

МИКРОБИОЛОГИЯ

М. Х. Чайлахян, А. А. Меграбян и Н. А. Карапетян

**Избирательная бактерицидность корней как фактор
взаимоотношения бобовых растений
и клубеньковых бактерий**

Взаимоотношение клубеньковых бактерий и бобовых растений определяется, с одной стороны, вирулентностью и активностью бактерий, с другой стороны, направленностью обмена веществ и физиологическим состоянием, свойственным различным видам бобовых растений. Условия внешней среды резким образом влияют как на эти свойства бактерий, так и на физиологическое состояние бобовых растений. Исследования различных авторов установили большое влияние влажности почвы, температуры, аэрации, света, реакции почвенного раствора и различных минеральных соединений на образование клубеньков у бобовых растений [12]. В частности, в опытах, проведенных нами в предыдущие годы, было показано, что в условиях длинного светового дня, благоприятствующего богатому содержанию углеводов в зеленых растениях, образование клубеньков на корнях бобовых идет интенсивнее, чем в условиях короткого дня [16]; с другой стороны, было выяснено, что условием, препятствующим проникновению бактерий в клетки и образованию клубеньков, является наличие большого количества растворимых азотистых соединений не в субстрате, окружающем корни, а непосредственно в тканях корней бобовых растений [17, 18]. Таким образом, было выдвинуто представление о выдающейся роли азота в механизме, регулирующем в процессе онтогенеза взаимоотношение бобовых растений и клубеньковых бактерий. Недавно это представление получило новое подтверждение и развитие в статьях Федорова и Козлова [13, 14].

Закономерности, установленные в области влияния условий внешней среды на образование клубеньков на корнях бобовых растений, касаются тех взаимоотношений, которые возникают между бобовыми растениями, способными к симбиозу с взятыми формами клубеньковых бактерий, и бактериями, вирулентными в отношении взятых видов бобовых растений. Значительный интерес представляет вопрос о специфичности клубеньковых бактерий, когда бактерии одного вида, например люпина, заражают и образуют клубеньки только на люпине и не заражают растений фасоли, сои и гороха, и наоборот. За последнее время появились данные, указывающие на то, что при воздействии продуктами жизнедеятельности одних видов клубеньковых бактерий на другие можно преодолеть специфичность последних и привить им свойства первых. В исследовании Кра-

сильникова [4] было показано, что клубеньковые бактерии клевера, вики, гороха, акации и конских бобов после 2—4 месяцев пребывания в фильтрате бактерий клевера и люцерны оказывались способными к образованию клубеньков на корнях люцерны и клевера. Исследования, в которых было бы показано, что при резких изменениях в физиологическом состоянии бобовых растений под влиянием внешних воздействий, они становятся способными к заражению неспецифическими бактериями, пока еще неизвестны, если не считать предварительных данных Федорова [15] о том, что подобное заражение можно получить, призывая на одни бобовые растения другие, соответствующие испытываемым клубеньковым бактериям.

Исследования, направленные к преодолению специфичности клубеньковых бактерий, при всем их интересе, не вскрывают самих причин этой специфичности. Подходы к выяснению причин специфичности клубеньковых бактерий обычно рассматривались в одном плане с изучением факторов, обуславливающих взаимоотношение бобовых растений и клубеньковых бактерий в целом. Как известно, более ранние представления в этой области связаны с теорией паразитизма Зюхтинга [21], согласно которой идет борьба между клубеньковыми бактериями, выделяющими токсины, и бобовыми растениями, образующими антитоксины, и с теорией физиологического приспособления Вуншика [22], основывающейся на признании равновесия между силой роста бактерий и растений.

Развитие учения об иммунитете животных и человека и некоторые успехи, связанные с применением серологического метода для характеристики клубеньковых бактерий, явились поводом к поискам иммунобиологических реакций у самих бобовых растений по отношению к клубеньковым бактериям. Так, с помощью реакций агглютинации клубеньковых бактерий антителами сыворотки животных, иммунизированных этими же бактериями, удалось разбить их на основные группы, сходные с разделением бактерий по биохимическим признакам [2]. Вместе с тем выяснилось, что антигенная структура клубеньковых бактерий является довольно постоянным признаком, который не коррелирует с их основными физиологическими свойствами, т. е. с вирулентностью и активностью [19]. В исследованиях Каппеллетти [20] и Израильского [2] даже были сделаны подходы к обнаружению антител или агглютининов непосредственно в бобовых растениях, зараженных клубеньковыми бактериями, однако доказательств возникновения антител у бобовых растений получено не было, и вопрос остался нерешенным [3].

К выяснению взаимоотношения клубеньковых бактерий и бобовых растений были проведены исследования бактерицидности сока бобовых растений по отношению к клубеньковым бактериям. Красильников и Кореняко [5] провели изучение бактерицидности сока клевера, люцерны, донника, чины, фасоли, вики и гороха и нашли, что в неразведенном соку клубеньковые бактерии погибают через несколько часов, а при разведении в 50 раз растут хорошо, но чувствительность клубеньковых бактерий не зависит от их способности образовывать клубеньки у данного ра-

стения. В дальнейшем под влиянием исследований и идей Токина [11] о наличии у многих растительных видов бактерицидных веществ, подавляющих рост микроорганизмов, и названных им фитонцидами, Березова и Ремпе [1] установили, что сок из корней люцерны проявляет бактерицидность по отношению к клубеньковым бактериям, из чего заключили, что в соку корней бобовых растений имеются бактерицидные вещества. По данным Ремпе [9], количество этих бактерицидных веществ у клевера и люцерны возрастает в период цветения и на второй и третий годы жизни. Изучение явления антагонизма между актиномицетами и клубеньковыми бактериями привело Михалеву [8] к выводу, что почвенные актиномицеты также выделяют бактерицидные или антибиотические вещества, вызывающие отмирание или задержку развития клубеньковых бактерий. С другой стороны, Рудаков и Биркель [10] считают, что бобовые растения привлекают клубеньковые бактерии своими выделениями — палатковой и галактуроновыми кислотами, образующимися под воздействием протопектиназных бактерий, которые внедряются в корни бобовых раньше клубеньковых бактерий.

Специфичность клубеньковых бактерий, т. е. способность их заражать одни бобовые растения и не заражать другие, определяется в результате непосредственного контакта и взаимодействия между тканями корней бобовых растений и клубеньковыми бактериями. Поэтому среди других подходов к выяснению причин специфичности клубеньковых растений нам представлялось интересным испытание действия растертых тканей бобовых растений на клубеньковые бактерии как специфические, так и неспецифические для отдельных видов растений. Такое испытание было проведено нами в секторе микробиологии Академии наук Армянской ССР в вегетационный сезон 1954 года. При испытании действия растертых тканей на клубеньковые бактерии был использован метод, с успехом применявшийся при определении наличия антибиотиков в различных органах растений (Красильников [6], Мирзабекий [7]).

В качестве опытных объектов были взяты 10 различных видов бобовых растений: 1) вика мохнатая (*Vicia villosa*), 2) эспарцет (*Onobrychis antasiatica*), 3) люцерна (*Medicago sativa*), 4) клевер красный (*Trifolium sativum*), 5) горох (*Pisum sativum*), 6) фасоль (*Phaseolus vulgaris*), 7) соя (*Soja hispida*), 8) конские бобы (*Vicia faba*), 9) шамбала (*Trigonella foenum graecum*) и 10) люпин узколистный (*Lupinus angustifolius*). Другими опытными объектами были 10 штаммов клубеньковых бактерий, соответствующих взятым видам бобовых растений. Штаммы клубеньковых бактерий были заранее проверены — эти штаммы были использованы как для заражения бобовых растений, чем была доказана их способность к образованию клубеньков на соответственных видах бобовых, так и для испытания действия растертых тканей бобовых растений.

Семена опытных растений предварительно протравливались сулемой и спиртом, и после промывки стерильной водой половина их заражалась 4—5-дневной культурой соответственного штамма клубеньковых бактерий. Затем зараженные и незараженные семена были высеваны в сосуды

в стерильный песок со смесью Прянишникова; сосуды поливались по весу из расчета 60% от полной влагоемкости. В дальнейшем в течение вегетационного сезона проводились фенологические наблюдения за ростом и развитием растений. Всего в опыте было 80 сосудов, так как 10 видов бобовых растений выращивались с заражением и без заражения в 4-кратной повторности.

Опыты по выяснению действия растертых тканей растений на клубеньковые бактерии проводились в течение вегетации растений в четыре срока: в фазы вегетативного роста, бутонизации, цветения и плодоношения растений. Для определений брались небольшие образцы-кусочки стеблей, листьев и корней зараженных и незараженных растений и клубеньки зараженных растений. Все образцы долго промывались под струей водопроводной воды, затем стерилизовались сулемой в течение двух минут и спиртом в течение одной минуты, после чего промывались стерильной водой, слегка растирались в стерильных ступках и переносились в чашки Петри на поверхность плотной питательной среды — бобового агара, в котором заранее засеивалась та или иная культура клубеньковых бактерий (тест-объект). Среда бобового отвара в пробирках заражалась

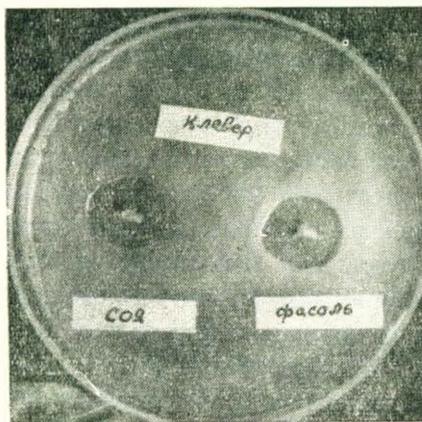


Рис. 1. Метод определения действия растертых тканей бобовых растений на клубеньковые бактерии. На бобовом агаре, предварительно засеянном клубеньковыми бактериями клевера, положены слегка растертые кусочки корней сои (слева) и фасоли (справа). Образовавшиеся зоны отсутствия роста бактерий указывают на бактерицидность тканей корней, которая выражается в длине радиуса зоны.

цидное действие, так как при сравнительном определении бактерицидности свежих и засушенных образцов корней получались примерно одинаковые результаты. Разница была в том, что свежие образцы корней давали несколько большую зону, чем образцы засушенные.

штаммами клубеньковых бактерий, одна петля однодневной культуры наносилась на бобовый агар в чашке Петри и растиралась по поверхности.

Если в тканях того или иного образца — комочка — содержались вещества, подавляющие рост бактерий, то вокруг него образовалась зона отсутствия роста; если таких веществ не было, то зона не образовалась. На рис. 1 представлен метод определения действия растертых тканей бобовых растений на клубеньковые бактерии.

Специальная методическая проверка показала, что дезинфекция испытуемых образцов растений является обязательной, так как недезинфицированные образцы давали неясную и зачастую ошибочную картину.

Сушка испытуемых образцов корней мало влияла на их бактери-

Определения проводились таким образом, что каждый опытный растительный вид испытывался на 10 субстратах, зараженных одним из 10 взятых штаммов клубеньковых бактерий. Через 1—2 суток после начала опыта появлялись зоны отсутствия роста, которые измерялись по длине радиуса миллиметровой линейкой. Тогда же отбирались и фотографировались отдельные чашки Петри. В большинстве случаев фотографировались образцы, взятые с зараженных растений; в тех случаях, когда в одну чашку Петри помещались все 10 образцов различных видов, они брались с незараженных растений.

Опыты показали, что при испытании образцов листьев и стеблей ни в одном случае зоны отсутствия роста клубеньковых бактерий не образовалось. Образование зон было установлено только при испытании образцов корней как зараженных, так и незараженных растений и клубеньков зараженных растений.

Это хорошо видно на рис. 2, где в чашке Петри на бобовый агар с клубеньковыми бактериями фасоли были положены сверху слегка растертые кусочки корней вики, эспарцета, люцерны и клевера, а внизу—таким же образом растертые кусочки листьев этих же растений. Вокруг кусочков корней образовалась сплошная зона отсутствия роста бактерий, вокруг кусочков листьев зона не образовалась. Таким образом, комочки корней проявили явное бактерицидное действие на клубеньковые бактерии.

Бактерицидное действие выявили кусочки корней как зараженных, так и незараженных растений во все фазы их развития. При этом во всех случаях без исключения ярко проявлялась избирательная бактерицидность растертых тканей корней—зоны отсутствия роста появлялись в тех случаях, когда образцы корней испытывались на клубеньковых бактериях другого вида, и зоны не появлялись, когда образцы корней помещались на агар с клубеньковыми бактериями данного вида. Это хорошо видно на рис. 3, 4, 5, 6 и в таблицах 1, 2.

На рис. 3 на субстрате, засеянном клубеньковыми бактериями фасоли, зона отсутствия роста возникла кругом комочка корня эспарцета и зоны нет кругом комочка корня фасоли. На рис. 4 на субстрате, засеянном клубеньковыми бактериями клевера, зона отсутствия роста появилась кругом комочка корня люцерны и зоны нет кругом комочка корня клевера. На рис. 5 на субстрате, засеянном клубеньковыми бактериями люцер-

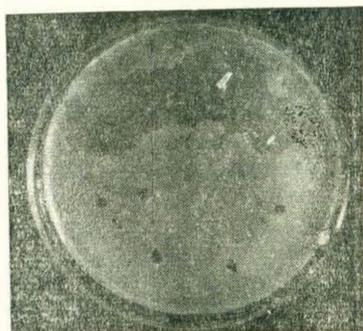


Рис. 2. Бактерицидность корней и отсутствие бактерицидности у листьев бобовых растений по отношению к клубеньковым бактериям. На агаре, засеянном клубеньковыми бактериями фасоли, находятся сверху комочки корней, внизу комочки листьев вики, эспарцета, люцерны и клевера, взятые в фазу бутонизации.

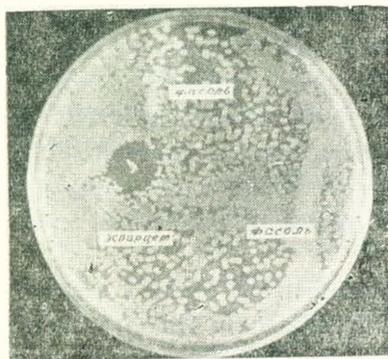


Рис. 3. Бактерицидность корней эспарцета по отношению к клубеньковым бактериям фасоли. На агаре, засеянном клубеньковыми бактериями фасоли, находятся комочки корней эспарцета (слева) и фасоли (справа), взятые в фазу бутонизации.

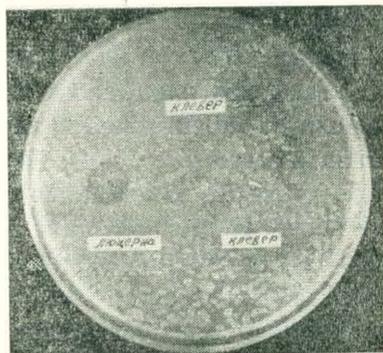


Рис. 4. Бактерицидность корней люцерны по отношению к клубеньковым бактериям клевера. На агаре, засеянном клубеньковыми бактериями клевера, находятся комочки корней люцерны (слева) и клевера (справа), взятые в фазу бутонизации.

ны, кругом комочка корня сои образовалась отчетливая зона отсутствия роста, тогда как вокруг комочка корня люцерны зоны не образовались.

Более наглядное представление об избирательной бактерицидности растертых тканей корней дает рис. 6, где на агар, засеянный клубеньковыми бактериями гороха, были положены

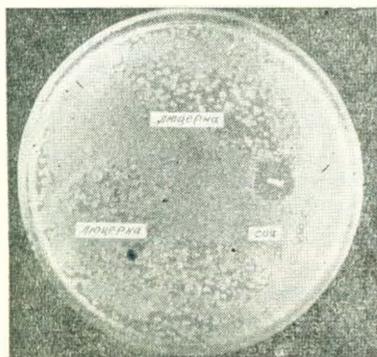


Рис. 5. Бактерицидность корней сои по отношению к клубеньковым бактериям люцерны. На агаре, засеянном клубеньковыми бактериями люцерны, находятся комочки корней люцерны (слева) и сои (справа), взятых в фазу бутонизации.

десять комочков корней всех испытуемых видов бобовых растений. Зоны отсутствия роста образовались вокруг комочков корней девяти бобовых растений (вики, эспарцета, люцерны, клевера, фасоли, сои, конских бобов, шамбалы и люпина) и слились в одну большую зону, тогда как вокруг комочка корня гороха (вверху) — зоны отсутствия роста бактерий нет.

В каждом опыте бралось на испытание 100 образцов кусочков корней (10 видов растений на 10 штаммов бактерий), а всего с корнями и клубеньками было проведено 12 опытов (3 варианта — корни зараженных и незараженных и клубеньки зараженных растений в 4 фазы развития). Таким образом, всего было сделано 1200 определений бактерицидности

тканей корней и клубеньков по отношению к клубеньковым бактериям. Ниже приводятся таблицы 1 и 2 с данными опытов по определению бактерицидности тканей корней незараженных растений, взятых в фазу их во-

вегетативного роста и бутонизации. В таблицах знаком — обозначено отсутствие зоны, знаком + наличие зоны и цифрой длина радиуса зоны в миллиметрах, характеризующая ее величину.

Данные таблиц вполне совпадают с данными других десяти опытов и выявляют одну общую закономерность — зоны подавления роста бактерий отсутствуют только в тех случаях, когда комочки бобовых растений накладываются на агар с клубеньковыми бактериями, свойственными данному виду растения. Во всех остальных случаях возникают зоны отсутствия роста бактерий.

Сопоставление цифровых данных таблиц показывает, что у незараженных растений бактерицидность тканей корней по отношению к клубеньковым бактериям повышается при переходе растений от вегетативного роста к бутонизации. Так, если величина зон в фазу вегетативного роста колеблется в пределах от 1 до 4 мм (5 мм в двух случаях и 6 мм в двух случаях), то в фазу бутонизации она колеблется от 2 до 7 мм (8 мм в одном случае). В фазы цветения и плодоношения основная закономерность сохраняется в полной мере, а величина зон в фазу цветения остается той же, а в фазу плодоношения становится несколько меньшей, чем в фазу бутонизации и цветения.

Бактерицидность тканей корней зараженных растений значительно выше, чем у незараженных. У зараженных растений в фазу вегетативного роста величина зон колеблется от 3 до 8 мм (1 мм в одном случае и 10 мм в одном случае), а в фазу бутонизации от 5 до 15 мм (4 мм в двух случаях); в фазу цветения величина зон мало меняется, а в фазу плодоношения становится меньшей, чем в фазу бутонизации и цветения.

Эти данные позволяют сделать вывод о том, что в онтогенезе бобовых растений бактерицидность их корней по отношению к несвойственным им клубеньковым бактериям нарастает, достигая наибольшей величины в период бутонизации и цветения растений, а затем с переходом растений к плодоношению она несколько снижается. Заражение корней бобовых растений своими клубеньковыми бактериями приводит к тому, что бактерицидность тканей корней по отношению к несвойственным им клубеньковым бактериям возрастает.

Помимо корней бобовых растений испытывалась также бактерицидность клубеньков, образовавшихся на корнях зараженных растений. Данные в этом направлении приводятся на рисунках 7 и 8.

На рисунке 7 представлены результаты опыта, в котором на агар

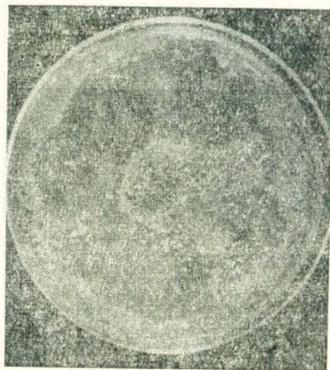


Рис. 6. Избирательная бактерицидность корней бобовых растений по отношению к клубеньковым бактериям. На агаре, засеянном клубеньковыми бактериями гороха, находится комочки корней гороха (вверху без зоны), вики, эспаргета, люцерны, клевера, фасоли, соя, конских бобов, шамбалы и люпина, взятые в фазу бутонизации.

Таблица 1

Бактерицидность растертых тканей корней незараженных растений, взятых в фазу вегетативного роста

Тест-объект — клубеньковые бактерии	Комочки корней бобовых растений									
	вика	эспарцет	люцерна	клевер	горох	фасоль	соя	конские бобы	шамбала	люпин
Штамм вика	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Штамм эспарцета	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Штамм люцерны	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
Штамм клевера	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
Штамм гороха	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Штамм фасоли	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+
Штамм сои	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+
Штамм конских бобов	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
Штамм шамбалы	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
Штамм люпина	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

с клубеньковыми бактериями люцерны положены комочки корней клевера и фасоли, на рисунке 8 — комочки клубеньков этих же растений. Значительно большие зоны во втором случае показывают, что у клубеньков бактерицидное действие выражено сильнее, чем у корней зараженных растений.

В фазу вегетативного роста величина зон бактерицидного действия клубеньков колеблется от 5 до 12 мм (4 мм в двух случаях и 14, 15, 16 мм по одному случаю), а корней — от 3 до 8 мм. В фазу бутонизации величина зон бактерицидного действия клубеньков колеблется от 6 до 15 мм (5 мм в двух случаях, 16 мм — в трех случаях), а корней — от 5 до 15 мм. В фазы цветения и плодоношения бактерицидность клубеньков остается примерно на том же уровне, что и в фазу бутонизации.

Таким образом, бактерицидность клубеньков на различных фазах развития растений меняется меньше, чем бактерицидность корней и значительно превышает последнюю лишь в фазу вегетативного роста растений до их перехода к образованию бутонов и цветов.

Кроме вегетационных опытов для выявления избирательной бактерицидности растертых тканей корней бобовых по отношению к клубеньковым бактериям был поставлен лабораторный опыт, в котором растения

Таблица 2

Бактерицидность растертых тканей корней незараженных растений,
взятых в фазу бутанизации

Тест объект — клубеньковые бактерии	Комочки корней бобовых растений									
	вика	эспарцет	люцерна	клевер	горох	фасоль	соя	конские бобы	шамбала	люпин
Штамм вика	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Штамм эспарцета	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Штамм люцерны	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
Штамм клевера	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
Штамм гороха	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Штамм фасоли	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+
Штамм сои	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+
Штамм конских бобов	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
Штамм шамбалы	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
Штамм люпина	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

выращивались в стерильных условиях в крупных культ-колбах ёмкостью в 1 литр на среде Ковровцевой.

При изготовлении среды на 1 литр воды брались 1 г $MgSO_4$, 1 г K_2HPO_4 , 0,2 г $Ca_3(PO_4)_2$, следы $FeSO_4$ и 7,5 г агар-агара; после растапливания агара среда нейтрализовалась 5% содой, фильтровалась через ватный фильтр и разливалась в крупные культ-колбы по 130 куб. см в каждой; среда стерилизовалась в автоклаве при одной атмосфере в течение 15 минут.

Семена 10 испытуемых видов бобовых растений протравливались сулемой (в разведении 1 : 1000) в течение одного часа, затем спиртом в течение 2 минут, после чего один час промывались стерильной водой. Заражение семян соответствующими штаммами бактерий производилось уже в культ-колбах, где выращивались растения. Часть растений выращивалась в культ-колбах без заражения. С помощью стерильной ложки семена переносились в культ-колбы, покрываемые ватной пробкой, и легким движением сосуда распределялись по поверхности агаризированной среды. Через 15 дней, когда наступило образование клубеньков, производилось определение бактерицидности растертых тканей растений по отношению к клубеньковым бактериям.

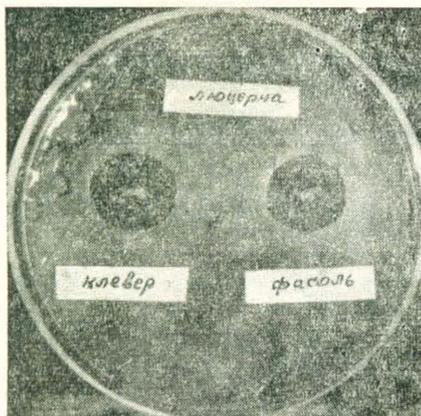


Рис. 7. Бактерицидность корней клевера и фасоли по отношению к клубеньковым бактериям люцерны. На агаре, засеянном клубеньковыми бактериями люцерны, находятся комочки корней клевера (слева) и фасоли (справа), взятые в фазу вегетативного роста.

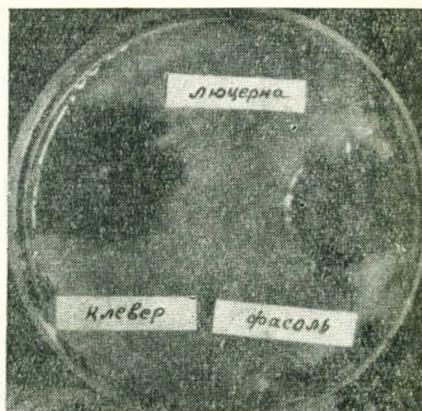


Рис. 8. Бактерицидность клубеньков клевера и фасоли по отношению к клубеньковым бактериям люцерны. На агаре, засеянном клубеньковыми бактериями люцерны, находятся комочки клубеньков клевера (слева) и фасоли (справа), взятые в фазу вегетативного роста.

Как и в вегетационных опытах листья и стебли растений, выращенные на среде Ковровцевой, бактерицидного действия ни в одном случае

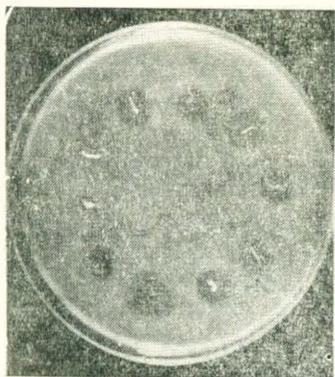


Рис. 9. Избирательная бактерицидность корней бобовых растений, выращенных на среде Ковровцевой, по отношению к клубеньковым бактериям. На агаре, засеянном клубеньковыми бактериями клевера, находятся комочки корней клевера (внизу слева без зоны) и девяти других бобовых растений (все комочки с зоной, причем вокруг комочка корня конских бобов зона более слабо выражена, чем у других), взятые в фазу вегетативного роста.

не проявили, тогда как корни незараженных и корни и клубеньки зараженных растений выявили отчетливую избирательную бактерицидность по отношению к клубеньковым бактериям (рис. 9).

На рис. 9 на субстрате — бобовом агаре — засеянном клубеньковыми бактериями клевера, были положены слегка растертые кусочки корней всех десяти испытываемых видов бобовых растений. Зона отсутствия роста не образовалась только вокруг комочков корня клевера (внизу слева), вокруг комочков корней всех остальных девяти видов — вики, эспарцета, люцерны, фасоли, сои, шамбалы, люпина и конских бобов — образовались зоны, причем у конских бобов (внизу справа) она была выражена менее отчетливо, чем у других видов.

Помимо описанных опытов, в которых применялся метод определения бактерицидности корней на плотном агаровом субстрате в чашках Петри, был

поставлен опыт, в котором определение бактерицидн. нос. и корней было проведено в жидкой среде в пробирках.

Кусочки корней всех испытуемых видов бобовых растений весом в 5 г долго промывались под сильной струей водопроводной воды, стерилизовались сулемой две минуты и спиртом одну минуту, промывались стерильной водой в течение одного часа, слегка растирались в стерильной ступке и переносились в пробирки с 2 куб. см стерильной воды. Таким образом были заготовлены 10 серий пробирок; каждая серия содержала по 10 пробирок с комочками корней одного вида. Десять пробирок каждой серии заражались десятью различными штаммами клубеньковых бактерий.

Наблюдения, сделанные через три дня после заражения, показали, что рост клубеньковых бактерий происходил только в тех пробирках, в которых находились комочки корня растений и соответствующие им клубеньковые бактерии; в других пробирках роста клубеньковых бактерий не было.

По 1—2 петли из суспензий, находившихся в пробирках, были перенесены в среду бобового экстракта в другие пробирки, и здесь были получены такие же результаты. Рост клубеньковых бактерий наблюдался только в тех пробирках, куда они были перенесены из первых пробирок, содержащих комочки корней соответствующих им бобовых растений; в других пробирках роста клубеньковых бактерий не было. Это хорошо видно на рис. 10.

На рис. 10 в пробирках с бобовым экстрактом видно помутнение, т. е. сильный рост клубеньковых бактерий, только в первой и третьей пробирках слева, во второй и четвертой пробирках экстракт прозрачный, так как роста бактерий нет. В первую и третью пробирки был сделан пересев из водной среды, в которой находились клубеньковые бактерии гороха и комочек корня гороха [1], клубеньковые бактерии вики и комочек корня вики [3]. Во вторую и четвертую пробирки был сделан пересев из водной среды, в которой находились клубеньковые бактерии гороха и

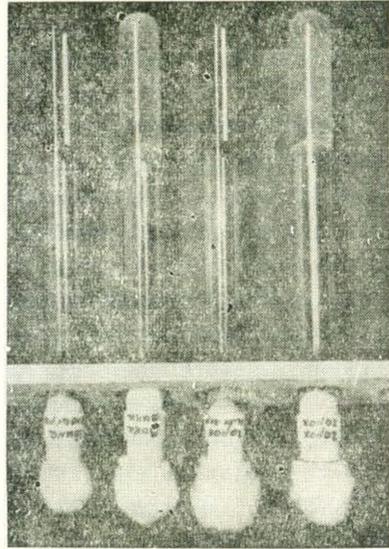


Рис. 10. Бактерицидное действие корней бобовых растений на рост клубеньковых бактерий в жидкой среде. В пробирках с бобовым экстрактом слева направо клубеньковые бактерии гороха, перенесенные из суспензий, где находились (1) комочек корня гороха и (2) комочек корня клевера; клубеньковые бактерии вики, перенесенные из суспензий, где находились (3) комочек корня вики и (4) комочек корня люцерны. Образцы взяты в фазу цветения растений.

комочек корня клевера [2], клубеньковые бактерии вики и комочек корня люцерны [4].

Все сочетания клубеньковых бактерий и комочков корней бобовых растений в водной среде были проведены таким способом, и результаты оказались совпадающими. Исключение составили сочетания различных клубеньковых бактерий с комочками корня конских бобов, так как во всех пробирках с бобовым экстрактом наблюдалось помутнение. Однако это объясняется, повидимому, тем обстоятельством, что корни конских бобов в связи с их мощным ростом не были хорошо дезинфицированы.

Проведенный опыт показал, что бактерицидное действие корней бобовых растений на неспецифические для них клубеньковые бактерии весьма велико и в небольшом объеме воды (2 куб. см) в течение 3 суток при наличии комочка корня в 5 г происходит полное подавление роста клубеньковых бактерий.

Вместе с тем из этого опыта вытекает, что корни бобовых растений на рост свойственных им клубеньковых бактерий оказывают стимулирующее действие.

В методическом отношении этот опыт показывает, что кроме метода испытания бактерицидности растительных образцов на плотном питательном субстрате — бобовом агаре, предварительно засеянном клубеньковыми бактериями, можно проводить испытание бактерицидности растительных образцов в водной среде в пробирках с последующим пересевом бактерий в среду бобового экстракта.

Представленные здесь в целом экспериментальные данные позволяют сделать следующие основные выводы:

1. Корни бобовых растений, выращенных как в вегетационных сосудах, так и на среде Ковровцевой, выявляют резко очерченную избирательную бактерицидность по отношению к клубеньковым бактериям — рост клубеньковых бактерий, не специфических для данного вида, подавляется; рост своих клубеньковых бактерий не подавляется. Листья и стебли бобовых растений бактерицидностью по отношению к клубеньковым бактериям не обладают. Таким образом, в корнях бобовых растений имеются бактерицидные или антибиотические вещества, подавляющие рост несвойственных им клубеньковых бактерий.

2. Количество веществ в корнях бобовых растений, бактерицидных по отношению к несвойственным им клубеньковым бактериям, в процессе онтогенеза меняется — оно повышается в период бутонизации и цветения растений, а затем в фазе плодоношения в большинстве случаев снижается.

3. Содержание веществ в корнях бобовых растений, бактерицидных по отношению к несвойственным им клубеньковым бактериям, при заражении их своими клубеньковыми бактериями повышается. Бактерицидность клубеньков в фазе вегетативного роста бобовых растений значительно превышает бактерицидность корней; в более поздние фазы развития растений это различие сглаживается.

4. Корни бобовых растений оказывают стимулирующее действие на

рост свойственных им клубеньковых бактерий, что указывает на наличие в корнях бобовых стимулирующих веществ.

На основании этих выводов можно представить такую картину взаимоотношения бобовых растений и клубеньковых бактерий.

Это взаимоотношение начинается с того времени, как клубеньковые бактерии приходят в соприкосновение и в последующий контакт с корнями бобовых растений. В отличие от азотфиксирующих и многих других бактерий, свободно живущих в почве, клубеньковые бактерии обладают способностью проникать в ткани корней бобовых растений, а после проникновения влияют на эти ткани своими выделениями и вызывают в результате гипертрофированного роста клеток образование клубеньков. В этом проявляется вирулентность клубеньковых бактерий по отношению к бобовым растениям.

Бобовые растения являются далеко не безучастными и пассивными к возможности подобного вторжения клубеньковых бактерий в ткани корней. Наличие обмена веществ определенной физиологической направленности в клетках и тканях корней бобовых растений обуславливает образование в них наряду со многими другими продуктами веществ антибиотических или бактерицидных, т. е. задерживающих рост несвойственных им клубеньковых бактерий. В этом проявляется избирательная бактерицидность тканей корней бобовых растений по отношению к клубеньковым бактериям.

Вирулентность клубеньковых бактерий и бактерицидность корней бобовых растений возникли в результате длительной эволюции и приспособления этих растительных видов к условиям существования. В процессе длительной эволюции, возникновения новых форм и взаимного приспособления этих отдаленных друг от друга видов на скрещивающихся путях филогенеза возникли симбиотические отношения между строго определенными видами бобовых растений и клубеньковых бактерий. Таким образом, симбиоз между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями нельзя рассматривать как результат только усиления вирулентности определенных клубеньковых бактерий или только ослабления бактерицидности корней бобовых растений по отношению к определенным клубеньковым бактериям, а как следствие взаимного приспособления, в основе которого, по видимому, лежит сближение характера и направленности биохимических и физиологических процессов.

Явление специфичности клубеньковых бактерий по отношению к бобовым растениям, обуславливаемое вирулентностью бактерий, в равной мере представляет собой явление специфичности бобовых растений по отношению к клубеньковым бактериям, обуславливаемое избирательной бактерицидностью растений. Следовательно, в настоящее время в самой общей форме можно предполагать, что основными внутренними факторами взаимоотношения клубеньковых бактерий и бобовых растений являются вирулентность бактерий и избирательная бактерицидность растений.

Авторы приносят глубокую благодарность заведующему сектором микробиологии Академии наук Армянской ССР профессору А. К. Паноянцу за предоставление возможности проведения настоящего исследования и за внимательное отношение к работе в целом.

Сектор микробиологии
Академии наук Армянской ССР

Поступило 28 XII 1954

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Е. Ф. Взаимоотношения растений с микрофлорой почвы. Журн. „Агробиология“, 5, стр. 73—79, 1950.
2. Израильский В. П., Рунов Е. В. и Бернад В. В. Клубеньковые бактерии и питрагин. Госиздат, стр. 105—130, 1933.
3. Карбоне Д. и Арнаути К. Иммуитет у растений. Сельхозгиз, стр. 84—156, 1937.
4. Красильников Н. А. Прививка новых свойств вирулентности клубеньковым и некоторым неклубеньковым бактериям. Микробиология, т. XIV, вып. 4, стр. 230—236, 1945.
5. Красильников Н. А. и Кореняко А. И. Бактерицидность растительного сока. Рефераты научно-исследовательских работ за 1945 год. Отделение биологических наук. Изд. Академии наук СССР, стр. 146—147, 1947.
6. Красильников Н. А. Антибиотики в растениеводстве Природа, 7, стр. 17—27, 1952.
7. Мирзабекян Р. О. Микробы-антагонисты и их антибиотические вещества в борьбе с фитопатогенными микробами. Известия Академии наук СССР, серия биологическая, 2, стр. 67—83, 1953.
8. Михалева В. В. Об антагонизме между актиномицетами и клубеньковыми бактериями. Доклады Всесоюзной Академии сельскохоз. наук, вып. 11, стр. 23—28, 1951.
9. Ремпе Е. X. Основные факторы накопления и отбора микроорганизмов в зоне корневой системы высшего растения. Диссертация в библиотеке отд. биол. наук АН СССР, 1952.
10. Рудаков К. И. и Биркель М. Р. Образование клубеньков и протопектиназные бактерии. Труды Института микробиологии, вып. III, стр. 125—143, 1954.
11. Токин Б. П. Фитонциды. Изд. Академии медицинских наук СССР, 1951.
12. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Сельхозгиз, 1952.
13. Федоров М. В. и Козлов И. В. Значение физиологического состояния бобового растения для образования клубеньков и усвоения молекулярного азота клубеньковыми бактериями. Доклады Ак. наук СССР, т. 96, 3, стр. 641—644, 1954.
14. Федоров М. В. и Козлов И. В. Влияние связанных соединений азота на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в клубеньках сои и фасоли и взаимоотношения между ними и бобовыми растениями. Микробиология, т. XXIII, вып. 5, стр. 534—543, 1954.
15. Федоров С. И. Прививки и природа клубеньковых бактерий. „Яровизация“, 1, стр. 88—89, 1940.
16. Чайлахян М. X. и Меграбян А. А. Влияние длины дня на образование клубеньков на корнях бобовых растений. Доклады Ак. наук СССР, т. 47, 6, стр. 457—460, 1945.
17. Чайлахян М. X. и Меграбян А. А. К вопросу о влиянии азотистого питания на развитие клубеньков на корнях бобовых растений. Известия Ак. наук АрмССР, 3, стр. 23—30, 1944.
18. Чайлахян М. X. и Меграбян А. А. Влияние растворимых азотистых соединений на образование клубеньков на корнях бобовых растений. Доклады Ак. наук СССР, т. 48, 2, стр. 145—148, 1945.
19. Allen E. K. and Allen O. N. Biochemical and symbiotic properties of the Rhizobia. Bacteriological Reviews, v. 14, p. 4, pp. 273—330, 1950.

20. *Cappelletti*. *Annali di Botanica*, 1924, v. XVI, fasc. 2, v. XVII, fasc. 5, 1928.
21. *Süchting H.* *Kritische Studien über die Knöllchenbakterien*. *Zentrbl. f. Bacteriologie, Parasitenkunde und Infectiouskrankheiten*. 1904, Abt. 11, Bd. 11, s. 377—388, 417—441, 496—520, 1904.
22. *Wunschik H.* *Erhöhung der Wirksamkeit der Knöllchenerreger unserer Schmoetterlingsblütler*. *Zentrbl. f. Bacteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*, Abt. 11, Bd. 64, s. 395—445, 1925.

Մ. Խ. Չալախյան, Ս. Ս. Մեհրաբյան, Կ. Ս. Կարապետյան

**ԱՐՄԱՏՆԵՐԻ ԸՆՏՐՈՂԱԿԱՆ ԲԱԿՏԵՐԻՑԻԴՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՐՊԵՍ
ԹԻԹԵՆԱԾԱՂԱԿՎՈՐ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԵՎ ՊԱԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ
ՓՈՒՀԱՐԱԲԵՐՈՒԹՅԱՆ ԳՈՐԾՈՆ**

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Պայարարակտերիաների սպեցիֆիկության պատճառները պարզարանելու համար ուսումնասիրվել է թիթենածաղկավոր բույսերի տրորված հյուսվածքների ազդեցություները բույսին յուրահատուկ և ոչ յուրահատուկ պայարարակտերիաների վրա:

Ուսումնասիրման օբյեկտ են հանդիսացել հետևյալ տասը թիթենածաղկավոր բույսերը՝ վիկ, կորնդան, առվույտ, էրեքնուկ, ոլոս, լորի, սոյա, բակլա, շամբալա և լյուպին: Սրանց մի մասը վարակվել է համապատասխան պայարարակտերիաներով, մյուս մասը չի վարակվել: Բույսերն աճել են վեգետացիոն և լաբորատոր փորձի պայմաններում:

Բույսերի տրորված հյուսվածքների ազդեցություները պայարարակտերիաների վրա պարզելու համար թիթենածաղկավոր, կոկոնակալման, ծաղկման և հասունացման փուլերում վերցված տերևների, ցողունների, արմատների և պալարիկների նմուշները թեթևակի տրորվել և պրվել են Պեդրիի լուսերում, այս կամ այն պայարարակտերիայով, նախապես վարակված լորու ազարի վրա: Փորձերից կարելի է հանգել հետևյալ եզրակացություններին:

1. Ինչպես վեգետացիոն, այնպես էլ լաբորատոր պայմաններում աճեցրած թիթենածաղկավոր բույսերի արմատները պայարարակտերիաների նկատմամբ ցուցաբերում են խիստ արտահայտված ընտրողական բակտերիցիդություն, բնդ որում տվյալ տեսակի համար ոչ յուրահատուկ պայարարակտերիաների աճն արգելակվում է, իսկ յուրահատուկ պայարարակտերիաներին՝ ոչ: Թիթենածաղկավոր բույսերի տերևներն և ցողուններն օժտված չեն պայարարակտերիաների նկատմամբ բակտերիցիդ հատկությամբ:

Այսպիսով, թիթենածաղկավոր բույսերի արմատներում կան բակտերիցիդ կամ անտիրիոտիկ նյութեր, որոնք արգելակում են իրենց համար ոչ յուրահատուկ պայարարակտերիաների աճը:

2. Թիթենածաղկավոր բույսերի արմատներում զտնվող բակտերիցիդ նյութերի քանակը բույսի օնտոգենեզի պրոցեսում փոխվում է՝ կոկոնակալման և ծաղկման փուլերում այն ավելանում է, իսկ այնուհետև պրոպագանդայի փուլում մեծ մասամբ սլակասում է:

3. Թիթենածաղկավոր բույսերի արմատներում նրանց նկատմամբ ոչ

յուրահատուկ պայարարակտերիաների հանգեպ ունեցած բակտերիցիոն յուսթիերի քանակը, պայարարակտերիաներով վարակելու գեպքում, ավելանում է:

Թիթիեոնածագկափոր բույսերի թփակալման փուլում պայարրիկների բակտերիցիոն հատկութթյունն ավելի ուժեղ է արտահայտվում, քան արմատներինը: Բույսի զարգացման ավելի ուշ փուլերում այդ տարրերութթյունը հարթվում է:

Թիթիեոնածագկափոր բույսերի արմատները իրենց յուրահատուկ պայարարակտերիաների նկատմամբ ունեն ստիմուլացնող ազդեցութթյուն, որը վկայում է թիթիեոնածագկափորների արմատներում ստիմուլացնող յուսթիերի առկայութթյունը:

Այդ եզրակացութթյունների հիման վրա պայարարակտերիաների և թիթիեոնածագկափոր բույսերի փոխհարարերութթյունը կարելի է պատկերել հետևյալ կերպ:

Պայարարակտերիաների վերուլենտութթյունը և թիթիեոնածագկափոր բույսերի արմատների բակտերիցիոն հատկութթյունը առաջացել են բուսական այդ տեսակների՝ գոյութթյան պայմաններին հարմարվելու երկարատե էփոյլուցիայի հետևանքով:

Թիթիեոնածագկափոր բույսերի և պայարարակտերիաների խիտ որոշակի տեսակների միջև սխրբիտիկ փոխհարարերութթյունները ծագել են նոր ձևերի առաջացման, այդ ձևերի փոխադարձ հարմարողականութթյան, երկարատե էփոյլուցիայի պրոցեսում:

Այսպիսով, թիթիեոնածագկափոր բույսերի և պայարարակտերիաների միջև գոյութթյուն ունեցող սխրբիտիկ պետք է գիտել ոչ միայն որպես որոշակի պայարարակտերիաների վերուլենտութթյան ուժեղացման կամ նրանց նկատմամբ թիթիեոնածագկափոր բույսերի արմատների բակտերիցիոն հատկութթյան թուլացման հետևանք, այլ որպես փոխադարձ հարմարողականութթյան արդյունք, որի հիմքում ընկած են, ըստ երևութին, բխրիմիական և ֆիզիոլոգիական պրոցեսների ուղղութթյան ու բնույթի մերձեցումը:

Հետևարար, ներկայումս կարելի է անել այն եզրակացութթյունը, որ պայարարակտերիաների ու թիթիեոնածագկափոր բույսերի փոխհարարերութթյան ներքին գործոններ հանդիսանում են բակտերիաների վերուլենտութթյունը և բույսերի բնարողական բակտերիցիոնութթյունը: