

## A bab magvak gátló hatása a rhizobiumokra

KREAMAN, M. FAWAZ, A. S. ABDEL-GHAFFAR és M. M. ELGABALY

Alexandriai Egyetem Mezőgazdasági Karának  
Talaj és Vizgazdálkodási Tanszéke, Alexandria, (EAK)

A mezőgazdasági gyakorlatból közismert, hogy az effektív gyökérgumókkal rendelkező pillangós virágú növények, amennyiben megfelelő mennyiségű nitrogén a talajban nem áll rendelkezésükre, képesek a levegő molekuláris nitrogénjéből fedezni nitrogén-szükségletüket. Az Egyiptomban termesztett legtöbb pillangós növény gyökérzetén a gumóképzés megfelelő, kivétel talán csak a bab növény (*Phaseolus vulgaris*). Vizsgálataink szerint a gumóképzés elmaradása mind a Nílus-delta talajaiban, mind pedig az újonnan javított talajainknál a babtermés jelentős mértékű csökkenését eredményezte. A fentiek alapján célkitűzésünk annak megismerése volt, hogy milyen tényezők befolyásolják a bab növény gumóképzését az Egyesült Arab Köztársaság talajaiban.

### Anyag és módszer

A *Rhizobium phaseoli* 15 törzsét és a *Rh. trifolii* 7 törzsét vizsgáltuk tanulmányunkban. Ezek a törzsek az Alexandriai Egyetem Talaj és Vizgazdálkodási Tanszékének gyűjteményéből származtak, egyesek közülük külföldi, mások hazai eredetűek voltak. Valamennyi törzset ALLEN [1] által javasolt élesztőkivonat agar-agar-t tartalmazó táptalajon tartottuk fenn. Mindenekelőtt az izolált és tisztított törzseken vizsgáltuk a gumóképződést.

A *Phaseolus vulgaris Contender*, egyiptomi és külföldi fajtáinak magvait, valamint az egyiptomi here (*Trifolium alexandrinum* var. *miskawi*) magvait használtuk fel vizsgálatainkhoz.

A magvak felületét koncentrált kénsavval fertőtlenítettük és steril vízzel gondosan lemostuk.

A magkivonatok toxikus hatásának vizsgálatára lyuk teszt módszert alkalmaztunk. A kivonatokat előzetesen vagy szűréssel, vagy autoklávban sterilizáltuk. A magvak gátló hatásának demonstrálására a rhizobium tenyészetekkel oltott agar lemezre olyan magvakat helyeztünk, melyeknek a felszínét előzően megfelelőképpen csíráltatnítottuk.

A növényoltási kísérleteket 25 × 15 cm-es tenyészedenyekben és 250 ml főzőpoharakban állítottuk be BOND módosított tápoldatát használva (ALLEN [1]). Az edényekbe mosott kavicsot és homokot helyeztünk, a főzőpoharakat pedig mosott kavicsokkal és vermikulittal töltöttük meg.

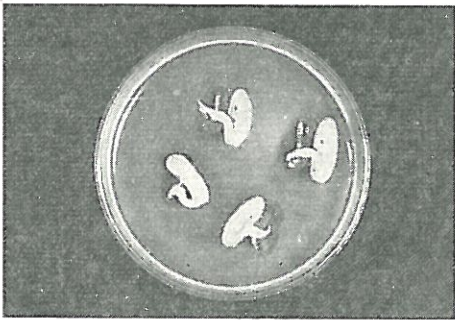
A növényeket 8—12 hetes korukig neveltük, majd a kísérleteket lebontva, a növények gyökérgumóit megszámláltuk, szárazanyag súlyukat és nitrogéntartalmukat WARD és JOHNSON [7] módszere alapján határoztuk meg.

## Eredmények

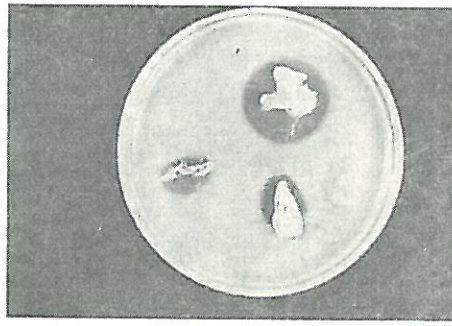
*A hüvelyes magvak toxikus hatása*

Ahogy a vizsgálatok adatai bizonyítják, a *Contender* bab szűrővel sterilizált vizes kivonata a *Rh. phaseoli* helyi és külföldi törzsének növekedését egyaránt gátolták. Az etilalkoholos magkivonatok, valamint az autoklávban 121 °C-on 20 percig sterilizált vizes magkivonatok ezzel ellentétben nem gyakoroltak gátló hatást a fenti törzsek növekedésére. Mindezekből világosan kitűnik, hogy a *Contender* bab magvak termolabilis vízoldható toxikus anyagot tartalmaznak, mely anyag a *Rh. phaseoli* vizsgált törzseinek növekedését meggátolja.

A külső részén fertőtlenített *Contender* bab magvakból a mag visszamaradó részének megsértése nélkül vágtuk ki a maghéjat. Az érintetlen bab mag, a maghéj és a héj nélküli mag által kiváltott rhizobium gátló hatásokat

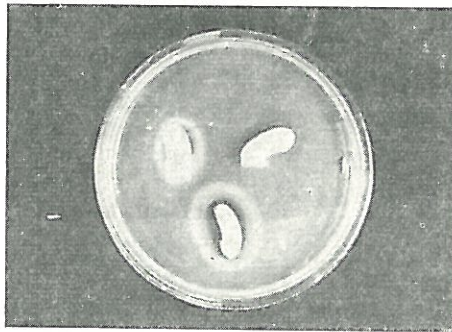


1. ábra  
Contender bab egész magvának gátló hatása a *Rh. phaseoli* 485. sz. törzs növekedésére



2. ábra  
Contender bab maghéjának gátló hatása a *Rh. phaseoli* 485. sz. törzs növekedésére

az 1. táblázatban, az 1., 2. és 3. ábrákon mutatjuk be. Az érintetlen magot, a maghéjat és a héj nélküli magvat 121 °C-on 20 percig sterilizáltuk autoklávban. Amint az 1. táblázat demonstrálja, hőkezelésre való tekintet nélkül, a teljes mag gátolta mindkét törzs növekedését. A maghéj a gátló zóna méretét tekintve nagyobb mértékben gátolta a *Rh. phaseoli* törzseket, mint a teljes mag és maghéj nélküli mag. Ugyanakkor a maghéj nélküli magvak gátolták a két törzs növekedését. A héj nélküli magvak által képezett gátló zónák körül stimuláló zónát figyelhetünk meg. A 121 °C-on autoklávban 20 percig sterilizált *Contender* bab különböző kezelése közül csak a héj nélküli magvak nem gátolták a két *Rh. phaseoli* törzs növekedését.



3. ábra  
Héj nélküli Contender babmagvak gátló hatása a *Rh. phaseoli* 485. sz. törzs növekedésére

1. táblázat

## A Contender bab mag toxin tartalmu részei

(1) Vizsgált rhizobium törzsek	(2) Magkezelések	(3) Gátlási zónák átmérője mm-ben		
		teljes mag	maghéj	mag héj nélkül
417	a) Nem sterilizált	16	20	14
485		18	23	17
417	b) Sterilizált	15	18	—
485		16	17	—

A külső felületén fertőtlenített egyiptomi here (*Trifolium alexandrinum*) és Contender bab magvak gátló hatását vizsgáltuk 7 *Rh. trifolii* és 15 *Rh. phaseoli* törzsnél (2. táblázat). A here magvakat egyenként, és apró méretük

2. táblázat

Contender bab és egyiptomi here magvainak hatása a *Rh. trifolii* és *Rh. phaseoli* törzsek növekedésére

(1) Vizsgált rhizobium törzsek	(2) A magvak gátlási zónái mm Ø-ben		
	(3) Bab	(4) Egyiptomi here	
		Egyes magvak	15—20 mag együtt
<i>Rh. trifolii</i>			
202	13	—	—
216	25	6	25
226	24	5	22
233	20	—	25
236	21	6	35
239	16	—	—
240	24	6	22
<i>Rh. phaseoli</i>			
*415	17	—	—
*416	24	6	22
*417	16	—	22
456	17	—	15
462	20	—	25
467	13	—	—
468	16	—	—
473	16	—	—
476	16	—	—
477	16	—	—
483	12	—	—
485	18	5	18
487	16	—	—
492	14	—	—
493	13	—	—

—: Nincs gátlás, \*: Külföldi törzs

miatt 15—25-ös csoportokban is teszteltük. Különálló egyiptomi here magvak nem vagy alig gátolták a rhizobium törzseket, azonban csoportosan tesztelve egyes törzseket gátoltak, más törzsek növekedését nem befolyásolták.

## 3. táblázat

Különböző bab fajták magvainak  
Rh. phaseoli törzsek növekedésére gyakorolt hatása

(1) Vizsgált rhizóbium törzsek	(2) Bab magvak gátlászónái mm-ben						
	Egyiptomi Contender bab	Külföldi Contender bab	Tapery bab	Kerti bab	Balady bab	Simanole bab	Svájci blanc bab
*415	17	—	22	—	—	—	17
*417	16	13	11	—	16	—	16
456	17	19	21	22	15	—	17
462	20	21	21	14	17	14	20
467	13	—	15	—	—	—	13

\*: külföldi törzs

A Contender bab magvak azonban gátolták a *Rh. phaseoli* és *Rh. trifolii* valamennyi vizsgált törzsének növekedését, amint a 2. táblázat adatai bizonyítják. A bab magvak gátló hatásukat a tesztelés kezdetén fejtették ki, majd duzzadásuk és csírázásuk után serkentették a rhizóbiumok fejlődését, amit a gátló zóna körül kialakult serkentő gyűrű mutat.

A 3. táblázatban levő adatok igazolják, hogy a különböző bab fajták magvai különbözőképpen gátolták a különböző *Rh. phaseoli* törzsek növekedését. Az egyiptomi Contender bab, a Tapery bab és a Svájci blanc bab fajták magvai a *Rh. phaseoli* mind az 5 kísérletbe vont törzsét gátolták. A külföldi Contender bab fajta, a Balady bab, kerti bab és Simmanole bab fajták magvai csak a *Rh. phaseoli* egyes törzseit akadályozták növekedésükben. A here magvakból kivont anyagok gátló hatása jelentősen kisebb volt, mint a bab magvak extraktumai által kifejtett gátlás. A gátlás mértéke igen nagymértékben változott a baktériumtörzsek és növényfajták szerint.

## Különböző talajok hatása a bab növények gyökérgumóképzésére

Tenyészedénykísérletben, sós, agyagos vályog, meszes, homok és szikes talajokban vizsgáltuk a talajoknak a bab növény (*Phaseolus vulgaris*) gyökérgumóképzésére gyakorolt hatását. A *Rh. phaseoli* hazai 476-os és a külföldi 417-es törzseivel oltottuk a Contender bab magvakat (4. táblázat).

Az adott vizsgálati feltételek között úgy tűnt, hogy specifikus, effektív gyökérgumó baktériumok természetesen nem fordulnak elő ezekben a talajokban. A megfelelő törzsekkel vetéskor történő oltás hatására csupán néhány, elszórtan található, kevésbé effektív gumó képződött.

## A vetés utáni oltási időpont hatása a bab növények gyökérgumóképzésére

Kísérleteket folytattunk steril és nem steril feltételek között annak a tisztázására, hogy a különböző időpontokban végzett oltások milyen befolyást gyakorolnak a bab gumóképzésére. A bab magvak oltására a *Rh. phaseoli* 417-es külföldi és 485-ös hazai törzsét külön-külön használtuk fel. A külső felületén sterilizált Contender bab magvakat aszeptikus körülmények között a főzőpoharakban oltottuk *Rh. phaseoli* törzsekkel a következő időpontokban:

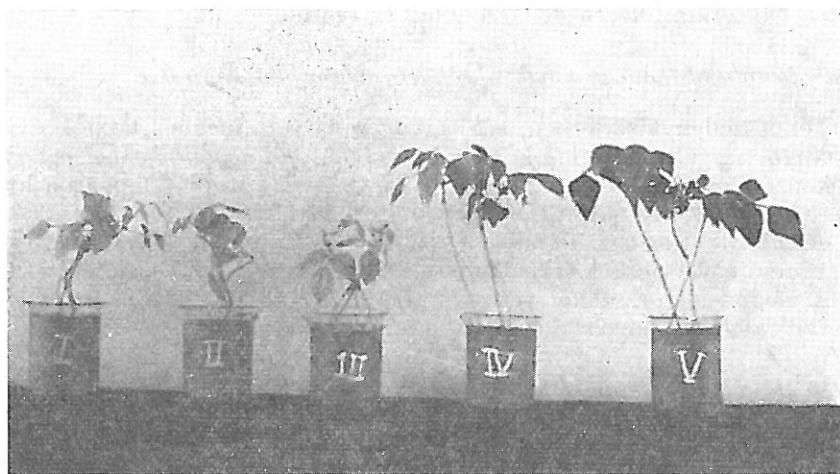
4. táblázat

Az oltás hatása a bab növény gyökérgumóképzésére különböző talajokban  
(1967. XII. 5.—1968. III. 5)

(1) Kezelések	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
	Meszes	Homok	Szikes	Sós	Agyagos
	talaj				
A) <i>Oltatlan</i>					
a) Vizsgált növények száma .....	25	25	12	24	23
b) Gyökérgumóval rendelkező növények száma .....	0	3	0	12	0
c) Gumók/10 növény .....	0	14	0	55	0
B) <i>417. sz. rhizobium törzssel oltott*</i>					
a) Vizsgált növények száma .....	24	23	13	26	23
b) Gyökérgumóval rendelkező növények száma .....	1	3	2	0	14
c) Gumók/10 növény .....	2	2	5	0	24
C) <i>467. sz. rhizobium törzssel oltott**</i>					
a) Vizsgált növények száma .....	25	26	10	17	24
b) Gyökérgumóval rendelkező növények száma .....	0	0	0	5	4
c) Gumók/10 növény .....	0	0	0	6	4

\* külföldi törzs, \*\* egyiptomi törzs.

- a) Vetéskor  
b) 5 nappal vetés után (csírázás után)  
c) 8 nappal vetés után (a sziklevel leesése után)  
d) 18 nappal vetés után (a nitrogénhiány szemmel látható megjelenése után).



4. ábra

Az oltási időpontok hatása a babnövények növekedésére (oltóanyagként *Rh. phaseoli* 417. sz. törzsét használtuk, 1968). Oltási időpontok: I. oltatlan. II. vetéskor (július 22). III. csírázás után (július 28). IV. sziklevel leválása után (július 31). V. a nitrogénhiány megjelenése után (augusztus 9)

5. táblázat

Az oltási időpont hatása a bab növények gyökérgumó képzésére és a rhizobiumok által megkötött nitrogén mennyiségére (1968. VII. 22—1968. VIII. 31.)

(1) Vizsgálatok	(2) Kontroll	(3) A vetés utáni oltás időpontja napokban							
		0	5	8	18	0	5	8	18
		417. sz. törzs				485. sz. törzs			
a) Vizsgált növények száma	11	11	13	15	9	9	11	18	11
b) Gumót képzett növények száma	0	11	13	15	9	9	11	18	11
c) Gumók száma/10 növény	0	487	641	656	627	500	210	761	1140
d) Növények szárazanyaga g/10 növény	2,10	2,26	2,61	7,74	7,04	2,16	3,99	4,21	5,24
e) Nitrogén mg/10 növény	39,9	34,1	47,01	70,3	155,1	38,9	72,0	97,1	115,5
f) Nitrogén %	1,9	1,9	1,8	2,2	2,2	1,8	1,8	2,3	2,2

A kapott eredményeket az 5. táblázat és a 4. és 5. ábrák szemléltetik. A *Rh. phaseoli* mindkét törzsével való oltás eredményes volt, de mind a gumók száma, mind a növények életképessége, mind pedig azok szárazanyag hozama



A)

B)

5. ábra

Vetés után a 18. napon történő oltás hatása a babnövényekre. A) Oltatlan. B) 485. sz. törzssel oltott

nagymértékben függött az oltási időpontoktól. A vetés utáni 8. és 18. napon történő oltás jó gumóképződést eredményezett és fokozta a szárazanyag mennyiségét (5. táblázat). A vetéskor történő oltás következtében csak kis, fehér színű gumók képződtek, azok is az oldalgyökerek végén, távol a főgyökértől. A vetéskor oltott magvakból fejlődő növények szára ugyanolyan rövid volt, mint a nem oltott kontroll kezeléseknél a szára. Ahogy azt a 4. ábra is mutatja, a nitrogénhiány miatt a levelek sárgák voltak, és az idősebb levelek gyorsan elhaltak. A vetéskor oltott magvakból kifejlődött növények szárazanyaga majdnem a kontroll növényekével volt azonos. A magvak csírázása után alkalmazott oltás hatására a növények szárhossza alig különbözött a kontrollétól, vagy azoknak a növényeknek a hosszától, melyek magvait vetéskor oltottuk (5. táblázat és 4. ábra). A sziklevelek leesése utáni oltás sokkal több gumót eredményezett. E gumók a főgyökéren helyezkedtek el, közép vagy nagy méretűek és belül vörös színűek voltak. A növények föld feletti részei zöldek, egészségesek voltak, és nem mutatták a nitrogénhiány tüneteit (5. táblázat).

Vetés utáni 18. napon történő oltás következtében sok gumó képződött. Valamennyi nagy és belül vörös színű volt (5. ábra). A föld feletti részek zöldek voltak. Oltás előtt e növényeken a nitrogénhiány jelei mutatkoztak, de oltás után hamarosan megkezdődött a N-kötés és a növekedésük fokozódott.

#### Az eredmények megvitatása

A hüvelyes gazdanövények és rhizobiumok közötti szimbiózist a környezeti tényezők az alábbi szempontok alapján befolyásolják:

1. Hatnak a gyökérgumó-baktériumok előfordulására, növekedésére és megmaradására.

2. Módosítják a gyökérgumóképződést.

3. Hatnak a képezett gumók N-kötő képességére.

A hüvelyes magvaknak a rhizobiumok növekedésére gyakorolt hatásai közül különös érdeklődésre tarthat számot a magvak kifejezett antibiotikus aktivitása a szimbiota partner rhizobiumokkal szemben. A rhizobiumok széles körére gyakorolt antibiotikus aktivitásra vonatkozó megfigyeléseink meggyeznek THOMPSON [4] és BOWEN [2] vizsgálataival. A here magvakból kivont anyagok lényegesen kisebb gátló hatást fejtettek ki a rhizobiumokra, mint a bab magvak gátló anyagai. Ebben az esetben a folyékony oltóanyag kisebb hatást biztosítana. A gátlás foka nagymértékben függött a rhizobium törzstől és a bab fajtától. A *Contender* bab magvak héjából kivont toxikus anyagok rhizobium gátló hatása nagyobb volt akár a teljes mag, vagy a héj nélküli mag gátló hatása. SEIDL és mások [3] globulint izoláltak fekete *Phaseolus vulgaris* bab magvakból, amely a proteínáz fermentek tevékenységét gátolta. VINCENT [5] szerint ez lehet az egyik oka a rhizobiumok gyér életben maradásának, amikor meszezés előtt oltják a magokat.

A *Contender* bab magvak különböző részeinek autoklávval történő sterilizálása esetén a héj nélküli magvak nem gátolták a bab rhizobium törzseket, míg a sterilizált maghéjak és a teljes mag gátolta e törzsek növekedését. Ebből azt következtettük, hogy *Contender* bab magvak által termelt vízoldható termolabilis és vízben nem oldható termotabilis toxinok gátolják a *Rh. phaseoli*-t.

VINCENT [5] és THOMPSON [4] adatai szerint igen káros diffúzív hatásokkal kell számolni, amikor a *Trifolium subterraneum* herefajta magvait folyé-

kony oltóanyaggal kezeljük. A *Contender* bab maghéjából igen gyakran diffundálnak ki anyagok és várható, hogy bármilyen magnedvesítő kezelés következtében a maghéj toxikus anyagokat választhat ki. BOWEN [2] megállapította, hogy a magból kidiffundáló anyagok depresszív vagy stimuláló hatást válthatnak ki a homokban vagy talajban csírázó magvak körül szaporodó szerveszetekre.

Megfigyeléseink szerint a *Contender* bab magvak *Rh. phaseolira* gyakorolt toxikus hatását kompenzálni lehet megfelelő rhizobium törzsek kiválasztásával. Más bab fajták toxikus hatását ugyancsak ki lehet küszöbölni a megfelelő rhizobium törzs kiválasztásával, ahogyan azt BOWEN [2] lóhere magvakkal végzett vizsgálatai igazolják.

Amint az 5. táblázat adatai mutatják, a vetéskor történt oltás eredménytelen mind az 5 különböző talajban. Kevés gumó képződött és az is csak a gyökerek végén. A magvak önmaguk toxikusak a rhizobiumokra nézve, mint ahogy azt BOWEN [2], THOMPSON [4], VINCENT és THOMPSON [6] és mások is megállapították. Úgy tűnik, hogy nincsenek specifikus rhizobiumok a tanulmányozott talajokban. A vetéskor történő oltás sikertelenségének az oka a magvakkal kidiffundáló toxikus anyagokban keresendő, melyek a mag körül és következőképpen a gyökerek körül meggátolták a rhizobiumok növekedését.

A bab növények oltása sziklevelük ledobása után azonban jó gumóképződést eredményezett. A siker feltehetően a mag toxinjainak inaktivációjával magyarázható. A magból kidiffundáló toxikus anyagok inaktivációja bekövetkezhet a talaj adszorpció révén, bizonyos pH hatások miatt előálló stabilitáshiány vagy mikrobiális tevékenység hatására. Nyers babkivonatok bentoniton vagy illiten történő adszorpciója kiküszöbölheti a specifikus tripszin gátló tevékenységét SEIDL és mások [3] szerint. Hazai, helyi törzssel történő oltás hatására sokkal több gumó képződött, mint amikor külföldi törzset használtunk oltóanyagként.

*Rh. phaseoli* törzssel oltott valamennyi bab növény gyökerén képződtek gumók, de ezek mérete, színe és a növények szárazanyag hozama nagymértékben függött az oltási időpontoktól. Vetés utáni nyolcadik napon történő oltással jó gumóképződést kaptunk. Vetés után 18 nappal történő oltással vagy ugyanolyan, vagy jobb eredményt értünk el.

Megállapítható szintén, hogy a magból kidiffundáló toxinok befolyásolhatják a rhizobium törzsek behatolási képességét ugyanúgy, mint hatékonyságukat. A vetés utáni idő múlásával, ezeknek az anyagoknak a hatása csökken és a rhizobiumok osztódnak és szaporodnak a kifejlődő gyökérrendszer körül, utóbbiak egyre több lehetőséget nyújtva effektív gumók képződésére. Szabadföldön megfigyeltük, hogy a gumóval rendelkező bab növények többnyire az öntöző csatornák mentén, vagy azok közelében voltak találhatóak. Ez talán a toxinok vízáramlással történő gyors kimosódásával magyarázható.

### Összefoglalás

A bab (*Phaseolus vulgaris*) kivételével valamennyi, Egyiptomban termesztett hüvelyes növény gyökerén képződnek gyökérgumók természetes körülmények között. Amint azt előzetes vizsgálataink bizonyítják, a *Contender* bab magvak olyan vízdoldható, termolabilis, valamint vízben nem oldódó termo-



stabil toxikus anyagokat tartalmaznak, melyek a *Rhizobium phaseoli* vizsgált törzseit növekedésükben gátolják.

A maghéjat a mag visszamaradó részének megsértése nélkül távolítottuk el a *Contender* bab magvakból és megfigyeltük, hogy a maghép megakadályozta a *Rh. phaseoli* törzs növekedését nagyobb gátló zónát okozva, mint akár a teljes mag, vagy héj nélküli magvak. Héj nélküli magvak által létrehozott gátló zónák körül egy növekedést serkentő zóna is képződött. A *Contender* bab magvak különböző részeit 121 °C-on 20 percig autoklávban sterilizálva megállapítottuk, hogy a héj nélküli magvak egyáltalán nem gátolták a két vizsgált *Rh. phaseoli* törzsének a növekedését.

Az egyiptomi here (*Trifolium alexandrinum*) egyes magvai vagy nem, vagy igen kismértékben okoztak gátló zónákat. Megállapítottuk, hogy az egyiptomi here magvai nagyobb mennyiségben bizonyos rhizobium törzseket gátoltak, bizonyos törzsek növekedését pedig nem befolyásolták. Az egyes bab fajták magvai eltérően hatottak a különböző *Rh. phaseoli* törzsekre. A here magvakból származó anyagok gátló hatása kisebb volt, mint a bab magvakból származóké. A gátlás foka jelentős mértékben függött a vizsgált baktérium törzstől és a növényfajától. Általánosságban megállapítottuk, hogy az öt vizsgált talaj esetében a vetéskor történő oltás nem volt eredményes. Gumók csekély számban képződtek, azok is csak gyökerek végén és fehér színűek voltak. Az adott vizsgálati feltételek között úgy tűnt, hogy specifikus gyökérgumó baktériumflóra nincs a vizsgált talajokban.

A bab magvak megfelelő *Rh. phaseoli* törzsekkel való oltása eredményeképpen valamennyi bab növény gyökerén képződtek gumók, de azok mérete és színe, valamint a növények szárazanyag súlya a különböző oltási időpontoktól függően jelentősen különbözött. Vetés utáni 8. napon történő oltás jó gumóképződést eredményezett és a növények szárazanyag hozamát is növelte. Vetés utáni 18. napon történő oltás vagy ugyanilyen jó, vagy még jobb eredményt adott.

### Irodalom

- [1] ALLEN, O. N.: Experiments in soil bacteriology. Burgess. Minneapolis 1959.
- [2] BOWEN, G. D.: The toxicity of legume seed diffusates toward *Rhizobium* and other bacteria. *Plant and Soil*. **15**. 155—165. 1961.
- [3] SEIDL, D., JAFFÉ, M. & JAFFÉ, W. G.: Digestibility and proteinase inhibitory action of a kidney bean globulin. *J. Agric. Food Chem.* **17**. 1318. 1969.
- [4] THOMPSON, J. A.: Inhibition of nodule bacteria by an antibiotic from legume seed coats. *Nature (London)* **187**. 619—620. 1960.
- [5] VINCENT, J. M.: Survival of the root-nodule bacteria. In: *Nutrition of legumes*. (Ed. Hallsworth, E. G.) Butterworths Sci. Publ. London. 1958.
- [6] VINCENT, J. M., THOMPSON, J. A. & DONOVAN, K. O.: Death of root-nodule bacteria on drying. *Austral. J. Agr. Res.* **13**. 258—270. 1962.
- [7] WARD, G. M. & JOHNSTON, F. D. (editors): *Chemical methods of plant analysis*. Canada Department of Agriculture. Rouger Dauhamel, R. R. S. C. Queen's Printer and Collector of Stationery. Ottawa. 1962.

Érkezett: 1970. november 25.

## Inhibition Effect of Bean Seeds on Rhizobia

KREAMAN M. FAWAZ, A. S. ABDEL-GHAFFAR and M. M. ELGABALY

Soil and Water Department, Faculty of Agriculture, University of Alexandria, (U.A.R)

## Summary

Under natural conditions, all leguminous plants cultivated in Egypt form nodules on their roots, with the exception of beans (*Phaseolus vulgaris*). Preliminary studies have shown that the *Contender bean* seeds contained thermolabile water soluble toxic material and thermostable water insoluble toxic material that inhibited the tested strains of *Rh. phaseoli*.

The testae were dissected from sterilized *Contender bean* seeds without injury to the remainder of the seeds. Testae inhibited the *Rh. phaseoli* strains with inhibition zones of diameters wider than those of the whole seeds and the seeds without testae. The inhibition zone, caused by the seeds without testae, were surrounded by zones of stimulated growth. By autoclaving at 121 °C for 20 minutes, the different parts of *Contender bean* seeds, only the seeds without testae failed to inhibit the two *Rh. phaseoli* strains.

Inhibition zones from single seeds of *Egyptian clover* were absent or very narrow. Inhibition by groups of seeds of this clover was present with certain strains and absent with other ones. Seeds of bean varieties behaved differently in inhibiting the growth of different *Rh. phaseoli* strains. The inhibition effect of substances from clover seeds appeared to be appreciably less than those from bean seeds. The degree of inhibition varied markedly with the bacterial strains and plant variety.

In general, no marked response appeared to be due to inoculation at sowing time in any of five different soils. The formed nodules were very few in number, rather on the tips of the roots and they were white in colour. Under the conditions of the test, it seemed that the specific root-nodule bacteria were not naturally present in the soils examined.

Inoculation of been plants with the right *Rh. phaseoli* strain nodulated all plants but the size and the colour of the nodules and the dry weight of the plants differed greatly with the various inoculation times. As a whole, inoculation after 8 days gave good nodulation and increased total weight. Inoculation after 18 days gave the same results or even better. The possible nodulation significances of these observations are discussed, too.

*Table 1.* Site of toxin production in *Contender bean* seeds. (1) Rh. strains tested. (2) Seed treatment: a) Unautoclaved, b) autoclaved. (3) Diameters of inhibition zones, mm: with the whole seeds, testae, seeds without testae.

*Table 2.* Effect of *Contender bean* and clover seeds on the growth of *Rh. trifolii* and *Rh. phaseoli* strains. (1) Rh. strains tested. (2) Diameters of inhibition zones, mm. (3) Beans. (4) Egyptian clover, single seeds and groups of 15–20 seeds. — No inhibition. \* Foreign strain.

*Table 3.* Effect of bean seeds of different varieties on the growth of *Rh. phaseoli* strains. (1) Rh. strains tested. (2) Diameters of inhibition zones with bean varieties, mm.

*Table 4.* Effect of inoculation on nodulation of bean plants in different soils (5.12. 1967 — 7.3. 1968). (1) Treatments: A) Uninoculated. B) Inoculated with Egyptian *Rh. phaseoli* strain 417. C) Inoculated with the foreign *Rh. phaseoli* strain 467. a) Number of tested plants. b) Number of nodulated plants. c) Nodules/10 plants. (2) Calcareous soil. (3) Sandy soil. (4) Alkaline soil. (5) Saline soil. (6) Clay loam.

*Table 5.* Effect of time of inoculation on nodulation and nitrogen fixation by bean plants (22.7 1968 — 8.31. 1968) (1) Tests: a) Number of plants tested; b) Number of plants nodulated; c) Nodules/10 plants; d) Dry wt. of plants, g./10 plants; e) Nitrogen, g./10 plants; f) Nitrogen %. (2) Control. (3) Time of inoculation after sowing, in days.

*Fig. 1.* Inhibition of *Rh. phaseoli* strain 485 by the whole seed of *Contender bean*.

*Fig. 2.* Inhibition of *Rh. phaseoli* strain 485 by testae of *Contender bean*.

*Fig. 3.* Inhibition of *Rh. phaseoli* strain 485 by *Contender bean* seeds devoid of testae.

*Fig. 4.* Effect of inoculation with *Rh. phaseoli* strain 417 on the growth of bean plants, 1968. Dates of inoculations: I. Uninoculated. II. Inoculated at sowing time

(22 July). III. Inoculated after germination (28 July). IV. Inoculated after drop of cotyledons (31 July). V. Inoculated after appearance of nitrogen deficiency (9 August).

Fig. 5. Effect of inoculation of bean plants 18 days after sowing. A) Uninoculated. B) Inoculated with strain 485.

### Effet inhibiteur des graines d'haricot sur les Rhizobia

KREAMAN M. FAWAZ, A. S. ABDEL-GHAFFAR et M. M. ELGABALY

Département pour la Recherche des Sols et des Eaux, Faculté d'Agriculture, Université d'Alexandria, (RAU)

#### Résumé

A l'exception des haricots (*Phaseolus vulgaris*), sur les racines de toute les légumineuses cultivées en Egypte se forment des nodosités. Les expériences préliminaires ont démontré que les graines des haricots *Contender* contiennent des substances toxiques thermolabiles, solubles dans l'eau ainsi que des substances toxiques thermostabiles insolubles dans l'eau qui ont inhibé les souches de *Rh. phaseoli* examinées.

Les testae des graines stérilisées des haricots *Contender* ont été écartées sans blesser leurs parties restantes. On pouvait observer que les testae ont inhibé le développement des souches de *Rh. phaseoli* dans une zone d'inhibition dont le diamètre était plus grand que de celle des graines intactes ou des graines sans testae. Les zones d'inhibition produites par les graines sans testae étaient entourées des zones de croissance stimulée. Après avoir autoclavé pendant 20 minutes à 121 °C les différentes parties des graines d'haricot *Contender*, on a constaté que ce n'étaient que les graines sans testae qui avaient une influence inhibitrice sur les deux souches de *Rh. phaseoli*.

Avec des graines individuelles du trèfle égyptien (*Trifolium alexandrinum*) les zones d'inhibitions manquaient tout à fait ou elles étaient très étroites. Nous avons aussi démontré que seulement certaines souches de Rhizobia étaient inhibées par des groupes de plusieurs graines de *Trifolium alexandrinum*. Les graines de différentes variétés d'haricot influençaient d'une manière différente la croissance des souches de *Rh. phaseoli*. L'effet inhibiteur des substances dans les graines de trèfle semblait d'être beaucoup plus faible que celui des substances dans les graines d'haricot. Le degré d'inhibition se variait remarquablement avec les souches des bactéries et des variétés des plantes.

En général, on pouvait observer qu'en cas de cinq différents types de sol, l'inoculation au temps d'ensemencement n'était pas effective. Ce n'était que sur les bouts des racines que les nodosités de couleur blanche se sont formées en petites quantités. Dans les conditions de notre expérience, il semblait qu'il n'existait pas une flore native des bactéries radiculaires spécifiques présente dans les sols examinés.

Après l'inoculation des graines d'haricot avec la souche appropriée de *Rh. phaseoli*, des nodosités se sont formées sur les racines de toutes les plantes, mais les dimensions, la couleur des nodules et le poids sec des plantes se différaient selon le temps d'inoculation. Comme conclusion on peut établir que le développement des nodosités et le poids sec total est le plus favorable avec l'inoculation 8 jours après l'ensemencement. L'inoculation après 18 jours apporte les mêmes résultats ou encore de meilleurs. L'importance de ces observations sur les nodulations est aussi discutée.

Tableau 1. Partie des graines d'haricot *Contender* produisant des toxines. (1) Souches de Rhizobia examinées. (2) Traitements des graines: a) non stérilisées, b) stérilisées. (3) Diamètre des zones d'inhibition, mm; graines entières, testae, graines sans testae.

Tableau 2. Effet des graines d'haricots *Contender* et de trèfle égyptien sur la croissance des souches de *Rh. trifolii* et *Rh. phaseoli*. (1) Souches de Rh. examinées. (2) Diamètre des zones d'inhibition des graines, mm. (3) Haricots. (4) *Tr. alexandrinum*: graines individuelles et groupes de 15-20 graines. — pas d'inhibition. \* = souches étrangère.

Tableau 3. Effet des graines de différentes variétés d'haricot sur la croissance des souches de *Rh. phaseoli*. (1) Souches de Rhizobia. (2) Diamètre des zones d'inhibition des graines d'haricot, mm.

Tableau 4. Effet de l'inoculation sur la nodulation chez les plantes d'haricot dans différents sols. (entre 5.12. 1967 et 5. 3. 1968). (1) Traitements: A) Pas inoculées. B) Inoculées avec la souche égyptienne de *Rh. phaseoli* No. 417. C) Inoculées avec la souche

étrangère de *Rh. phaseoli* No. 467. *a*) nombre des plantes examinées, *b*) nombre des plantes possédant des nodules, *c*) nodules/10 plantes. (2) Sol calcaire. (3) Sable. (4) Sol à alcali. (5) Sol salin. (6) Sol argileux.

*Tableau 5.* Effet de la date de l'inoculation sur la nodulation chez les plantes d'haricots et sur la quantité de l'azote fixé (inoculation avec des souches No. 417 et No. 485, resp. sa date: 22.7. 1968 — 31.8. 1968). Analyses: *a*) nombre des plantes examinées, *b*) nombre des plantes possédant des nodules, *c*) nodules/10 plantes, *d*) matière sèche, *g*/10 plantes, *e*) teneur en azote, *mg*/10 plantes, *f*) azote ‰. (2) Contrôle. (3) Date de l'inoculation après l'ensemencement, jours.

*Fig. 1.* Effet inhibiteur de la graine entière des haricots *Contender* sur la croissance de la souche de *Rh. phaseoli* No. 485.

*Fig. 2.* Effet inhibiteur des testae des haricots *Contender* sur la croissance de la souche de *Rh. phaseoli* No. 485.

*Fig. 3.* Effet inhibiteur des graines sans testae des haricots *Contender* sur la croissance de la souche de *Rh. phaseoli* No. 485.

*Fig. 4.* Influence des dates de l'inoculation avec la souche de *Rh. phaseoli* No. 417 sur la croissance des haricots, 1968. Dates de l'inoculation: I. sans inoculation. Inoculation: II. au temps de l'ensemencement (22 Juillet), III. après la tombée des cotylédons (31 Juillet), V. après l'apparition de la carence en azote (9 août).

*Fig. 5.* Effet de l'inoculation au 18<sup>e</sup> jour après l'ensemencement sur les plantes d'haricots. A) Sans inoculation B) Inoculées avec la souche No. 485.

### Тормозящее влияние семян фасоли на развитие клубеньковых бактерий

КРЕАМАН М. ФАВАЗ, А. С. АБДЕЛ-ДЖАФФАР и М. М. ЕЛГАБАЛЫ

Кафедра почвоведения и водного хозяйства Сельскохозяйственного факультета Александрийского Университета, Александрия (О. А. Р.)

#### Резюме

В Египте на корнях бобовых растений, кроме фасоли (*Phaseo vulgaris*), образуются клубеньки. Как подтвердили наши более раннее исследования, семена фасоли *Contender* содержат такие растворимые и нерастворимые в воде термостабильные токсические вещества, которые тормозят развитие штаммов *Rhizobium phaseoli*.

С семян фасоли, стараясь не повредить оставшуюся часть, осторожно сняли оболочку и наблюдали как она тормозит развитие штаммов клубеньковых бактерий, образуя вокруг себя более обширную зону торможения по сравнению с целым семенем или с семенем без оболочки. Вокруг семени без оболочки образовались две зоны-зона торможения и зона стимуляции роста. Стерилизуя различные части семян фасоли *Contender* в автоклаве в течение 20 минут при температуре 121°C определили, что семена лишённые оболочки совсем не тормозили развитие двух изученных штаммов.

Отдельные семена египетского клевера (*Trifolium alexandrinum*) или совсем не образуют, или образуют весьма небольшую зону торможения. Установили, что семена египетского клевера у одних определенных штаммов *Rhizobium phaseoli* тормозят развитие; у других — не оказывают тормозящего влияния. Семена различных сортов фасоли поразному влияют на различные штаммы клубеньковых бактерий.

Тормозящее влияние веществ, выделенных из семян клевера было ниже по сравнению с теми же веществами, выделенными из семян фасоли. Степень торможения в большой мере зависела от штаммов изучаемых бактерий и от вида растений. Вообще установили, что в случае пяти изучаемых почв заражение семян во время посева не дало результатов. Образовалось незначительное количество клубеньков, да и то они были расположены на концах корней и имели белый цвет. Кажется вероятным, что в данных условиях в почве нет специальной бактериальной флоры, вызывающей образование клубеньков.

В результате заражения семян фасоли штаммами клубеньковых бактерий, на корнях растений образуются клубеньки, но их размеры и цвет, сухой вес всех растений различаются в зависимости от времени проведения прививки. Заражение клубеньковыми бактериями, проведенное спустя восемь дней после посева привело к хорошему образованию клубеньков и повысило вес сухой массы растений. Заражение, проведенное спустя 18 дней после посева оказалось таким же эффективным или даже по эффекту было еще выше.

*Табл. 1.* Часть семени фасоли *Contender* вырабатывающая токсин. (1) Штаммы изу-

ченных клубеньковых бактерий. (2) Обработка семян: а) нестерильные, б) стерильные. (3) Диаметр зоны торможения в мм: полное семя, семенная оболочка, семя лишенное оболочки

*Табл. 2.* Влияние семян фасоли *Rh. trifolii* и *Rh. phaseoli* Contender и египетского клевера на развитие штаммов (1) Изученные штаммы клубеньковых бактерий. (2) Зона торможения, образовавшаяся вокруг семян, в мм. (3) Фасоль. (4) Отдельные семена египетского клевера и 15—20 семян вместе. — нет тормозящего влияния. X — зарубежные штаммы

*Табл. 3.* Влияние семян различных сортов фасоли на развитие штаммов *Rh. phaseoli* (1) Штаммы клубеньковых бактерий. (2) Диаметр зоны торможения вокруг семян фасоли, в мм.

*Табл. 4.* Влияние прививки клубеньковыми бактериями на образование клубеньков на корнях фасоли в различных почвах (XII. 5. 1967.— 5. III. 1968). (1) Варианты: А) Без прививки. В) Прививка проведена египетским штаммом *Rh. phaseoli* № 417. С) Прививка проведена заграничным штаммом *Rh. phaseoli* № 467. а) Число изученных растений. б) Число растений, на корнях которых образовались клубеньки. с) Клубеньки 10 растений. (2) Карбонатная почва. (3) Песок. (4) Засоленная почва. (5) Солончак. (6) Глина

*Табл. 5.* Влияние время проведения прививки на образование клубеньков на корнях бобовых растений и на количество азота, связанного клубеньковыми бактериями (22. VII. 1968.— 31. VIII. 1968). (1) Исследования: а) Число исследованных растений. б) Число растений, образовавших клубеньки. с) Количество образовавшихся клубеньков на 10 растений. д) Сухое вещество растений в г/10 растений. е) Содержание азота в мг/10 растений. ф) Азот в %. (2) Контроль. (3) Прививка проведенная в различные периоды времени после посева (дни). Прививка проводилась штаммами № 417. и 485.

*Рис. 1.* Тормозящее влияние целого семени фасоли Contender на развитие штамма *Rh. phaseoli* № 485

*Рис. 2.* Тормозящее влияние оболочки семени фасоли Contender на развитие штамма *Rh. phaseoli* № 485

*Рис. 3.* Тормозящее влияние лишенного оболочки семени фасоли Contender на развитие штамма *Rh. phaseoli* № 485.

*Рис. 4.* Влияние времени проведения прививки на развитие растений (прививка проводилась штаммом *Rh. phaseoli* № 417, 1968). Время проведения прививок: I. Без прививки. II. Во время посева (22 июля). III. после прорастания семян (28 июля). IV. После отпада семядоли (31 июля). V. После проявления азотного голодания (9 августа)

*Рис. 5.* Влияние прививки на развитие растений фасоли проведенной на 18 день после посева, А) Без прививки. В) Прививка проведена штаммом № 485.