

Э. А. Овсепян, А. Д. Налбандян

РАСПРОСТРАНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СЕРОТИПОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В ПОЧВАХ АРМЯНСКОЙ ССР

Серологические свойства микроорганизмов являются важным признаком для определения их принадлежности к определенному виду или типу. Штаммы клубеньковых бактерий по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам мало отличаются, что затрудняет их дифференциацию. Антигенные свойства бактерий строго специфичны и по сравнению с другими свойствами более стабильны, чем и объясняется широкое использование серологических методов исследования для разграничения отдельных групп клубеньковых бактерий (Калциньш, 1961, 1964).

Фогель и Ципфель (Vogel, Zipfel, 1921) клубеньковые бактерии разделили на 6 серологических групп. В дальнейшем серологические различия были установлены между штаммами одного и того же вида. Стивенс (Stevens, 1923) выявил у 55 штаммов клубеньковых бактерий, относящихся к 7 видам, 18 серологических групп. Асо и Окавара (Aso, Okawara, 1926), применяя методы преципитации, агглютинации и связывания комплемента, выявили 3 серологические группы клубеньковых бактерий вики и гороха. У клубеньковых бактерий сои Райт (Wright, 1930) установил 6 серологических групп.

Израильский (Izraïlsky, 1929) нашел, что у бобов имеются 2 группы клубеньковых бактерий, одна из которых серологически идентична бактериям вики.

Однако все эти исследования велись на небольшом количестве штаммов каждого вида или группы видов клубеньковых бактерий, при этом не учитывалась разница между жгутиковыми (Н) и соматическими (О) антигенами. Большой вклад в изучении серологических свойств клубеньковых бактерий внесли исследования австралийского ученого Винсента и его сотрудников (Vincent, 1941, 1942; Purchase et al., 1951). Они установили, что соматические антигены у клубеньковых бактерий более специфичные, чем жгутиковые.

По классификации Штерн (1953) клубеньковые бактерии относятся к двум серологическим группам: в первую входят бактерии люцерны, донника, клевера и вики, во вторую — бактерии бобов, фасоли и гороха.

С помощью серологических методов можно разрешить ряд вопросов, связанных с изучением симбиоза бобовых растений с клубеньковыми бактериями, которые трудно выяснить обычными методами. Так, этим методом можно разрешить вопрос приживаемости и конкурентоспособности клубеньковых бактерий, внесенных в почву (Рыжкова и др., 1969; Thornton et al., 1950).

Серологические особенности клубеньковых бактерий, распространенных в почвах республики, изучаются впервые.

Цель данной работы — изучить серотипы видов клубеньковых бактерий гороха, фасоли и эспарцета, выделенных из клубеньков бобовых растений, распространенных в разных почвах Армении.

Материал и методика исследований

Для получения специфических антисывороток были отобраны штаммы клубеньковых бактерий гороха, фасоли и эспарцета, выделенных из различных почвенно-климатических зон Армянской ССР.

Иммунизация кроликов проводилась живыми культурами бактерий по методу, предложенному Калниньшем (1961). Антисыворотки испытывались на 31 штамме клубеньковых бактерий гороха, 42 — фасоли и 55 — эспарцета, выращенных на бобовом агаре с 1% сахарозы в течение двух-трех суток. Культуру смывали с поверхности агара физиологическим раствором (3-4 мл). При проведении реакции агглютинации учитывалась только соматическая агглютинация, как более специфичная. Для инакти-

вазии менее стойких жгутиковых антигенов клетки бактерий предварительно выдерживались в водяной бане при 100° в течение 30 минут. Сыворотки разводились в 1600, 3200, 6400 и 12800 раз. Наличие соответствующего антигена в бактериях устанавливалось при агглютинации антисыворотки, разведенной в 1600 или более раз.

Результаты исследований

Серологическая характеристика штаммов клубеньковых бактерий гороха, выделенных из почв 8 районов республики, приведена в табл. 1. Данные показывают, что из 31 штамма агглютинируют с антисыворотками 25 штаммов, которые, в зависимости от места выделения, отнесены к 5 серологическим типам. Так, штаммы, выделенные из почв Разданского района, отнесены к I, II и III серогруппам, из Абовянского и Степанаванского районов — к I серогруппе, Варденисского района — к I и УП серогруппам, К I, III, УП и УШ серогруппам относятся клубеньковые бактерии, выделенные из почв г. Ленинакана, а из Мартунинского и Горисского районов — к II и III серогруппам. Агглютинирующий штамм клубеньковых бактерий гороха из почв Калининского района оказался III серогруппы.

Клубеньковые бактерии фасоли, выделенные из почв 18 районов Армении, включены в 7 серологических типов. У штаммов, выделенных из почв Арзнинского, Варденисского, Аштаракского, Севанского, Масисского, Мегринского, Эчмиадзинского районов, доминируют антигены *cd*. Эти штаммы отнесены к серогруппе X. В некоторых почвах этих районов встречаются также штаммы, имеющие *d*, *e*, *ac* антигены и соответственно включены в IY, Y и YII серологические группы. Штаммы клубеньковых бактерий фасоли, выделенные из почв Горисского района, имеют большой набор антигенов (*a*, *b*, *c*, *e*, *ac*, *cd*) и относятся к I, II, III, Y, YII и X серогруппам. Среди исследованных штаммов клубеньковых бактерий фасоли, в отличие от клубеньковых бактерий гороха, штаммы с антигенами *a* и *b*, реже встречаются (табл. 2).

Клубеньковые бактерии эспарцета, выделенные из почв 13 районов республики, принадлежат к 6 серологическим типам. Данные табл. 3 показывают, что клубеньковые бактерии эспарцета в основном имеют комплекс антигенов (*abc*) и отнесены к UI серогруппе. Такие штаммы распространены в почвах всех

Таблица 1

Серотипы клубеньковых бактерий гороха

Районы выделения штаммов	Кол- во ис- следо- ванных штаммов	Кол- во аг- глюти- нирующих- ся штаммов	Антисыворотки		Пределные разведения агглю- тинирующих антисывороток	Анти- гены группы	Сиро- гены
			23 А	32 а	25 В	48 С	
Разданский	7	7	3200, 6400, 6400	12800	3200		а, b, c 1, П, Ш
Абовянский	3	1	6400	12800	-	-	а 1
Степанаван- ский	1	1	6400	12800	-	-	а 1
Варденис- ский	6	3	1600, 3200, 3200, 6400	-	1600, 3200		а, ас 1, УП
Ахурянский	8	8	6400	12800	12800	6400, 12800	а, с, ас, bс 1, Ш, УП, УШ
Мартунинс- кий	2	2	-	-	3200	3200	б, с П, Ш
Горисский	2	2	-	-	12800	12800	б, с П, Ш
Калининс- кий	2	1	-	-	-	12800	с Ш
Всего	31	25					

Примечание: в данной и последующих таблицах (-) означает отсутствие агглютинации.

Таблица 2

Серотипы клубеньковых бактерий фасоли

Районы выделения штаммов	Кол- во ис- следо- ванных штам- мов	Кол- во аг- глюти- нирую- щихся штам- мов	Антисыворотки 96 А 75 В 28С предельные разведения глютинирующих вороток	штаммов 114Д 63Е антисы-	Ан- ти- ге- ны	Се- ро- груп- пы			
Абовянский (г. Арзни)	2	2	-	-	3200, 12800	3200 12800	-	cd	X
Апаранский	2	2	-	3200	-	-	3200	b, c	II, V
Ахурянский	2	1	-	-	-	-	6400	e	V
г. Кировакан	1	1	-	-	-	-	3200	e	V
Варденис- ский	1	1	-	-	12800	12800	-	cd	X
Степанаван- ский	3	3	-	-	12800	-	3200	c, e cd	IV, V, X
Аштаракский	3	3	3200	-	3200, 12800	12800	-	ac, cd	VII, X
Капининский	1	1	-	3200	-	-	-	b	II
Масисский	3	3	-	-	12800	12800	-	cd	X
Эчмиадзин- ский	2	2	-	-	6400	6400	6400	e, cd	V, X
Севанский	1	1	-	-	12800	12800	-	cd	X
Октемберян- ский	1	1	6400	-	-	-	-	a	I
Сисианский	1	1	-	-	-	12800	-	d	IV
Горисский	8	8	1600, 3200	-	3200 6400 12800	6400, 6400	6400, 6400	a, b, c, d e, ac, cd	I, II, III, V, VII, X
Абовянский	1	1	-	-	-	-	3200	e	V
Кафанский	7	4	-	6400	12800	12800	6400	b, c, cd	II, V, X
Мегринский	3	3	-	-	12800	12800	6400	e, cd	V, X
Ехегнадзор- ский	2	1	3200	-	-	-	-	a	I
Всего	44	39							

Таблица 3

Серотипы клубеньковых бактерий эспарцета

Районы выделения штаммов	Кол- во вы- делен- ных штам- мов	Кол- во аг- глюти- нирую- щихся штам- мов	Антисыворотки штаммов 79 А 152В 90 С 92 Д предельные разведения агглютинирующих анти- сывороток	Анти- гены	Сиро- груп- пы
Разданский 3	3		1600, 3200, 6400 3200 6400	abc, d	VI, IV
Апаранский 14	9		3200 1600 1600 3200 3200 6400 6400 6400	abc, d b, c	VI, IV II, III
Аштаракский 2	2		3200 3200, 6400 6400	abc	VI
Мартунин- ский 1	1		1600 6400 128,00	abc	VI
Талинский 1	1		1600 6400 6400	abc	VI
Севанский 1	1		3200 6400 3200	abc	VI
Ахурянский 5	8		1600, 1600, 3200, 3200 3200 6400	abc	VI
Дилижанский 3	4		1600 1600, 3200 3200	abc	VI
Октемберян- ский 4	2		1600 3200, 6400 6400	abc, ad	VI, IX
Эчмиадзин- ский 3	2		6400 1600, 1600 6400	abc, bc	VI, VIII
Масисский 4	3		1600 3200, 1600, 6400 3200 6400	bc, abc	VIII, VI
Горисский 5	5		1600, 3200, 3200, 3200 6400 6400	abc	VI
Сисианский 5	2		1600, 3200, 3200 3200 6400 6400	abc	VI
Всего	51	43			

Таблица 4

Распространение штаммов клубеньковых бактерий
гороха, фасоли и эспарцета по виду антигенов

Клубеньковые бактерии	Антигены	Количество штаммов с комплексом антигенов				Количество штаммов с одним антигеном	Общее количество штаммов
		a	b	c	d		
гороха	a	0	0	3	0	13	16
	b	0	0	1	0	3	4
	c	0	0	0	0	5	5
фасоли	a	0	0	2	0	3	5
	b	0	0	0	0	4	4
	c	0	0	0	13	1	16
	d	0	0	0	0	2	2
	e	0	0	0	0	14	14
эспарцета	a	34	34	34	1	0	35
	b	0	0	2	0	1	3
	c	1	0	0	0	1	2
	d	0	0	0	0	3	3

исследованных районов. Однако в почвах Апаранского, Октемберянского, Эчмиадзинского и Масисского районов встречаются штаммы, относящиеся к ко П, Ш, IY, YШ и IX серогруппам, которым соответствуют антигены b, c, d, bc, ad.

В табл. 4 представлены сводные данные по антигенам всех изученных клубеньковых бактерий. В исследованных почвах распространены клубеньковые бактерии гороха в основном с одним антигеном (a, b, c), при этом штаммы с антигеном "a" встречаются чаще, чем с антигенами b и c.

У клубеньковых бактерий фасоли выявлены штаммы, как с одним антигеном (a, b, c, d, e), так и с комплексом антигенов (ac, cd). Преобладающее количество штаммов имеют антиген "e" и комплекс антигенов cd. В отличие от двух указанных видов штаммы клубеньковых бактерий эспарцета имеют комплекс антигенов abc. У этого вида иногда встречаются штаммы с одним антигеном (b, c, d) и комплексом антигенов (bc, ac).

Выводы

1. Распространенные в почвах Армении клубеньковые бактерии гороха, фасоли и эспарцета серотипизированы в 10 серогрупп.

2. Определенные серогруппы клубеньковых бактерий гороха и фасоли в основном распространены в определенных географических зонах республики.

3. Установлены видовые и штаммовые отличия серологических особенностей клубеньковых бактерий гороха, фасоли и эспарцета.

Է. Ա. Հովսեփյան, Ա. Զ. Նալբանդյան

ՊԱԼԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՏԱՐԲԵՐ ՍԵՐՈՏԻՊԵՐԻ
ՏԱՐԱԾՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ՀՈՂԵՐՈՒՄ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Տրված է Հայաստանի տարբեր շրջանների հողերից մեկուսացված ոլոռի, լոբու, կորնգանի պալարաբակտերիաների սերոլոգիական բնութագրումը:

Ուսումնասիրված պալարաբակտերիաների շտամները սերոտիպիզացված են 10 խմբերում: Ոլոռի և լոբու պալարաբակտերիաների որոշակի սերոխմբերը հիմնականում տարածված են հանրապետության որոշակի աշխարհագրական գոտիներում:

Բացահայտված է ոլոռի, լոբու և կորնգանի պալարաբակտերիաների սերոլոգիական առանձնահատկությունների տեսակային և շտամային տարբերությունները:

ЛИТЕРАТУРА

Калниньш А. Д. 1961. Тр. Ин-та микробиологии АН Латв. ССР, 5, Рига.

Калниньш А. Д. 1964. В сб.: Микроорганизмы и растения. 2. Рига, изд. АН Латв. ССР.

Калниньш А. Д. 1967. Микроорганизмы и растения. 3. Рига, изд. "Зинатне".

Калниньш А. Д., Леймане И. Я. 1970. Микроорганизмы и растения. 4. Рига, изд. "Зинатне".

Калниньш А. Д. 1971. В сб.: Новое в изучении биологической фиксации азота. М., "Наука".

Рыжкова А. С., Израильский В. П., Арансон Т. Н., Кучерова Т. Е., Кошелева Е. К. 1969. Изв. АН СССР, сер. биол., 6.

Рыжкова А. С., Израильский В. П., Арансон Т. Н., Кучерова Т. Е., Кошелева Е. К. 1971. В сб.: Новое в изучении биологической фиксации азота. М., "Наука".

Штерн Е. А. 1953. Микробиология, 22, 4 и 6.

Aso K., Okhawara S. Rome. 1926. Actes de la IV Conference Internationale de Pedologie, 3.

Izraillsky W. 1929. Zbl. Bakteriол., Abt. 2, 79, 354.

Kalnins A. 1959. Latv. PSR ZA Vestis, 11 (148).

Stevens J. V. 1923. J. Infect. Diseases, 33, 557.

Thornton H. G., Kleczkowski A. 1950. Nature (London), 166, 1118.

Vincent J. M. 1941. Proc. Linn. Soc. N.S. Wales, 66, 145.

Vincent J. M. 1942. Proc. Linn. Soc. N.S. Wales, 67, 82.

Vogel J., Zipfel H. 1921. Zbl. Bakteriол., Abt., 2, 54, 13.

Wright V. H., Sarles V. B., Holst E. G. 1930. J. Bact., 19.