

Ф. С. Матевосян, А. П. Петросян

Дегидрогеназная активность различных видов клубеньковых бактерий

Имеющиеся в литературе данные о возможной связи между дегидрогеназной активностью клубеньковых бактерий и степенью азотонакопления весьма разноречивы.

В работах Шмидта (1964), Федорова и Нице (1961), а также Доросинского, Загорье и Бузиашвили (1966) указывается, что эффективные штаммы клубеньковых бактерий, как правило, обладают более высокой активностью различных дегидрогеназных систем, чем неэффективные.

По данным В. Л. Кретовича и др. (1969) установлено, что в бесклеточных экстрактах эффективных штаммов *Rh. leguminosarum* и *Rh. trifolii* активность аланин-дегидрогеназы была выше, чем в бесклеточных экстрактах неэффективных штаммов. Активность сукцинатдегидрогеназы из эффективных штаммов выше, чем из неэффективных. О. И. Бершова, В. Н. Юрченко, О. И. Фролова (1968) считают, что для клубеньковых бактерий клевера и люпина можно рекомендовать в качестве первичного отбора дегидрогеназную активность. По этому признаку точность отбора колеблется в пределах 70—80%, а для клубеньковых бактерий гороха—50—60%.

Между тем, другим исследователям (В. К. Шильникова и К. Г. Агаджанян, 1965; В. И. Андриенко и В. Н. Юрченко, 1967 и др.) не удалось обнаружить корреляции между дыхательной активностью чистых культур клубеньковых бактерий и их эффективностью в симбиозе.

Нам была поставлена задача изучить дегидрогеназную активность различных по эффективности местных штаммов клубеньковых бактерий фасоли, гороха, эспарцета и люцерны с целью установления непосредственной связи между дегидрогеназной активностью и эффективностью штаммов.

Материал и методы исследований

Для исследования были взяты штаммы клубеньковых бактерий, выделенные из клубеньков бобовых растений, собранных в различных почвенно-климатических условиях Армянской

СССР. Исследовались всего 42 активных и неактивных штамма клубеньковых бактерий, из которых 8 штаммов—*Rh. phaseoli*, 9—*Rh. leguminosarum (pisum)*, 14—*Rh. meliloti* и 11—*Rh. simplex*.

Эффективность изученных штаммов клубеньковых бактерий проверялась в вегетационных опытах на стерильном песке, с питательной средой Прянишникова.

Культуры выращивали на качалке (240 об/мин.) при 26—27° С в течение 48 часов. Использовалась среда следующего состава (в %): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —0,05; K_2HPO_4 —0,05; MgSO_4 —0,02; NaCl —0,02; кукурузный экстракт—0,3; меласса—1,0; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ —0,001; pH среды—7,0–7,2.

Дегидрогеназная активность определялась с помощью 2, 3, 5-трифенилтетразолийхлорида (ТТХ), на разных стадиях развития культур клубеньковых бактерий.

Клетки клубеньковых бактерий осаждались центрифугированием при 10 тыс. об/мин, в течение 15 мин. Реакция велась в анаэробных условиях при 37°, в течение 24 часов. Субстратом для определения дегидрогеназной активности служил 1% раствор глюкозы. Концентрацию трифенилформазана, который образовывался в результате ферментативного восстановления трифенилтетразолийхлорида, определяли при помощи фотоэлектроколориметра (ФЭК—56) с использованием 5-миллиметровых кювет и зеленого светофильтра №5. Активность дегидрогеназ выражали в миллиграммах трифенилформазана на определенный титр клеток (100 млрд). Титр клеток определяли методом последовательных разведений.

Результаты исследований

Изучение дегидрогеназной активности клубеньковых бактерий в чистой культуре показало, что активность дегидрогеназ резко изменяется в зависимости от возраста исследуемых культур. Восстановительная активность большинства испытанных культур была наиболее высокой на вторые сутки культивирования бактерий (табл. 1 и 2).

При сравнении дегидрогеназной активности клубеньковых бактерий гороха, фасоли, люцерны, эспарцета выяснилось, что клубеньковые бактерии гороха и фасоли обладают сравнительно высокой дегидрогеназной активностью, чем клубеньковые бактерии люцерны и эспарцета. Дегидрогеназная активность штаммов гороха и фасоли колеблется в пределах от 0,15 до 0,60 мг формазана, а люцерны и эспарцета—от 0,03 до 0,34. Не выявлено устойчивой связи между дегидрогеназной активностью штаммов клубеньковых бактерий в чистой культуре и степенью их эффективности в симбиозе. Так, например,

менее эффективный штамм клубеньковых бактерий фасоли №109 отличался более высокой дегидрогеназной активностью, чем эффективные штаммы №№ 90, 88, 100. Такие же различия отмечаются и для штаммов клубеньковых бактерий гороха, люцерны и эспарцета.

Следовательно, эффективные штаммы клубеньковых бактерий не всегда отличались высокой дегидрогеназной активностью.

Таблица 1
Дегидрогеназная активность штаммов клубеньковых бактерий люцерны и эспарцета (мг формазана на 100 млрд. клеток)

Клубеньковые бактерии люцерны		Клубеньковые бактерии эспарцета	
№ штаммов	дегидрогеназная активность	№ штаммов	дегидрогеназная активность
1 активн.	0,12	58 активн.	0,07
13 "	0,14	46 "	0,06
9 "	0,12	57 "	0,15
43 "	0,22	84 "	0,03
21 "	0,11	51 "	0,34
25 "	0,17	48 мало активн.	0,19
56 "	0,16	54 "	0,30
21 "	0,07	56 не активн.	0,22
26 мало активн.	0,10	46 "	0,03
47 не активн.	0,15	104 "	0,04
30 "	0,23	61 "	0,15
87 "	0,25		

Таблица 2
Дегидрогеназная активность штаммов клубеньковых бактерий гороха и фасоли (мг формазана на 100 млрд. клеток)

Клубеньковые бактерии фасоли		Клубеньковые бактерии гороха	
№ штаммов	дегидрогеназная активность	№ штаммов	дегидрогеназная активность
90 активн.	0,21	144 активн.	0,20
88 "	0,20	140 "	0,21
92 "	0,25	65 "	0,12
28 "	0,26	23 "	0,15
100 "	0,16	129 "	0,60
109 не активн.	0,30	227 "	0,20
107 "	0,18	36 не активн.	0,26
		46 "	0,17
		114 "	0,18

Выводы

1. Дегидрогеназная активность у различных видов и штаммов клубеньковых бактерий значительно отличается.

2. На основании полученных данных мы пришли к заключению, что дегидрогеназная активность в чистой культуре не является достоверным показателем эффективности штамма. Наблюдающаяся в некоторых случаях положительная корреляция дегидрогеназной активности со степенью эффективности штаммов, очевидно, объясняется видовой или штаммовой особенностью клубеньковых бактерий.

Յ. Ս. ՄԱԹԵՎՈՍՅԱՆ, Ա. Ս. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ

ՊԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՏԱՐՐԵՐ ՏԵՍԱԿՆԵՐԻ ԴԵՀԻԴՐՈԳԵՆԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա մ ֆ օ լ ո յ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է լոբու, ոլոռի, առվույտի, կորնզանի պալարաբակտերիաների 42 ակտիվ և ոչ ակտիվ շտամների դեհիդրոգենազային ակտիվությունը:

Ուսումնասիրությունից պարզվել է, որ պալարաբակտերիաների տարրեր տեսակները իրենց դեհիդրոգենազային ակտիվությամբ խիստ տարբերվում են միմյանցից: Օրինակ՝ ոլոռի և լոբու պալարաբակտերիաներն ունեն ավելի բարձր դեհիդրոգենազային ակտիվություն, քան կորնզանի և առվույտի պալարաբակտերիաները:

Ուսումնասիրված պալարաբակտերիաների տարրեր շտամների մոտ էֆեկտիվության և նրանց դեհիդրոգենազային ակտիվության միջև ուղիղ համեմատական կապ (կորելացիա) չի հայտնաբերվել: Ստացված նախնական արդյունքները համապատասխանում են գրականության մեջ եղած տվյալներին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Шмидт Э. Ф. 1964. Микробиология, 33,2.
 Федоров М. В. и Нице Л. 1961. Микробиология, 33,3.
 Доросинский Л. М., Загорье И. В. и Бузиашвили Д. М. 1966. Микробиология, 35,2.

- Бершова О. И., Юрченко В. Н., Фролова О. И. 1968. Тезисы докладов совещания по проблеме «Биологическая фиксация атмосферного азота». Киев.
- Кретович В. Л., Евстигнеева З. Г., Романов В. И. и др. 1969. Микробиология, 38,2.
- Шильникова В. К. и Агаджанян К. Г. 1965. Докл. ТСХА, 103.
- Ильина Т. К. 1968. Микробиология, 37,2.
- Ягодин Б. А., Овчаренко Г. А. 1969. Изв. АН СССР, сер. биол., 1.