

Соя		Фасоль		Конские бобы		Вика		Горох		Люцерна	
Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения
0,25	феноляльдегид	0,17	фенолкарбоновая кислота	0,10	фенол	0,78	фенолкарбоновая кислота	0,09	фенолкарбоновая кислота	0,70	феноляльдегид
0,73	—	0,26	—	0,16	—	0,92	феноляльдегид	0,27	феноляльдегид	0,92	—
		0,68	—	0,31	феноляльдегид				—		—
0,92	—	0,79	феноляльдегид	0,95	—			0,30	—		
		0,90	—		—			0,94	—		

Т а б л и ц а 5
Содержание фенольных соединений на различных участках хроматограмм (Rf) экстрактов из корней бобовых растений в
фазе цветения

Соя		Фасоль		Люцерна		Конские бобы		Горох	
Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения	Rf	соединения
0.12	фенол	0.17	фенольная кислота	0.21	фенольная кислота	0.12	фенольная кислота	0.38	фенольная кислота
0.42	флавоноид	0.56	"	0.50	"	0.15	"	0.50	"
0.59	фенольная кислота	0.63	фенолазальдегид	0.64	фенолазальдегид			0.93	фенолазальдегид
0.68	"	0.97	"	0.90	"			0.98	"
0.73	"								
0.77	"								
0.89	фенолазальдегид								

Т а б л и ц а 6
Влияние фенольных соединений экстрактов из корней 20-дневных бобовых растений с различных участков хроматограмм на рост клубеньковых бактерий

Штаммы клубеньковых бактерий	Фасоли		Эспарцета		Конских бобов		Вики		Гороха		Люцерны			
	678	682	683	820	821	86	94	95	134	144	202	245	248	422
Rf фенольных соединений, задерживающих рост клубеньковых бактерий														
Корни бобовых растений														
Фасоли	0,16 0,20		0,91		0,04		0,08		0,18 0,22 0,25		0,8			
Эспарцета	0,3													
Конских бобов			0,89						0,5 0,2		0,95		0,1 0,16	
Вики			0,94						0,5					
Гороха													0,09	
Сои	0,73		0,82		0,92									

видов, т. е. в полной мере не обуславливают явления специфичности.

Возможно, это объясняется тем, что не все вещества, ингибирующие рост клубеньковых бактерий, выделяются при экстракции бутанолом. Разные ингибиторы выделяются разными растворителями; следовательно, возможно, что при испытании других растворителей удастся получить большее количество ингибирующих рост веществ и выяснить их тормозящее действие на различные штаммы клубеньковых бактерий.

Настоящие опыты не дают экспериментального подтверждения тому предположению, что корни бобового растения выделяют вещества, задерживающие рост клубеньковых бактерий, неспецифичных для этого растения, и не задерживают рост свойственных ему клубеньковых бактерий (Чайлахян, Меграбян, Карапетян, 1955). Вместе с тем, указывая на известную тенденцию в этом направлении, они открывают возможности для дальнейшего изучения явления специфичности во взаимоотношениях клубеньковых бактерий и бобовых растений.

Выводы

1. Семена бобовых растений—фасоли, сои, эспарцета, конских бобов, вики, гороха и люцерны содержат фенольные соединения, которые по цветным реакциям идентифицированы, в основном, как фенолкарбоновые кислоты и фенолальдегиды, а также как фенолы, фенольные кислоты, флавонолглюкозиды и флавоноиды. Семена фасоли, сои, эспарцета и конских бобов содержат больше фенольных соединений, чем семена вики, а у гороха и люцерны обнаружены только фенолальдегиды.

2. Корни молодых 20-дневных растений—фасоли, сои, эспарцета, конских бобов, вики, гороха и люцерны также содержат фенольные соединения, которые обнаружены у всех видов, тогда как фенолкарбоновые кислоты обнаружены у фасоли, вики и гороха, а фенолы у конских бобов. Наибольшее содержание фенольных соединений в корнях фасоли, наименьшее—в корнях вики и люцерны. В фазу цветения содержание фенольных соединений в корнях всех бобовых растений увеличивается.

3. С помощью метода биоавтографии установлено, что фенольные соединения, извлеченные хроматографическим путем из семян и корней бобовых растений, оказывают задерживающее действие на рост клубеньковых бактерий. Эти

соединения располагаются на участках хроматограмм с R_f 0,34—0,9 и идентифицированы как фенолкарбоновые кислоты и фенолальдегиды; в отдельных случаях ингибирующие рост клубеньковых бактерий вещества располагаются на участках с R_f 0,04—0,3. В семенах гороха и люцерны такие вещества не найдены.

4. Ингибиторы фенольной природы, извлеченные из семян и корней бобовых растений — эспарцета, конских бобов, вики и гороха, не задерживают рост специфичных для них клубеньковых бактерий; исключение составляет фасоль, у которой такая задержка наблюдается. Вместе с тем они задерживают рост только некоторых штаммов неспецифичных клубеньковых бактерий, т. е. не обуславливают явления специфичности в целом.

5. Результаты проведенных опытов не дают экспериментального подтверждения предположению о том, что явление специфичности связано с избирательным действием ингибиторов роста, выделяемых корнями бобовых растений. Вместе с тем, указывая на известную тенденцию в этом направлении, они открывают возможности для дальнейшего изучения явления специфичности.

Авторы выражают благодарность доктору биологических наук В. И. Кефели за ценные советы по методике определения и идентификации фенольных соединений.

Ռ. Շ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Ն. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Մ. Դ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ.

Ն. Պ. ՔԱԼԱԶՅԱՆ, Մ. Բ. ԶԱՅԱՆՅԱՆ

ԹԻՔԵՆՆԱՄԱՆԿԱՎՈՐ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՍԵՐՄԵՐԻ ԵՎ ԱՐՄԱՏՆԵՐԻ
ԱՃՄԱՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՉՆԵՐԸ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՊԱԼԱՐԱՐԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԱՃԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է Թիթեոնաժաղկավոր բույսերի սերմերում, 20 օրական և ծաղկման ֆազում գտնվող բույսերի արմատներում ֆենոլային նյութերի պարունակությունը և նրանց ազդեցությունը տարբեր տեսակի պալարաբակտերիաների վրա: Ուսումնասիրությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ Թիթեոնաժաղկավոր բույսերից լոբու, սոյայի, կորնզանի, բակլայի, վիկայի, ոլոռի և առվույտի սերմերը պարունակում են ֆենոլային միացություններ, որոնք ըստ գոնավոր ռեակցիաների հիմնականում դասակարգվել են որպես ֆենոլկարբոնային թթուներ, ֆլավոնոլ գլիկոզիդներ և

Ֆլավոնոիդներ: լոբու, սուլայի, կորնզանի և բակլայի սերմերը աժն-
լի շատ թվով ֆենոլային միացություններ են պարունակում, բան
վիկայի սերմերը, իսկ ոլոռի և առվույտի մոտ հիմնականում հայտ-
նաբերվում է միայն ֆենոլալոնհիդ:

Լոբու, սուլայի, կորնզանի, բակլայի, վիկայի, ոլոռի և առ-
վույտի ներխաասարդ, 20 օրական բույսերի արմատները նույնպես
պարունակում են ֆենոլային միացություններ, որոնք հայտնաբեր-
վել են բոլոր տեսակների մոտ, այն դեպքում, երբ ֆենոլկարբո-
նային թթուներ հայտնաբերվում են լոբու, վիկայի և ոլոռի, իսկ
ֆենոլներ՝ բակլայի մոտ:

Ֆենոլային միացություններն ամենից շատ են լոբու և ամենից
քիչ՝ վիկայի և առվույտի արմատներում: Մազկման ֆազում
ֆենոլային միացությունների պարունակությունը բոլոր թիթեռնա-
ծաղկավոր բույսերի արմատներում աճելանում է:

Բիոավտոգրաֆիայի մեթոդով պարզվել է, որ ֆենոլային միա-
ցությունները, որոնք քրոմատոգրաֆիական եղանակով անջատվել
են թիթեռնածաղկավոր բույսերի սերմերից ու արմատներից, կա-
սեցնող ազդեցություն են թողնում պալարաբակտերիաների աճման
վրա: Այդ նյութերը տեղակայված են քրոմատոգրամների 0,34—
0,9 Rf-երում և դասակարգվել են որպես ֆենոլկարբոնային թթու-
ներ և ֆենոլալոնհիդներ: Առանձին դեպքերում պալարաբակտերիա-
ների աճը կասեցնող նյութերը տեղակայված են 0,04—0,3 Rf-երում:
Ոլոռի և առվույտի սերմերում այդպիսի նյութեր չեն գտնվել: Թի-
թեռնածաղկավոր բույսերի՝ կորնզանի, բակլայի, վիկայի և ոլոռի
սերմերից և արմատներից անջատված ֆենոլային բնույթի աճման
արգելակիչները չեն կասեցնում իրենց համար սպեցիֆիկ պալա-
րաբակտերիաների աճը, բացառություն է կազմում լոբին, որի
դեպքում այդպիսի կասեցում նկատվում է: Սակայն դրա հետ մեկ-
տեղ նրանք կասեցնում են ոչ սպեցիֆիկ պալարաբակտերիաների
միայն մի քանի շտամների աճը, այսինքն՝ լրիվ չի պայմանավոր-
վում սպեցիֆիկության երևույթը:

Փորձի արդյունքները չեն հաստատում ենթադրությունն այն
մասին, որ սպեցիֆիկության երևույթը կապված է թիթեռնածաղ-
կավոր բույսերի արմատների կողմից անջատվող արգելակիչների
ընտրողական ազդեցության հետ, բայց միաժամանակ ցույց տալով
հայտնի միտումը այդ ուղղությամբ, նրանք հնարավորություն են
ստեղծում սպեցիֆիկության երևույթի հետագա ուսումնասիրման
համար:

ЛИТЕРАТУРА

- Березова Е. Ф. 1950. Агробиология, 5.
- Калниньш А. Д., Класене В. П., Леймане И. Я. 1966. Тезисы докладов Междунар. микробиол. конгресса.
- Квасников Б. В., Долгих С. Т. 1955. Микробиология, 24, 2.
- Кефели В. И., Турецкая Р. Х. 1966. Сб. «Методы определения регуляторов роста и гербицидов». «Наука», 20.
- Коренько А. И. 1942. Микробиология, 11, 3.
- Красильников Н. А., Коренько А. Н. 1947. Рефераты научно-исследовательских работ за 1945 г. Отделение биологических наук. Изд. АН СССР.
- Красильников Н. А. 1966. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. М., Изд. АН СССР.
- Петерсон Н. В. 1953. Изменчивость клубеньковых бактерий. Автореф.
- Петросян А. П. 1959. Экологические особенности клубеньковых бактерий в Армянской ССР. Ереван, изд. МСХ Арм. ССР.
- Резумовская З. Г. 1945. Уч. записки МГУ, серия биол. наук, 75, 15.
- Ремпе Е. Х. 1953. Труды ВНИИ с.-х. микробиол., 13.
- Чайлахян М. Х., Меграбян А. А., Карапетян Н. А. 1955. Изв. АН СССР, 9, 3.
- Чайлахян М. Х., Меграбян А. А. 1958. Изв. АН Арм. ССР (биол. и с.-х. науки), 11, 12.
- Hofmann F. W. 1927. J. Agric. Res. 34, 7.
- Masterson G. L. 1962. J. Agr. Res., 1, 344.
- Masterson G. L. 1965. Ann. Inst Pasteur, 109, 3.
- Johnson H. N. and Means 1963. Agron., 1, 55, 3.
- Thompson S. A. 1960. Nature, 187.

Р. Ш. Арутюнян, М. Д. Степанян, М. Х. Чайлахян

Влияние физиологически активных веществ на ризосферную микрофлору и образование клубеньков у бобовых растений

Спектр действия физиологически активных веществ, выделяемых микроорганизмами и растениями в среду, и характер их воздействия на растения и другие микроорганизмы очень разнообразен. Влиянию гиббереллинов на размножение и обмен веществ микроорганизмов посвящено сравнительно мало работ. Судя по опубликованным данным, гиббереллины, как правило, не оказывают стимулирующего действия на рост и развитие микробов.

Согласно данным Лу с сотр. (Lu et al., 1958), гибберелловая кислота не влияет на интенсивность дыхания почвы. В то же время эти авторы, а также Гринберг и сотрудники (Grinberg et al., 1960) наблюдали стимулирующее действие гиббереллина на размножение азотобактера, а Чандра и Боллен (Chundra, Bollen, 1960) наблюдали заметное усиление процесса нитрификации и сульфификации. По данным Хаяши (Hayashi, 1940), гиббереллин не оказывает никакого влияния на рост и обмен веществ дрожжей.

Действию ауксинов на развитие почвенных микроорганизмов посвящены лишь некоторые работы. Бакаливановым (1966) установлено определенное стимулирующее влияние бета-индолилуксусной кислоты на большинство исследуемых микроорганизмов. Работ о влиянии ретарданта ССС на ризосферную микрофлору бобовых растений почти не имеется.

Целью настоящей работы было изучение влияния гиббереллина, гетероауксина и ретарданта ССС на ризосферную микрофлору и действия ретарданта ССС на образование клубеньков у бобовых растений.

Влияние гиббереллина, гетероауксина и ретарданта ССС на ризосферную микрофлору бобовых растений

Растения выращивались в условиях вегетационного опыта и подвергались воздействию гиббереллина, гетероауксина и ретарданта ССС, которые вносились в почву в разные сроки и виде растворов. Обработка почвы была начата после появ-

ления 4-го листа. Микробиологические анализы были сделаны методом, разработанным в Институте микробиологии АН СССР (Красильников, 1966).

Данные табл. 1 показывают, что во всех вариантах опыта при внесении в почву гиббереллина общее количество микроорганизмов увеличивается.

Таблица 1

Влияние гиббереллина на общее количество микроорганизмов (на среде Чапека в 1 г почвы, в млн.)

Варианты опыта	Время внесения в почву				
	20.VI	30.VI	10.VII	20.VII	
	сроки взятия проб				
	24.VI	5.VII	15.VII	5.VIII	3.X
Фасоль					
Контроль	—	1,32	2,02	1,88	0,80
Гиббереллин 0,01 %	—	3,32	5,68	2,50	0,90
Горох					
Контроль	2,52	2,22	1,64	0,96	1,70
Гиббереллин 0,01 %	3,36	4,74	1,86	0,50	—
Гиббереллин 0,1 %	6,56	2,52	2,16	0,50	0,46

У фасоли в контрольном варианте количество микроорганизмов равно 1,32 млн., после первого внесения гиббереллина в почву количество микроорганизмов становится равным 3,3 млн. После второго внесения гиббереллина в почву количество микроорганизмов еще более увеличивается (5,68 млн.). А через 2 месяца после внесения гиббереллина количество микроорганизмов не увеличивается и почти приравнивается к контролю. Такая же картина наблюдается и у гороха (рис. 1, 2).

Такая же закономерность наблюдается и на среде МПА.

Под влиянием гетероауксина в ризосфере у фасоли и гороха общее количество микроорганизмов также увеличивается. Это видно из посева проб на средах СР-I и МПА. По данным табл. 2 заметно увеличение общего количества микроорганизмов при действии гетероауксина. У фасоли в контрольном варианте количество микроорганизмов равно 1,32 млн., после первого внесения гетероауксина в почву количество микроорганизмов становится равным 4,44 млн.

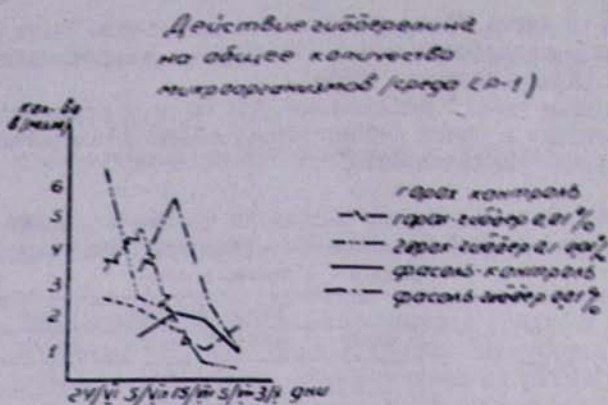
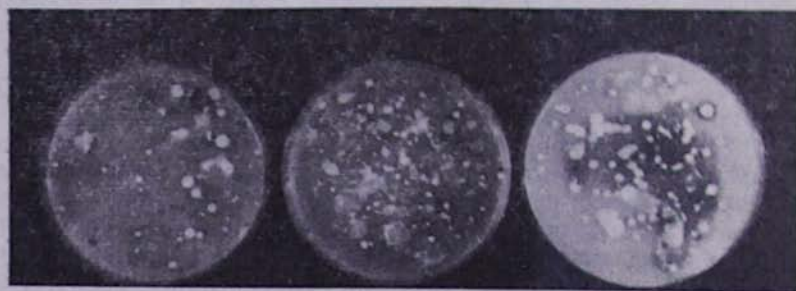


Рис. 1. Влияние гиббереллина на ризосферную микрофлору гороха и фасоли. Рост микроорганизмов при посеве пробы на среде Чапека через 10 дней после внесения раствора гиббереллина в почву.



Контроль

гиббереллин 0.01%

гиббереллин 0.1%

Рис. 2. Влияние гиббереллина на ризосферную микрофлору фасоли. Рост микроорганизмов при посеве пробы на среде Чапека через 10 дней после внесения раствора гиббереллина в почву (разведение 1/10г).

После второго внесения гетероауксина в почву количество микроорганизмов увеличивается. Через 2 месяца после внесения количество микроорганизмов уменьшается (1,10 млн.). Такая же картина наблюдается и в опыте с горохом (рис. 3 и 4).

Таблица 2
Влияние гетероауксина на общее количество микроорганизмов (на среде Чапека в 1 г почвы, в млн.)

Варианты опыта	Время внесения в почву				
	20.VI	30.VI	30.VII	20.VII	
	Сроки взятия проб				
	24.VI	5.VII	15.VII	5.VIII	3.X
Фасоль					
Контроль	—	1,22	2,02	1,88	0,80
Гетероауксин 0,01%	—	4,44	4,56	1,10	1,14
Горох					
Контроль	2,52	2,22	1,64	0,96	2,70
Гетероауксин 0,01%	5,44	2,56	1,69	0,86	—
„ 0,1%	8,80	4,32	4,80	1,24	0,50

*Действие гетероауксина (аукс.)
на общее количество
микроорганизмов (среда СР-1)*

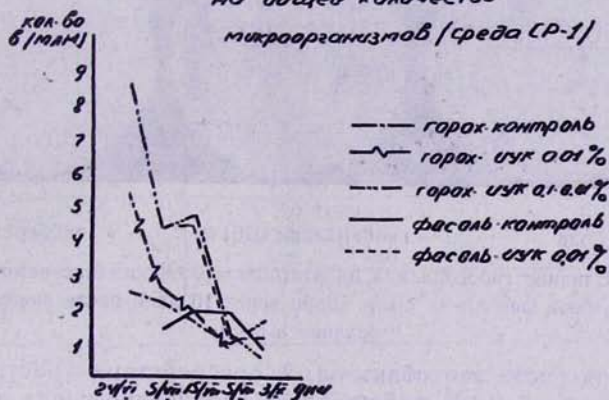


Рис. 3. Влияние гетероауксина на ризосферную микрофлору гороха и фасоли. Рост микроорганизмов при посеве пробы на среде Чапека через 10 дней после внесения раствора гетероауксина в почву.

Было исследовано также влияние гиббереллина и гетероауксина на рост азотобактера. Эти вещества, внесенные в почву в растворах в концентрации 0,01%, не оказывали дей-

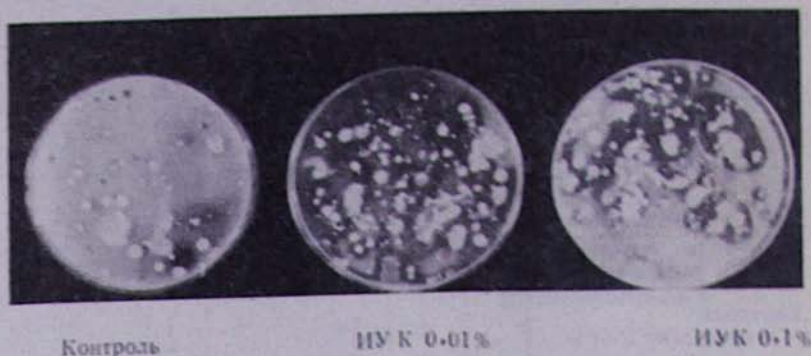


Рис. 4. Влияние гетероауксина на ризосферную микрофлору фасоли. Рост микроорганизмов при посеве пробы на среде Чапека через 10 дней после внесения раствора гетероауксина в почву (разведение 1/10r).

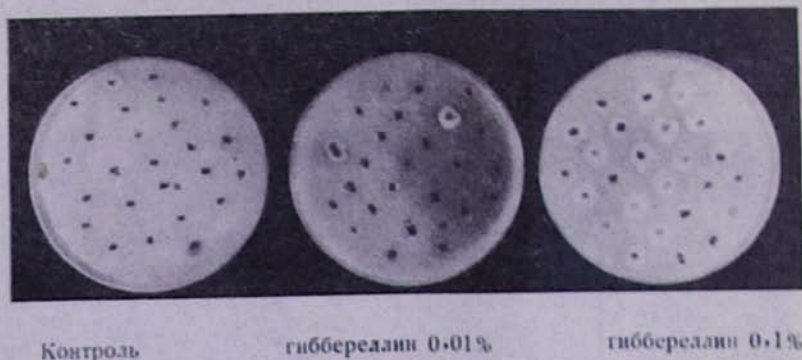
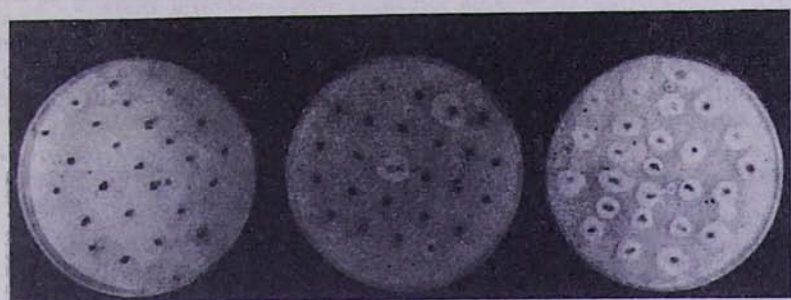


Рис. 5. Влияние гиббереллина на азотобактер. Обрастание комочков ризосферных почв фасоли на среде Эшби через 10 дней после внесения гиббереллина в почву.

ствия на рост азотобактера. А при действии растворами в концентрации 0,1% наблюдалось увеличение числа азотобактера. Это ясно показывают рис. 5, 6.

В течение вегетации нами было изучено влияние ретарданта ССС на микрофлору ризосферных почв фасоли, гороха, вики, конских бобов. Данные по учету количества микроорганизмов на 10 день после внесения приводятся в табл. 3.



Контроль

ИУК 0.01%

ИУК 0.1%

Рис. 6. Влияние гетероауксина на азотобактер. Обрастание комочков ризосферных почв фасоли на среде Эшби через 10 дней после внесения гетероауксина в почву.

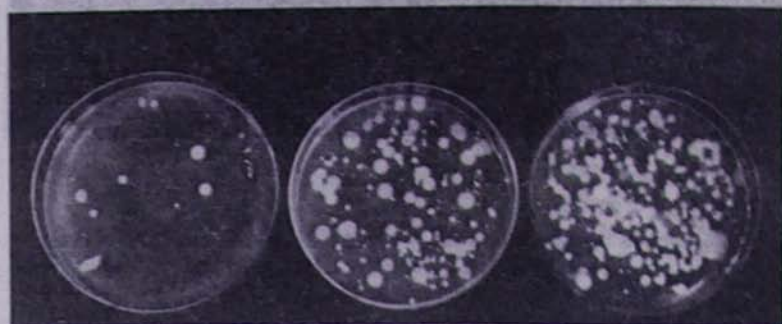
Таблица 3

Влияние ретарданта ССС на общее количество микроорганизмов (на среде Чапека в 1 г почвы в млн.)

Культура	Концентрация раствора ретарданта ССС в %	Количество микроорганизмов
Фасоль	Контроль	8,2
	Ретардант 0,5	90,3
	1,0	42,2
Горох	Контроль	1,6
	Ретардант 0,5	17,9
	1,0	38,2
Вика	Контроль	9,9
	Ретардант 0,5	103,0
	1,0	62,2
Конские бобы	Контроль	1,9
	Ретардант 0,5	56,2
	1,0	47,2

Из данных табл. 3 видно, что если, например, в ризосферной почве контрольных растений гороха общее количество микроорганизмов составляет 1,6 млн., то после внесения в почву 0,5% раствора ретарданта число микроорганизмов достигает 17,9 млн., а при внесении 1% раствора—38,2. Такая же закономерность наблюдается в ризосферной почве фасоли, вики, конских бобов. Значительное увеличение числа микроорганизмов наблюдается при посеве ризосферных почв исследуемых растений на среде МПА (рис. 7).

Таким образом, внесение в почву 0,5 и 1% растворов ретарданта ССС значительно стимулирует развитие ризосферных микроорганизмов и в большей мере, чем внесение растворов гиббереллина или гетероауксина.



Контроль

ССС 0.5%

ССС 1%

Рис. 7. Влияние ССС на ризосферную микрофлору гороха. Рост микроорганизмов при посеве пробы на мясопептонном агаре через 10 дней после внесения раствора ССС в почву (разведение 1/10 тыс.).

Сравнительное определение наличия гиббереллина, гетероауксина и ретарданта ССС в почве

Как показывают данные табл. 1 и 2, увеличение роста микроорганизмов в ризосфере бобовых растений наблюдалось в начальный период внесения гиббереллина и гетероауксина в почву, а потом постепенно снижалось и приравнивалось к контролю.

Для выяснения вопроса, с чем связано увеличение роста микроорганизмов, именно в начальный период внесения гиббереллина и гетероауксина ставились биопробы, с помощью которых определяли наличие этих веществ в почве в разные сроки. Для определения наличия гиббереллинов в почве пользовались наиболее чувствительным биологическим методом (Красильников, 1966). В чашки Коха насыпали по 100 г исследуемой почвы, увлажняли 60% от полной влагоемкости и высевали семена карликового гороха сорта Пионер. Чашки оставляли при комнатной температуре 15 дней. О наличии гиббереллинов в почве судили по характеру роста растений гороха.

стом стеблей растений гороха (рис. 8), что характерно для действия гиббереллина. Это доказывает наличие гиббереллина в почве. А уменьшение количества микроорганизмов соответствует варианту с нормальным ростом растений гороха, что свидетельствует об отсутствии гиббереллина в почве.

Вышеописанным методом определяли наличие ретарданта ССС в почве. Получена подобная же закономерность (рис. 9). В этом случае снижение общего количества микроорганизмов также объясняется тем, что ретардант ССС в почве не сохраняется долгое время.

Нами было произведено также определение ауксинов в почвенном фильтрате. Для этого к 10 г исследуемой почвы добавляли 15 мл воды, встряхивали 10 минут, полученную суспензию профильтровывали фильтровальной бумагой, затем фильтром Зейца и фильтрат испытывали биологическим методом с помощью колеоптилей пшеницы сорта Арташат 42 (Бояркин, 1947, 1948).

Данные табл. 4 показывают, что самый высокий рост колеоптилей наблюдается через неделю после внесения гетероауксина (гетероауксин 0,1%—82). Через 2 месяца после внесения в почву гетероауксина длина колеоптилей становится примерно равной длине колеоптилей контроля (контроль—почвенный фильтрат—76, ауксин 0,1%—74).

Таблица 4
Определение количества гетероауксина в почве (длина 10 колеоптилей в мм)

Концентрация растворов гетероауксина, внесенных в почву		Сроки взятия проб
0,01 % 0,01 %		через неделю после внесения
		76 82
0,01 % 0,1 %		через 2 месяца после внесения
		71 74
Контроль	Вода	77
	Гетероауксин 0,01 %	90
	Почвенный фильтрат	76

Все эти данные о наличии в почве гиббереллина, ретарданта ССС и гетероауксина, полученные с помощью биологических методов, свидетельствуют о том, что эти вещества долгое время в почве не сохраняются, почему и их эффект на ризосферную флору проявляется в первый период после внесения в почву.

Влияние ретарданта ССС на образование клубеньков у бобовых растений

Изучению влияния гиббереллина и гетероауксина на образование клубеньков посвящено достаточно много работ, согласно которым обработка гиббереллином уменьшает образование клубеньков у бобовых растений, тогда как обработка гетероауксином усиливает их образование, хотя и не у всех растений (Чайлахян и др. 1961, 1963; Galston, 1959; Mes, 1959; Turber et al., 1959).

О влиянии ССС на образование клубеньков бобовых растений имеются единичные работы. По данным Прокаша (Prokash, 1966) ССС увеличивает количество и сухой вес клубеньков у *Trifolium alexandrinum*.

С целью выяснения действия ретарданта ССС на образование клубеньков растений подвергались воздействию ССС путем опрыскивания их надземных частей растворами в концентрациях 0,01, 0,1, 0,5, 1% в 8 сроков с 5-дневным интервалом. Обработка растений ретардантом ССС была начата в период после появления 5—6 листьев.

Результаты опытов, полученные при обработке растений растворами разных концентраций ретарданта ССС, приводятся в таблице 5 (опыт 1970 г.). Данные этой таблицы показывают, что при опрыскивании растений увеличивается число клубеньков у исследованных видов фасоли, сои и гороха. При этом на образование клубеньков благоприятное действие оказывают все испытываемые концентрации растворов, и в особенности 0,5% раствор. Например, если в контрольном варианте число клубеньков у фасоли равно 301, у сои—179, а у люцерны—267, то после опрыскивания 0,5% раствором ССС число клубеньков у фасоли достигало 474, у сои—321, у люцерны—447, а при опрыскивании 1% раствором даже 564.

Вместе с тем наша предыдущая работа (Чайлахян, Арутюнян, 1968) показала, что при внесении в почву раствор ретарданта ССС оказывает задерживающее действие на образование клубеньков бобовых растений, снижая число и вес клубеньков. Исключение составила лишь люцерна, у которой под влиянием ретарданта число клубеньков увеличивалось, а вес уменьшался (табл. 5).

Сопоставление данных в табл. 5 по влиянию ретарданта ССС, даваемого различными методами, показывает, что если при внесении в почву ретардант ССС оказывает задерживающее действие на образование клубеньков бобовых растений, то при опрыскивании раствором ССС увеличивается как число,

Таблица 5

Влияние ретарданта ССС на образование клубеньков у бобовых при различных способах обработки растений

Способы обработки	Концентрация раствора ретарданта в %	Фасоль		Соя		Люцерна	
		число	вес в г	число	вес в г	число	вес в г
Опрыскивание растений, опыт 1970 г.	Контроль	801	1.80	179	0.46	267	0.36
	ССС 0.01	401	2.54	282	1.86	305	0.42
	0.1	402	3.13	291	1.72	474	0.50
	0.5	474	3.25	321	1.92	447	0.60
	1.0	299	2.33	255	1.29	564	0.58
Внесение в почву, опыт 1966 г.	Контроль	869	4.47	199	1.32	142	0.34
	ССС 0.5	323	0.85	135	0.68	420	0.30
	1.0	152	0.34	43	0.14	363	0.20
	2.0	86	0.06	12	0.07	54	0.01

образовавшихся клубеньков, так и их общий вес. По-видимому, положительное действие ретарданта ССС на образование клубеньков при опрыскивании связано с изменением физиологического состояния самих растений.

Выводы

1. Внесение гиббереллина, гетероауксина и ретарданта ССС в почву оказывает стимулирующее действие на ризосферную микрофлору бобовых растений—фасоли, гороха и других. При этом наблюдается увеличение числа азотобактера. Стимулирующее действие ретарданта ССС на количество ризосферной микрофлоры бобовых растений значительно сильнее, чем действие гиббереллина и гетероауксина.

2. При внесении в почву растворов гиббереллина, гетероауксина и ретарданта ССС влияние их на ризосферную микрофлору сказывается лишь в первый период после внесения, а затем уменьшается и через два месяца эффекта уже не наблюдается. Определение наличия этих веществ в почве биологическими методами указывает на последовательное уменьшение их содержания в почве.

3. Опрыскивание бобовых растений—фасоли, сои и люцерны растворами ретарданта способствует образованию клубеньков на корнях растений, тогда как внесение растворов ССС в почву оказывает задерживающее действие. По-видимому, положительное действие ретарданта ССС на образование клубеньков связано с измерением физиологического состояния растений.

Ռ. Շ. ԶԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Մ. Դ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Մ. Ք. ԶԱՅԼԱԽՅԱՆ

**ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՊԵՍ ԱԿՏԻՎ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԹԻԹԵՈՆԱԾԱՂԿԱՎՈՐ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՊԱՆԱՐԱԳՈՅԱՑՄԱՆ ԵՎ
ՌԻԶՈՍՖԵՐԱՅԻՆ ՄԻԿՐՈՅԼՈՐԱՅԻ ՎՐԱ**

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է հիբերելինի, հետերոաուքսինի և քլորիսոլին-բլորիդի (CCC) ազդեցությունը թիթեոնածաղկավոր բույսերից լոբու, ոլոռի ռիզոսֆերային միկրոօրգանիզմների և լոբու, առվույտի ու սոյայի պալարագոյացման վրա: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ հողը մտցված հիբերելինը հետերոաուքսինը և CCC-ն խթանիչ ազդեցություն են թողնում լոբու, ոլոռի և այլ թիթեոնածաղկավոր բույսերի ռիզոսֆերային միկրոֆլորայի վրա: Թիթեոնածաղկավոր բույսերի ռիզոսֆերային միկրոֆլորայի վրա CCC-ի խթանիչ ազդեցությունն ավելի ուժեղ է հիբերելինի և հետերոաուքսինի համեմատությամբ:

Հիբերելինի, հետերոաուքսինի և CCC-ի ազդեցությունը ռիզոսֆերային միկրոֆլորայի վրա արտահայտվում է նրանց հողը մտցնելու առաջին շրջանում, իսկ հետո պակասում է և երկու ամսից հետո ներգործություն չի նկատվում: Այդ նյութերի առկայությունը կենսաբանական ճանապարհով որոշելիս նույնպես հաստատվում է նրանց աստիճանական պակասելը հողում:

Թիթեոնածաղկավոր բույսերի՝ լոբու, սոյայի և առվույտի վերերկրյա մասերի սրսկումը CCC-ի լուծույթով նպաստում է բույսերի արմատների վրա պալարիկների առաջացմանը, այն դեպքում, երբ CCC-ն հողը մտցնելիս կասեցվում է այդ պրոցեսը: Ըստ երկվույթին, CCC-ի դրական ազդեցությունը պալարիկների առաջացման վրա կապված է բույսերի ֆիզիոլոգիական վիճակի փոփոխության հետ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

Бояркин А. И. 1947. ДАН СССР, 57,2.

Бояркин А. И. 1948. ДАН СССР, 59,9.

Бакаливанов Д. 1966. Тезисы докладов симпозиума по стимуляции роста растений. София.

- Красильников Н. А. 1966. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. Изд. МГУ.
- Чайлахян М. Х., Меграбян А. А., Карапетян Н. А., Каладжян Н. Д. 1961. Изв. АН Арм. ССР (биол. науки), 14, 12.
- Чайлахян М. Х., Меграбян А. А., Карапетян Н. А., Каладжян Н. Д. 1963. ДАН Арм. ССР, 36,3.
- Чайлахян М. Х., Арутюнян Р. Ш. 1968. Биол. журнал Армении, 21,4.
- Chundra P., Bollen W. B. 1960. Appl. Microbiol., 8(1).
- Greenberg L., Tirpak S. 1960. Journ. Amer. Pharm., Assoc., 49(5).
- Galston A. W. 1959. Nature, v. 183, 4660.
- Hayashi T. 1940. Journ. Agri., chem. soc. Japan, 16.
- Lu K. C., Gilmour C. M., Zagallo A. C., Bollen W. B. 1958. Nature, 181, 4603.
- Mes M. G. 1959. Nature, v. 184, 4701.
- Prokash Ved. 1966. Exptl. Biol., 4, 4.
- Thurber G. A., Douglas S. R. and Galston A. W. 1958. Nature, 181, 1082.