

МИКРОБИОЛОГИЯ

М. Х. Чайлахян, чл.-корр. АН Армянской ССР, и А. А. Меграбян

О стимулирующем действии бобовых растений на рост
свойственных им клубеньковых бактерий

(Представлено 6. VIII. 1957)

Изучение взаимоотношения бобовых растений и клубеньковых бактерий показало, что, кроме избирательного бактерицидного действия корней бобовых растений на клубеньковые бактерии, корни бобовых оказывают стимулирующее действие на рост свойственных для них клубеньковых бактерий (¹).

Стимулирующее действие бобовых растений на рост клубеньковых бактерий уже было выявлено в ряде работ. Торн и Броун (²) в 1937 году установили, что некоторые испытанные ими виды клубеньковых бактерий интенсивно растут, находясь на средах, приготовленных из соков соответствующих им бобовых растений. В опытах Николая и Торнтонна (³) также было отмечено стимулирующее действие на рост клубеньковых бактерий соков тех бобовых растений, которые были заражены активными штаммами. Наконец, Красильников и Кореняко (⁴) показали, что натуральный неразведенный сок клевера, донника и люцерны бактерициден для клубеньковых бактерий клевера, донника, люцерны, фасоли, вики и других, но при разведении 1:50 сок этих растений оказывается хорошим питательным субстратом и даже стимулирует их рост.

С целью дальнейшего изучения веществ, стимулирующих рост клубеньковых бактерий, в различных органах бобовых растений, в 1955 году, нами были проведены предварительные, а впоследствии, в течение сезона 1956 года, основные опыты со следующими бобовыми растениями: 1) вика (*Vicia sativa*), 2) эспарцет (*Onobrychis antasiatica*), 3) чечевица (*Lens esculenta*), 4) клевер (*Trifolium sativum*), 5) люцерна (*Medicago sativa*), 6) горох (*Pisum sativum*), 7) соя (*Soja hispida*), 8) фасоль (*Phaseolus vulgaris*), 9) конские бобы (*Vicia Faba*) и 10) люпин (*Lupinus angustifolius*). В течение вегетации велись фенологические наблюдения за ростом и развитием растений и в четыре срока брались образцы корней, стеблей и листьев: 1) в фазу вегетативного роста, 2) бутонизации, 3) цветения и 4) плодоношения.

Образцы брались весом 0,05, 0,10, 0,25, 0,50, 1 и 2 г, слегка растирались в ступках и переносились в колбы Эрленмейера емкостью 25 см³, затем к ним добавлялась среда бобового агара в количестве 20 см³, и все колбы ставились на 5 минут в автоклав при 1/2 атмосферного давления. После этого среды фильтровались через марлю, доводились бобовым агаром до первоначального объема и стерилизовались в течение 5 минут в автоклаве при 2 атмосферах, а затем разливались в чашки Петри и заражались соответственными клубеньковыми бактериями.

Суспензия клубеньковых бактерий готовилась следующим образом: из культуры клубеньковых бактерий брали одну петлю, переносили ее в 10 см³ стерильной воды и доводили разбавление до одной миллионной. Из этой разбавленной суспензии брали стерильной пипеткой по 1 см³, разливали в стерильные чашки Петри и заливали средами, содержащими экстракты из различных органов бобовых растений. Через 3—4 дня производился подсчет образовавшихся колоний, причем контрольной чашкой служила среда бобового агара в количестве 20 см³ без примеси экстрактов из органов бобовых растений.

Данные по подсчетам роста клубеньковых бактерий на различных средах и по выявлению стимулирующих веществ в корнях, стеблях и листьях бобовых растений в разные фазы их развития приводятся в табл. 1, 2, 3 и 4.

Таблица 1

Влияние экстрактов бобовых растений, находящихся в фазе вегетативного роста, на рост свойственных им бактерий

Вес образца в г на 20 см ³ бобового агара		Клубеньковые бактерии (число бактерий в процентах к контролю)									
		вики	эспарцета	чечевицы	люцерны	клевера	гороха	фасоли	соя	люпина	конских бобов
Корни	0,05	125	103	202	181	138	111	130	140	108	145
	0,10	116	86	107	136	125	104	110	132	102	138
	0,25	109	85	105	128	124	99	89	118	92	128
	0,50	82	69	96	117	111	91	82	93	84	66
	1,00	66	64	72	85	96	88	62	78	76	64
	2,00	0	0	0	0	0	0	38	0	—	0
Стебли	0,05	123	104	156	189	153	132	123	120	107	156
	0,10	111	89	147	106	129	111	121	117	105	130
	0,25	95	53	140	67	123	107	94	103	96	84
	0,50	89	48	88	59	100	103	94	100	78	70
	1,00	73	41	70	42	45	99	80	88	71	57
	2,00	0	0	0	0	0	0	62	0	—	0
Листья	0,05	225	112	217	132	146	123	126	111	116	129
	0,10	186	107	203	122	135	115	103	106	111	85
	0,25	152	89	138	115	132	90	93	98	108	75
	0,50	139	56	121	49	0	85	92	85	106	68
	1,00	107	44	95	43	0	82	82	0	68	47
	2,00	0	0	0	0	0	0	52	0	0	0
Контроль		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Влияние экстрактов бобовых растений, находящихся в фазе плодоношения, на рост собственных им бактерий

Вес образца п г на 20 см ³ бобового агара		Клубеньковые бактерии (число бактерий в процентах к контролю)								
		вики	эспар- цета	чечеви- цы	люцер- ны	клевера	гороха	фасоли	сон	конских бобов
Корни	0,05	103	110	98	156	86	108	113	100	51
	0,10	102	109	67	152	83	78	90	96	27
	0,25	76	105	64	122	67	64	79	94	26
	0,50	72	102	41	116	59	59	75	79	19
	1,00	61	96	29	72	35	53	72	71	13
	2,00	38	82	26	16	0	0	59	28	11
Стебли	0,05	111	118	68	142	83	106	77	104	48
	0,10	104	102	62	131	66	85	75	86	47
	0,25	92	99	49	110	55	78	61	76	15
	0,50	83	71	43	78	46	47	59	43	14
	1,00	54	69	27	35	25	33	56	31	12
	2,00	34	50	22	0	0	17	48	0	9
Листья	0,05	114	105	112	156	80	106	101	82	44
	0,10	92	101	111	146	61	83	61	71	43
	0,25	79	88	103	120	47	67	52	21	28
	0,50	44	87	74	45	16	64	51	20	25
	1,00	29	65	49	44	0	59	44	0	11
	2,00	43	12	0	0	0	59	37	0	10
Контроль		100	100	100	100	100	100	100	100	100

Рассмотрение этих таблиц показывает, что в корнях, стеблях и листьях всех испытанных бобовых растений имеются вещества, стимулирующие рост собственных для них клубеньковых бактерий.

Однако это стимулирующее действие проявлялось не во всех случаях, а лишь при определенных концентрациях экстрактов бобовых растений. Выявилась общая закономерность, заключающаяся в том, что наиболее сильно стимулирующее действие проявляется при их наименьшей концентрации, когда на 20 см³ бобового агара берутся навески растительного материала в 0,05 г. Стимулирующее действие экстрактов проявляется и при более высоких концентрациях, когда берутся навески в 0,10 и 0,25 г. Однако оно всегда ниже, чем в первом случае, и далеко не устойчивое. При более высоких концентрациях экстрактов рост клубеньковых бактерий задерживается, а зачастую, особенно при навеске в 2 г, и полностью прекращается.

Таким образом, стимулирующее действие сока бобовых растений выявляется лишь при его небольших количествах, так как дальнейшее повышение приводит к торможению и даже к полному прекращению роста бактерий.

Эта закономерность хорошо проявляется на рис. 1, 2, 3 и 4, где представлены фотоснимки колоний клубеньковых бактерий на бобовом агаре в чашках Петри.

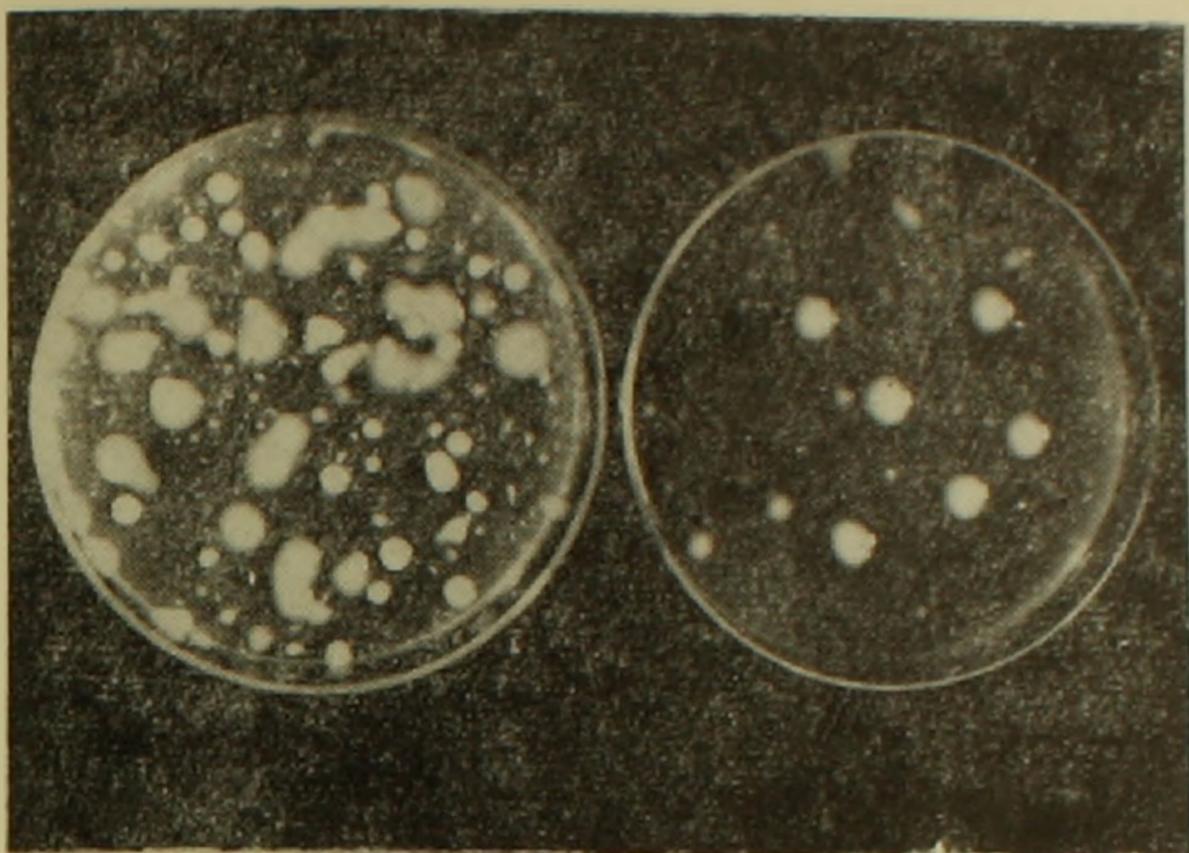


Рис. 1. Влияние экстракта из корней клевера в фазе вегетативного роста на рост клубеньковых бактерий клевера. Слева рост бактерий клевера на бобовом агаре, справа — на бобовом агаре с добавлением экстракта корней клевера (0,05 г на 20 см³ бобового агара).

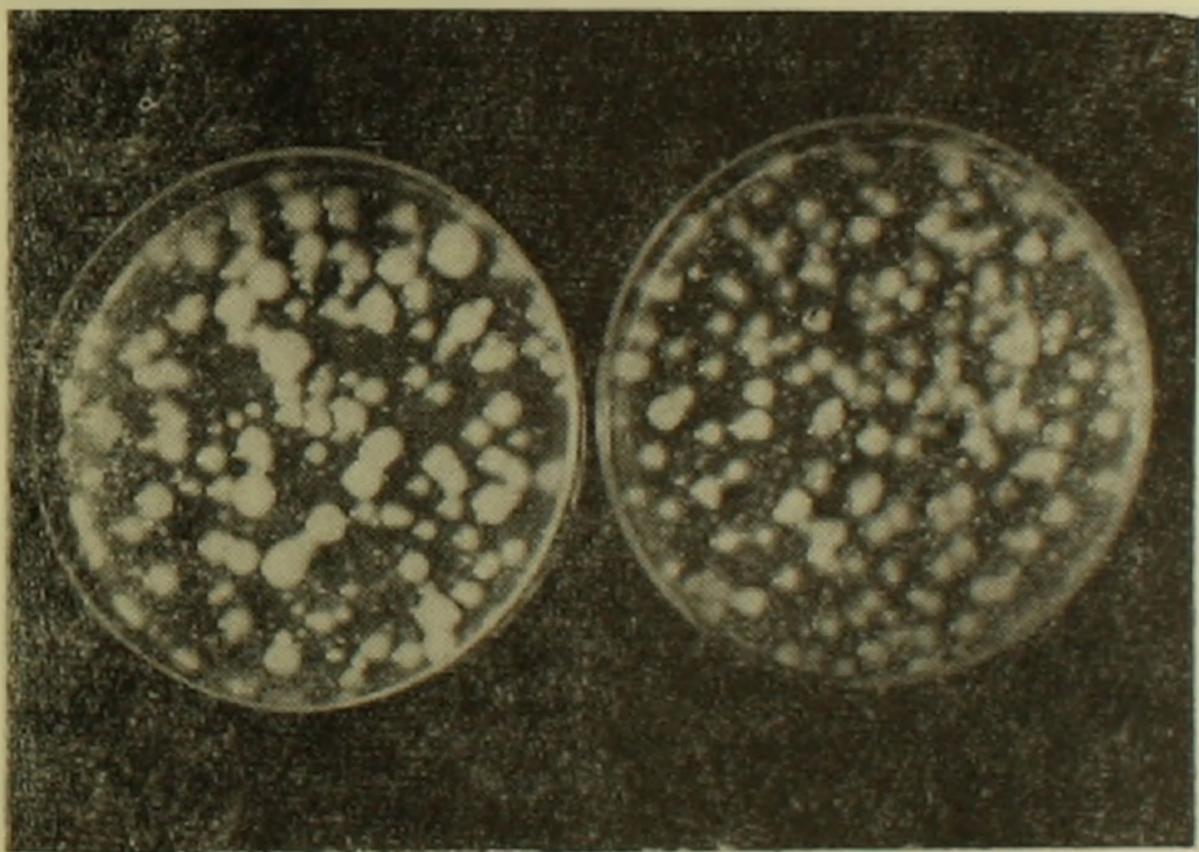


Рис. 2. Влияние экстракта из корней гороха в фазе цветения на рост клубеньковых бактерий гороха. Слева рост бактерий гороха на бобовом агаре, справа — на бобовом агаре с добавлением экстракта корней гороха (0,05 г на 20 см³ бобового агара).

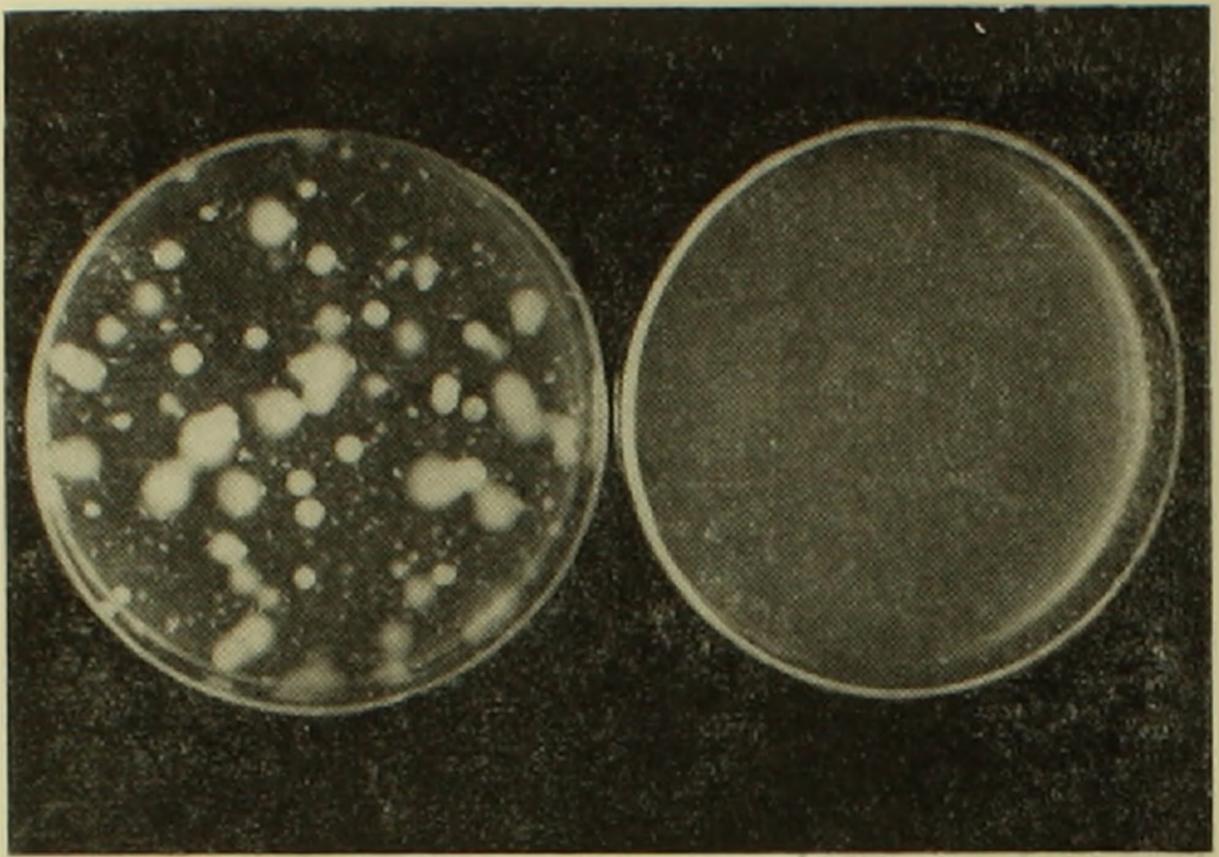


Рис. 3. Влияние экстракта из листьев клевера в фазе вегетативного роста на рост клубеньковых бактерий клевера. Рост бактерий клевера на бобовом агаре, с добавлением экстракта листьев клевера, слева—0,05 г, справа — 2 г на 20 см³ бобового агара.

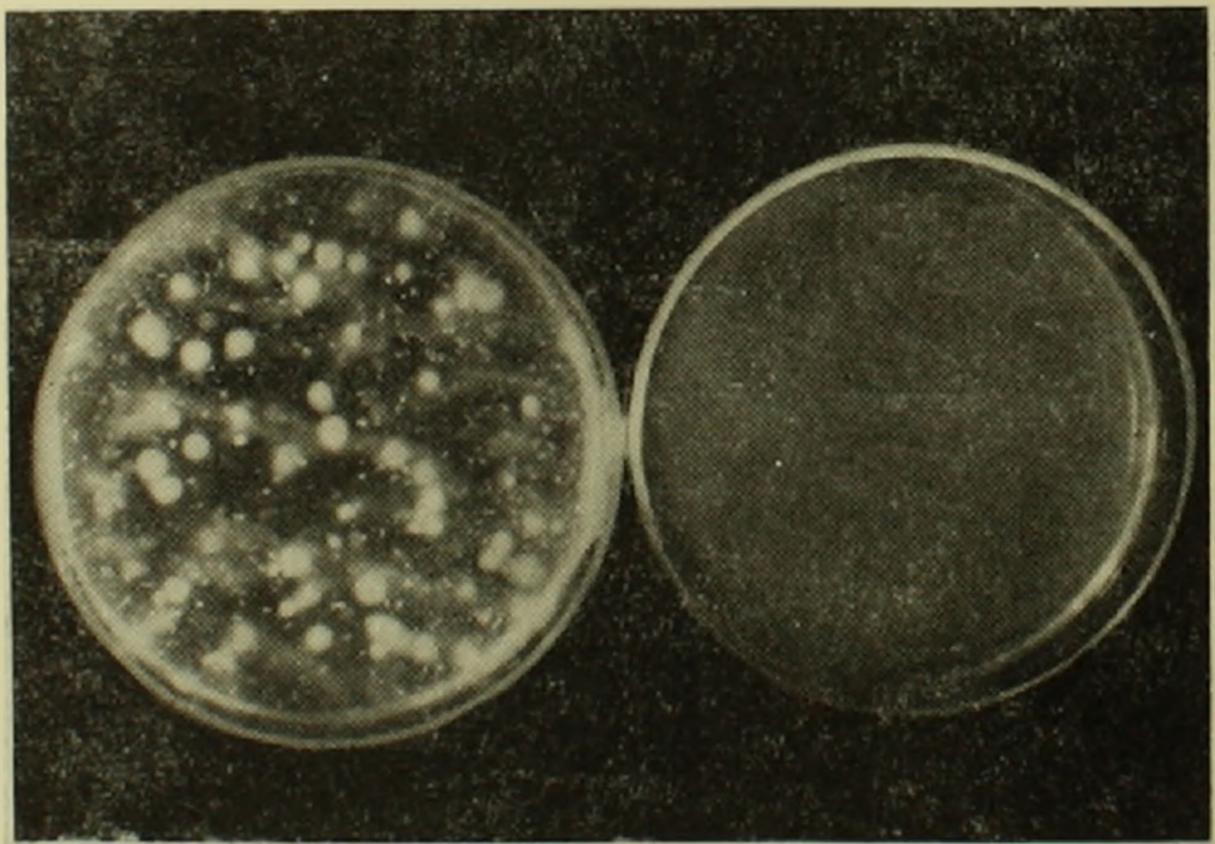


Рис. 4. Влияние экстракта из стеблей фасоли в фазе вегетативного роста на рост клубеньковых бактерий фасоли. Рост бактерий фасоли на бобовом агаре, с добавлением экстракта стеблей фасоли слева — 0,05 г, справа — 2 г на 20 см³ бобового агара.

На рис. 1 показан рост клубеньковых бактерий клевера; в чашке слева—без добавления экстракта, в чашке справа — при добавлении к 20 см^3 бобового агара навески корней клевера 0,05 г в фазе вегетативного роста растений. На рис. 2 в чашке слева — клубеньковые бактерии гороха на бобовом агаре, в чашке справа — при добавлении к бобовому агару 0,05 г навески корней гороха в фазе цветения растений.

Полное прекращение роста чаще всего наблюдается в случае добавления к 20 см^3 бобового агара навески в 2 г. Так, на рис. 3 в чашке слева, где взята навеска листьев клевера в фазе кущения в 0,05 г, видно много колоний бактерий клевера; в чашке справа, где взята навеска в 2 г листьев, рост клубеньковых бактерий полностью отсутствует. Такая же картина видна на рис. 4, где в чашке слева видны колонии клубеньковых бактерий фасоли на бобовом агаре с добавлением навески стеблей в 0,05 г; в чашке справа с 2 г навески стеблей фасоли роста клубеньковых бактерий вовсе нет.

Из данных, приведенных в табл. 1—4, была сделана выборка цифр, показывающих наибольший стимулирующий эффект минимальных доз растительного материала. Эти цифры помещены в табл. 5.

Таблица 5

Влияние экстрактов бобовых растений на рост собственных им клубеньковых бактерий при оптимальных концентрациях

Органы растений	Клубеньковые бактерии (число в процентах к контролю)									
	вика	эспар-цета	чечеви-цы	люцер-ны	клевера	гороха	фасоли	соя	люпина	конских бобов
Вегетативный рост										
Корни	125	103	202	181	138	111	130	140	108	145
Стебли	123	104	156	189	153	132	123	120	107	156
Листья	225	112	217	132	146	123	126	111	116	129
Контроль	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Бутионизация										
Корни	264	166	231	173	236	182	180	155	163	120
Стебли	199	145	250	154	202	173	192	159	183	122
Листья	216	151	207	169	226	177	194	141	159	125
Контроль	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Цветение										
Корни	548	120	152	154	204	146	214	143	144	234
Стебли	519	117	187	156	199	138	239	130	142	288
Листья	541	116	203	133	194	146	204	133	149	227
Контроль	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Плодоношение										
Корни	103	110	98	156	86	108	103	100	—	51
Стебли	111	118	68	142	83	106	77	104	—	48
Листья	114	105	112	156	80	106	101	82	—	44
Контроль	100	100	100	100	100	100	100	100	—	100

Из данных табл. 5 видно, что в фазу вегетативного роста стимулирующее действие экстрактов из корней, стеблей и листьев на рост клубеньковых бактерий проявляется отчетливо, однако оно слабее, чем в фазы бутонизации и цветения; наиболее сильно проявляется в фазу бутонизации растений. По-видимому, этим в значительной мере объясняется высокая активность клубеньковых бактерий в фазе бутонизации растений. В фазу плодоношения стимулирующий эффект резко падает, проявляясь главным образом в плодах растений. Так, определения показали, что при добавлении навески растертых плодов весом 0,05 к 20 см³ бобового агара рост клубеньковых бактерий усиливался в случае вики на 46%, фасоли — 18%, сои — 25% и чечевицы — 42%.

Кроме того, видно, что в фазу вегетативного роста стимулирующие вещества преобладают в листьях и стеблях, а в последующих фазах — в корнях растений.

Наличие стимулирующих веществ в различных органах бобовых растений, вероятно, является приспособительным свойством бобовых растений, облегчающим их симбиоз с клубеньковыми бактериями. Таким образом, во взаимоотношениях между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями важным фактором являются вещества, имеющиеся в соках бобовых растений: с одной стороны, бактерицидные вещества, препятствующие росту клубеньковых бактерий, несвойственных взятым видам бобовых растений, и, с другой стороны, стимулирующие вещества, способствующие росту клубеньковых бактерий, свойственных этим видам. Следовательно, в симбиотических отношениях бобовых растений и клубеньковых бактерий вещества, имеющиеся в соках бобовых растений, играют весьма активную роль.

Сектор микробиологии
Академии наук Армянской ССР

Մ. Բ. ԶԱՅԼԱՆՅԱՆ ԵՎ Ս. Ա. ՄԵՂՐԱԲՅԱՆ

Թիթեոնածաղկավորների ստիմուլացիոն ազդեցությունը բույսի յուրահատուկ պալարաբուկտների աճման վրա

Պալարաբուկտների աճմանը թիթեոնածաղկավոր բույսերի ստիմուլացիոն ազդեցությունը ի հայտ է բերվել մի շարք աշխատություններում:

Նպատակադրվելով կատարել հետադառնումնախնամություններ պալարաբուկտների աճը ստիմուլացիոն նյութերի վերաբերյալ, հեղինակների կողմից 1955—1956 թթ. կատարվել են փորձեր հետևյալ թիթեոնածաղկավոր բույսերի վրա՝ վիկայի, կորնգանի, ոսպի, երեքնուկի, սոփույտի, ոլորի, սոյայի, լորու, բակլայի և լյուպինի:

Բույսի զարգացման տարրեր փուլերում՝ վեգետատիվ աճման, կոկոնակալման, ծաղկման և պտղակալման, արմատներից, ցողուններից և տերևներից, իսկ որոշ դեպքերում նաև պտուղներից, վերցվել են նմուշներ 0,05 մինչև 2 գ քաշով: Նմուշները թեթևակի տրորվել և ավելացվել են 20 սմ խոր. լորու ազարի սննդամիջավայրին. 1/2 ատմոսֆերա ճնշման տակ 5 բույս պահելուց և ֆիլտրելուց հետո սննդամիջավայրը ստերիլիզացիայի է ենթարկվել ու Պետրիի թասերը լցնելուց հետո վարակվել պալարաբուկտների համապատասխան շտամներով:

Բայր հետազոտվող թիթեոնածաղկավոր բույսերի արմատները, ցողունները և տերևները հայտնաբերել են ստիմուլացնող հատկութունն իրենց յուրահատուկ պալարաբակտերիաների նկատմամբ, ընդ որում այդ հատկութունն ամենից ուժեղ արտահայտվում է բուսական հյուսի թույլ կոնցենտրացիայի (0,05 գ 20 սմ խոր. լորու ազարի) դեպքում ավելի բարձր՝ պալարաբակտերիաների աճը կասեցվում է, իսկ առավել բարձր կոնցենտրացիայի՝ (2 գ 20 սմ խոր. լորու ազարի) դեպքում բոլորովին դադարում է: Ստիմուլացնող հատկութունն ամենից ուժեղ արտահայտվում է, երբ նմուշները վերցվում են բույսի կոկոնակալման փուլում: Մաղկման և վեգետատիվ աճման շրջանում՝ այդ հատկութունը փոքր ինչ նվազում է, իսկ պտղակալման փուլում խիստ կերպով ընկնում:

Պարզվել է նաև, որ վեգետատիվ փուլում ստիմուլացնող նյութերը զերակշռում են բույսի տերևներում և ցողուններում, իսկ հետագա փուլերում՝ բույսերի արմատներում: Այսպիսով, թիթեոնածաղկավոր բույսերի և պալարաբակտերիաների փոխարարերության մեջ կարևոր գործոն հանդիսանում են այն նյութերը, որոնք գտնվում են թիթեոնածաղկավորների հյուսիների մեջ, ընդ որում թիթեոնածաղկավոր բույսերը պարունակում են մի կողմից՝ բակտերիցիդ նյութեր (1936 թ.), որոնք կասեցնում են բույսի ոչ յուրահատուկ պալարաբակտերիաների աճը, և մյուս կողմից ստիմուլացնող նյութեր, որոնք ուժեղացնում են բույսի յուրահատուկ պալարաբակտերիաների աճը:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ М. Х. Чайлахян, А. А. Меграбян и Н. А. Карапетян, Избирательная бактерицидность корней как фактор взаимоотношения бобовых и клубеньковых бактерий. Изв. АН АрмССР, серия биол. и сель.-хоз. наук, т. 8, № 3, 61—76 (1956). ² D. W. Thorn and P. E. Brown, The growth and respiration of some soil bacteria in juices of leguminous and non leguminous plants. Journ. Bact., 35, 567. 1937. ³ H. Nicol and H. C. Thornton, Competition between related strains of nodule bacteria and its influence on infection of the leguminous, Proc. Roy. Soc. (London), 130, 32. 1941. ⁴ Н. А. Красильников и А. И. Кореняко, Бактерицидность растительного сока, рефераты. научно-исследовательских работ за 1945 год, Отделение биологических наук, Изд. АН СССР, стр. 146—147, 1947.