

УДК 576. 809. 54

Е. Н. Аввакумова

Сохранение активности клубеньковых бактерий в лабораторных условиях

Клубеньковые бактерии, при использовании их для нитрагинизации, не всегда оказывают положительное влияние на бобовые культуры. В литературе встречаются сообщения о противоречивых или отрицательных результатах испытания нитрагина (Петренко, 1956; Генералов, 1957; Brockwell, 1954; Waters, 1954, и др.).

Наряду с такими факторами эффективности клубеньковых бактерий, как активность штамма, специфичность, условия применения, технология приготовления нитрагина и др., важное значение имеет сохраняемость бактерий на искусственной питательной среде в лабораторных условиях. Неудачи с применением нитрагина во многих случаях можно объяснить потерей клубеньковыми бактериями активности при многолетнем их хранении на лабораторных средах.

Работ по вопросу сохранения первоначальных свойств у клубеньковых бактерий в лабораторных условиях встречается немного. Поттер (Potter, 1955), например, сообщает о хорошей сохраняемости (1—2 года) клубеньковых бактерий в клубеньках, подвергшихся глубокому замораживанию, при добавлении к средам некоторых красок. Известно также, что в стерильной почве клубеньковые бактерии сохранялись до 30—45 лет (Jensen, 1961). Путем лиофилизации также можно сохранить на некоторое время свойства исходных культур клубеньковых бактерий (Бородулина, 1961 и др.).

В связи с вышеуказанным нами были проведены небольшие исследования по изучению сохранения исходных свойств клубеньковых бактерий (вирулентность, активность) в зависимости от продолжительности хранения их в лабораторных условиях.

Методика исследования

Для исследований использовались штаммы клубеньковых бактерий клевера и гороха, выделенные из клубеньков бобо-

вых растений с различных почв средней полосы Европейской части Советского Союза.

Клубеньковые бактерии после выделения из клубеньков бобовых растений пересеивались на свежую питательную среду (бобовый агар) один раз в 2—3 месяца, в течение от 1 до 6 лет, после чего культуры хранились на бобовом агаре без пересева при комнатной температуре также от 1 до 6 лет. Испытывались 7 штаммов клубеньковых бактерий клевера и 5 штаммов гороха. Для «оживления» клубеньковых бактерий в пробирки с высохшей культурой наливалась стерильная вода и через 2—3 часа делался посев на свежий бобовый агар.

Влияние продолжительности хранения на вирулентность и активность клубеньковых бактерий изучали в вегетационном опыте со штаммом клубеньковых бактерий гороха № 142. Штамм 142 является эффективным для гороха сорта Московский 572 и в предыдущих опытах (вегетационных и полевых) постоянно давал прибавку урожая на 19—20%. Кроме того, этот штамм сохранил способность к возобновлению роста при хранении его в сухом состоянии в течение 5 лет, а при 3-летнем хранении имел хороший рост. Для сравнения были взяты и пассированные через растения культуры штамма № 142 (1 и 2 пассажа). Опыт был заложен в вегетационных сосудах со стерильным песком в 4-кратной повторности. В песок вносилась питательная среда Кнопа с уменьшенной дозой азота до 0,1% от нормы.

Вирулентность определялась по интенсивности образования клубеньков на корнях, активность — по воздействию клубеньковых бактерий на урожай гороха. Уборка и учет урожая производились в период образования плодов.

Результаты исследования

Все изученные штаммы клубеньковых бактерий гороха и клевера хорошо росли на бобовом агаре при регулярном их пересеве. Жизнеспособность штаммов сохранялась также при хранении их на бобовом агаре в сухом состоянии при комнатной температуре. Штаммы возобновляли свой рост при пересеве их на свежую питательную среду после хранения в сухом состоянии от 1 до 6 лет, но не все в одинаковой мере (табл. 1)

Тем не менее, штаммы клубеньковых бактерий клевера № 122 и 114 и гороха № 89 не потеряли своей жизнеспособности даже при 6-летнем хранении их в сухом виде. Через пять лет не потеряли способность к росту штаммы клевера № 13, 4, 21 и гороха № 142 и 146. После 2-летнего хранения в сухом состоянии все испытываемые штаммы клубеньковых

Таблица 1

Интенсивность роста клубеньковых бактерий гороха и клевера после длительного хранения в лабораторных условиях

№ штаммов	Сроки хранения в сухом состоянии по годам						
	Регулярный пере- сев в течение 6 лет	1	2	3	4	5	6
Клубеньковые бактерии клевера							
122	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
114	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
13	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
4	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
21	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
14	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
23	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Клубеньковые бактерии гороха							
42	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
89	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
142	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
4	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
146	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Примечание: интенсивность роста определялась по пятибалльной системе.

бактерий дали рост. Интенсивность роста при этом была неодинаковой у различных штаммов клубеньковых бактерий. Если штаммы № 122 и 114 хорошо росли даже после 6-летнего сухого хранения, то штаммы № 13, 4 и 142 хотя и возобновили рост после 5-летнего сухого хранения, но очень слабо. Исключением явился штамм № 21, который дал лучший рост после 5 лет хранения, чем после 1-го и 2-х лет.

Таблица 2

Вирулентность и эффективность клубеньковых бактерий гороха, штамм 142, в зависимости от продолжительности пересевов и хранения в сухом состоянии

Варианты опыта	Число растений с клубеньками через 15 дней после всходов в %	Сухой вес наземной массы на сосуд		Число клубеньков на одно растение в период уборки
		г	%	
Контроль (без инокуляции)	0	13.0	100.0	нет
Регулярный пересев 6 лет	6	13.0	100.0	4
Пересев 4 года, хранение 2 года	12.5	14.0	107.8	4
Пересев 3 года, хранение 3 года	62.5	11.0	84.7	27.6
Пересев 1 год, хранение 5 лет	70	15.0	115.5	73
1 пассаж	80	15.5	119.4	120
II пассаж	78.5	12.0	92.4	121

Изучение влияния продолжительности хранения и пересевов клубеньковых бактерий на их вирулентность и активность проводилось в вегетационном опыте. Результаты вегетационного опыта (табл. 2) показали, что регулярный пересев (6 лет) активного и вирулентного штамма № 142 изменил его исходные свойства. На корнях гороха, инокулированного культурой, регулярно пересевавшейся, образовалось только 4 клубенька на одно растение. Подобные результаты наблюдались при инокуляции культурой клубеньковых бактерий, пересевавшейся 4 года, с последующим хранением ее в сухом состоянии 2 года. Наибольшее количество клубеньков образовалось на растениях, инокулированных штаммом гороха № 142, пересевавшимся в

течение одного года и затем хранившемся без пересева 5 лет, а также пассированными культурами. Чем меньше был период пересева культур клубеньковых бактерий на свежие питательные среды, тем выше их вирулентность. Продолжительное хранение культур в сухом состоянии мало влияло на вирулентность штамма.

В результате частых пересевов активный штамм № 142 потерял не только свою вирулентность, но и способность фиксировать азот. Урожай растений, инокулированных культурами, регулярно пересевавшимися в течение 6, 4 и 3 лет, был на уровне контрольного варианта.

При пересеве культуры один год с последующим 5-летним хранением в сухом состоянии почти сохранились первоначальные свойства штамма. Инокуляция семян этой культурой повысила урожай гороха по сравнению с контролем на 15,5%. Активность штамма повысилась также после однократного пассажа его через бобовое растение. Двухкратный пассаж клубеньковых бактерий не дал положительных результатов.

Выводы

1. Клубеньковые бактерии клевера и гороха сохраняют жизнеспособность на питательных средах без пересева, в воздушно-сухом состоянии в течение нескольких лет.

2. Чувствительность клубеньковых бактерий к высушиванию неодинакова и они по-разному возобновляют свою способность к росту в зависимости от срока хранения в сухом состоянии.

3. Частые пересевы культуры на свежие питательные среды отрицательно действуют на сохранение вирулентности и активности штамма клубеньковых бактерий.

4. Для сохранения исходных свойств клубеньковых бактерий возможно хранить их на питательных средах без пересева в течение продолжительного времени.

Ե. Ն. ԱՎԱԿՈՒՄՈՎԱ

ՊԱՆԱՐԱՔԱՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՊԱՀՊԱՆՈՒՄԸ
ԼԱՐՈՐԱՏՈՐ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա. մ փ ռ փ ռ լ մ

Պաշարաբակտերիաները լաբորատոր պայմաններում արհեստական սննդանյութերի վրա պահելու դեպքում կարող են օղաչոր

վիճակում իրենց կենսունակությունը պահպանել մինչև մի քանի տարի: Տարրեր շտամներ տարրեր վերաբերմունք ունեն չորացման նկատմամբ:

Քարմ սննդանյութերի վրա հաճախակի վերացանք կատարելիս ընկնում է հրեքնուկի և ոլոռի պալարաբակտերիաների ակտիվությունն ու վիրուլենտությունը:

Այսպիսով, լաբորատոր պայմաններում պալարաբակտերիաների սկզբնական հատկությունների պահպանման համար կարելի է նրանց պահել սովորական սննդանյութերի վրա օդաչոր վիճակում:

ЛИТЕРАТУРА

- Бородулина Ю. С. 1961. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 11.
 Генералов Г. Ф. 1957. Земледелие, 2.
 Петренко Г. 1956. Земледелие, 8.
 Brockwell J. 1954. J. Austral. Inst. Agric. Sci., 20, 4.
 Jensen H. L. 1961. „Nature.. 192, 4803.
 Potter L. F. 1955. Microbiol., 3.
 Waters L. M. 1954. J. Austral. Inst. Agric. Sci., 20, 4.