

УДК 578.809.51

Г. Я. Петренко, Л. И. Розанова

Влияние перекрестного пассивирования через бобовые растения на свойства *Rhizobium leguminosarum*

Вопрос о влиянии пассивирования через бобовые растения клубеньковых бактерий на их азотофиксирующую активность в литературе освещен достаточно полно (Израильский и др., 1933; Аллен и Аллен, 1958). Однако данные о влиянии пассивирования клубеньковых бактерий на их свойства в чистой культуре в литературе почти отсутствуют.

Задачей наших исследований явилось изучение свойств клубеньковых бактерий в чистой культуре после пассивирования их через бобовые растения (кормовые бобы, горох и вику) и определение связи между этими свойствами бактерий и их активностью в условиях симбиоза.

Исследования проводили с клубеньковыми бактериями вида *Rh. leguminosarum*. Клубеньковые бактерии были выделены в Московской области (экспериментальное хозяйство «Немчиновка»). Активность бактерий, определенная ранее (Розанова, 1968), и их происхождение представлены в табл. 1.

Форму колоний клубеньковых бактерий изучали на бобовом агаре с сахарозой. Интенсивность и характер роста бактерий изучали на бобовом отваре, сахарозо-тирозиновой среде и среде Эшби, отношение бактерий к молекулярному кислороду на среде Зиха, способность их образовывать зону просветления и ее ширину — на обезжиренном молоке. Способность клубеньковых бактерий использовать разные источники углерода изучали на среде Шенберг. Источниками углерода служили пентозы (арабиноза), гексозы (глюкоза и маноза), дисахариды (лактоза), полисахариды (растворимый крахмал) и спирты (этиловый спирт и маннит).

Бобовый агар, бобовый отвар, обезжиренное молоко, среду Шенберг готовили по Израильскому и др. (1933), сахарозо-тирозиновую среду — по Березовой и Ремпе (1952), среду Зиха — по Работновой (1936), среду Эшби — по Омелянскому (1940).

Пассивированные и непассивированные клубеньковые бактерии

одинакового штамма засевали на среде трехсуточными культурами, выращенными на бобовом агаре с сахарозой, одновременно одинаковым количеством посевного материала. Идентичность пассированных клубеньковых бактерий подтверждена на основании изучения их серологических свойств (Розанова, 1967).

Таблица 1

Происхождение клубеньковых бактерий и их активность

Штаммы клубеньковых бактерий	Растение, из которого выделен штамм	Активность штамма		
		на кормовых бобах	на горохе	на вике
31	кормовые бобы, сорт Аккерперле	высокоактивный	неактивный	низкоактивный
5	кормовые бобы, сорт Примус	активный	активный	не проверяли
42	горох, сорт Московский 572	низкоактивный	высокоактивный	низкоактивный
97	вика типа Льговская	неактивный	низкоактивный	высокоактивный

Результаты изучения морфологических и культуральных свойств клубеньковых бактерий и их отношения к различным источникам углерода представлены в табл. 2 и 3.

Результаты табл. 2 и 3 показывают, что морфологические и культуральные свойства клубеньковых бактерий и их отношение к предложенным источникам углерода имеют штаммовые различия, не связанные, однако, с их азотфиксирующей активностью в условиях симбиоза с бобовыми растениями.

Все непассированные клубеньковые бактерии слабо росли на среде Эшби, хотя по своей активности на кормовых бобах, горохе и вике они различались между собой. Выделенные из кормовых бобов штаммы 31 и 5 на бобовом агаре с сахарозой образовывали колонии S-формы. Выделенный из вики штамм 97 и выделенный из гороха штамм 42 образовывали на этой среде колонии O-формы. На бобовом отваре рост всех клубеньковых бактерий был средней интенсивности.

При росте клубеньковых бактерий на сахарозо-тирозиновой среде между ними имелись различия, не коррелировавшие, однако, с их активностью в условиях симбиоза. Штаммы 31, 42 и 97 хорошо росли на этой среде, рост на ней штамма 5 был слабым.

По отношению к молекулярному кислороду отмеченные между клубеньковыми бактериями различия не коррелировали с их активностью. Бактерии, как правило, росли в узком слое среды Зиха, в виде сплошной пластинки, залегающей на различной глубине от поверхности среды (штаммы 5, 42 и 97),

Таблица 2

Морфологические и культуральные свойства непаспированных и паспированных клубеньковых бактерий

Штаммы клубеньковых бактерий	Форма колоний на бобовом агаре	Бобовый отвар		Ширина зоны просветления на молоке в мм	Среда Эшби		Сахарозо-тирозиновая среда		Глубина залегания роста на средах в мм
		интенсивность роста	характер осадка		интенсивность роста	характер штриха	интенсивность роста	характер штриха	
31	S-форма	++	слабый хлопьевид.	4	+	плоский матовый	++	слизистый блестящий	5-15
31-5б	S-форма	+++	—	6	++	выпуклый блестящий	+++	—	7
31-4г	S-форма	+-	—	5	+	плоский матовый	+++	—	9
5	S-форма	+++	хлопьевид.	5	+	—	+	плоский матовый	12
5-5г	S-O-форма	+++	крупный хлопьевид.	4	++	—	++	слизистый блестящий	9
42	O-форма	++	слабый хлопьевид.	4	+	—	++	выпуклый блестящий	10
42-5б	O-форма	++	нет	4	++	—	++	—	8
42-6г	O-форма	+++	слабый хлопьевидный	4	++	—	+++	—	10
42-3в	O-форма	++	—	5	+	—	++	—	10
97	O-форма	+++	слабый хлопьевидный	5	++	плоский блестящий	+++	—	8
97-5б	O-форма	+++	хлопьевидный	2	++	слизистый блестящий	++	—	0-15
97-1г	O-форма	++	—	2	++	—	++	—	8
97-3в	O-форма	+++	—	4	++	—	+++	—	8

Примечание: 5б—штамм паспировали 5 раз через кормовые бобы; 1 г—штамм паспировали 1 раз через горох и т. д.; 3в—штамм паспировали 3 раза через вику; (++++)—рост очень интенсивный; (+++)—рост интенсивный; (++)—рост средней интенсивности; (+)—рост слабый.

Таблица 3
Отношение непассированных и пассированных клубеньковых бактерий к разным источникам углерода

Штаммы клубеньковых бактерий	Арабиноза		Глюкоза		Манноза		Лактоза		Растворимый крахмал		Этиловый спирт		Маннит	
	Р	К	Р	К	Р	К	Р	К	Р	К	Р	К	Р	К
31	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
31-56	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
31-4г	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5-5г	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
42	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
42-56	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
42-6г	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
42-3в	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
97	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
97-56	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
97-2г	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
97-3в	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Примечание: 56—штамм пассировали 5 раз через кормовые бобы; 2г—штамм пассировали 2 раза через горох и т. д., 3в—штамм пассировали 3 раза через вику; Р—рост; К—образование кислоты; (++++)—интенсивный рост с образованием слизи, кислоты очень много, окраска среды желтая; (++++)—интенсивный рост без образования слизи, кислоты много, окраска среды желто-зеленая; (++)—рост средней интенсивности, кислоты немного, окраска среды зеленая; (+)—рост слабый, кислоты очень слабый, окраска среды зелено-синяя; (±)—рост очень слабый, окраска среды не изменилась; (—)—роста нет, кислота отсутствует, окраска среды не изменилась.

реже они росли в широкой зоне среды (штамм 31). Бактериальная пластинка штамма 97 залегала на глубине 8 мм; штаммы 5 и 42 оказались менее устойчивыми к молекулярному кислороду и росли на глубине 10—12 мм.

По интенсивности роста на среде Шенберг с различными источниками углерода и образованию на ней кислоты между клубеньковыми бактериями имелись различия, также не связанные с их активностью.

Все штаммы хорошо росли на среде с глюкозой, лактозой, растворимым крахмалом и маннитом. На среде с арабинозой все штаммы росли слабо. Манноза оказалась хорошим источником углерода для штаммов 31, 5 и 97. Рост штамма 42 на среде с маннозой был слабым. Этиловый спирт оказался хорошим источником углерода лишь для штамма 97. Штаммы 31, 5 и 42 использовали его слабо.

Небольшое количество кислоты все штаммы образовывали на среде с лактозой, растворимым крахмалом, этиловым спиртом, маннитом и арабинозой. Штамм 31 в отличие от штаммов 5, 42 и 97 на среде с глюкозой и маннозой образовывал много кислоты.

После пассирования через бобовые растения клубеньковых бактерий некоторые их культуральные свойства и отношение к источникам углерода изменялись. Однако эти изменения не коррелировали с изменением или отсутствием изменений их азотфиксирующей активности в условиях симбиоза.

Активные для кормовых бобов штаммы 31 и 5, пассированные через горох, резко снизили свою активность на кормовых бобах без значительного изменения ее на горохе. Активность высокоактивного для гороха штамма 42 и высокоактивного для вики штамма 97 после пассирования их через другие виды бобовых растений менялась незначительно.

Пассированные клубеньковые бактерии не изменили форму колоний на бобовом агаре с сахарозой. Исключение составил пассированный через горох штамм 5, колонии которого вместо S- стали S-O-формы (форма, переходная между S- и O-формами). Пассированные штаммы 31, 5 и 97 изменили интенсивность роста на бобовом отваре.

При росте пассированного через вику штамма 42 на обезжиренном молоке ширина образованной ими зоны просветления увеличилась. Рост пассированного через кормовые бобы, горох и вику штамма 97 на этой среде сопровождался уменьшением ширины зоны просветления.

Пассированные через горох штаммы 5, 42 и 97 интенсивнее росли на среде Эшби по сравнению с одноименными непассированными штаммами. Повышение интенсивности

роста на среде Эшби отмечено для штаммов 31 и 97 после пассирования их через кормовые бобы.

Пассированный штамм 5 усилил интенсивность роста на сахарозо-тирозиновой среде. Интенсивность роста на этой среде пассированных штаммов 31, 42 и 97 менялась слабо.

Пассированные через горох и вику штаммы 42 и 97 не изменили своего отношения к молекулярному кислороду. Пассированный через кормовые бобы штамм 97 в отличие от одноименного непассированного штамма стал расти в широкой зоне среды Зиха. Штамм 31 после пассирования через кормовые бобы и горох стал расти в узкой зоне среды. Зона роста штамма 5 после пассирования его через горох сместилась вверх на 3 мм.

Пассированный через кормовые бобы штамм 97 снизил интенсивность роста и образование кислоты на среде с арабинозой. Пассированный через горох штамм 31 снизил интенсивность роста и образование кислоты на среде с лактозой и маннитом. Пассированный через горох штамм 5 по сравнению с одноименным непассированным штаммом интенсивнее продуцировал кислоту на среде с этиловым спиртом. Для пассированного штамма 42 также отмечено изменение интенсивности роста и образование кислоты на предложенных источниках углерода.

Проведенное нами сравнительное изучение в чистой культуре морфологических, культуральных свойств непассированных и пассированных через бобовые растения клубеньковых бактерий и их отношения к источникам углерода не выявило тех свойств бактерий, которые коррелировали бы с их азотфиксирующей активностью в условиях симбиоза. Ряд авторов (Мелкумова, 1957; Шильникова и др., 1966) также отмечают отсутствие связи между активностью клубеньковых бактерий в условиях симбиоза и их свойствами в чистой культуре.

Выводы

1. После пассирования через бобовые растения клубеньковых бактерий их морфологические, культуральные свойства и отношение к источникам углерода в чистой культуре меняются.
2. Эти изменения не коррелируют с изменением азотфиксирующей активности клубеньковых бактерий в условиях симбиоза.

9. ՅԱ. ՊԵՏՐԵՆԿՈ, Լ. Ի. ՐՈԶԱՆՈՎԱ

ԹԻԹԵՌՆԱՆԱՂԿԱՎՐՐ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՄԻՋՈՎ ԵԱԶԱԶԵՎ ՊԱՍԱԺ
ԱՆԵԼՈՒ ԱԶԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆՔ RHIROBIUM LEGUMINOSARUM-Ի
ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է ուրոֆի, վիկայի, կերային քակայի պալարաբակտերիաների մորֆոլոգիական և կուլտուրալ հատկությունների փոփոխությունները բույսերի միջով խաչաձև պասսաժից հետո: Ուսումնասիրությունից պարզվել է, որ՝

1. Պալարաբակտերիաները թրթեռնածաղկավոր բույսերի միջով պասսաժից հետո մաքուր կուլտուրաներում փոփոխվում են ներանց մորֆոլոգիական և կուլտուրալ բիոբիմիական հատկությունները:

2. Այդ փոփոխությունները չեն համահարաբերակցվում համակենցության պայմաններում պալարաբակտերիաների ազոտաֆիքսացիայի ակտիվության փոփոխությունների հետ:

ЛИТЕРАТУРА

- Березова Е. Ф., Ремпе Е. X. 1952. Микробиология, 21, 4.
 Израильский В. П., Рунов Е. В., Бернард В. В. 1933. Клубеньковые бактерии и нитрагин, М.
 Мелкумова Т. А. 1957. Кандидатская диссертация, М.
 Омельянский В. Л. 1940. Практическое руководство по микробиологии, М.—Л.
 Работникова И. Л. 1936. Микробиология, 5, 2.
 Розанова Л. И. 1967. С.-х. биология, 2, 6.
 Розанова Л. И. 1968. Вестник с.-х. науки, 2.
 Шильникова В. К., Поглазова М. Н., Агаджанян К. Г. 1966. Изв. ТСХА, 5.
 Allen E. K., Allen O. N. Encycl. Plant Physiol., 8, Berlin.