

<https://doi.org/10.3176/biol.1967.2.07>

E. PÄRSIM

HAPETE MOODUSTUMINE SÜSIVESIKUTE FERMENTEERIMISEL RHIZOBIUM'I POOLT

Rhizobium'i liigilise klassifikatsiooni kohta on viimase poole sajandi jooksul ilmunud rida töid (Garman, Didlake, 1914; Fred jt., 1932; Красильников, 1949; Allen, Baldwin, 1954; Jensen, 1958; Smith, 1958; Manil, 1963; Graham, 1964). Paljud uurijad on avaldanud seisukohta, et *Rhizobium*'i liikide määramine ainult ökoloogilise omaduse põhjal (võime moodustada mügaraid teatud liblikõieliste juurtel) ei ole õigustatud ja sellele kriteeriumile tuginevat nomenklatuuri ei tohiks enam jätkata. Vastasel korral ei saaks mügaraid mittemoodustavaid bakteritüvesid arvata *Rhizobium*'i hulka, kuigi nad omavad kõiki nende morfoloogilisi, biokeemilisi ja füsioloogilisi tunnuseid. Sellisteks bakteriteks võivad olla avirulentseid *Rhizobium*'i tüved. Mügarbakterid ei asusta aga ainult liblikõieliste juuri, vaid neid eluneb mullas ka vabalt. Arvatakse isegi, et liblikõieliste taimede asustamine *Rhizobium*'i poolt on mittespetsiifiline (Rippel-Baldes, 1952; Jakob, 1953).

Palju olulisemad ning määravamad, võrreldes ökoloogiliste tunnustega, on mikroorganismide seesmised, füsioloogilised ja biokeemilised tunnused. Üheks võimalikuks klassifikatsioonilise tähtsusega biokeemiliseks tunnuseks bakteritel on süsivesikute fermenteerimise võime.

Süsivesikute fermentatsiooni *Rhizobium*'i tüvede poolt on uuritud 40 aasta jooksul (Müller, Stapp, 1925; Baldwin, Fred, 1927; Conklin, 1936; Georgi, Ettinger, 1941; E. Allen, O. Allen, 1950; Manninger, 1962; Norris, 1965). Osa autorite arvates on kõige suurem happe produtseerimise võime *Rhizobium meliloti* hulka kuuluvatel tüvedel, teiste järgi aga neil tüvedel, mille peremeestaimed kuuluvad *Loteae* või *Vicieae* triibustesse. Erinevaid andmeid on toodud selle kohta, kuidas *Rhizobium*'i tüved kasutavad arabiinooosi ja dultsiiti. E. Manningeri (1962) teatel ei lõhustanud neid ükski uuritud *Rhizobium*'i tüvi, O. R. Neal ja R. H. Walker (1935) ning M. E. Conklin (1936) on avaldanud vastupidiseid tulemusi.

Üks huvipakkuvamaid süsivesikute fermentatsiooni käsitlevaid töid on D. O. Norrisi (1965) uurimus. Tema andmetel on süsivesikute fermenteermine *Rhizobium*'i tüvede poolt seotud liblikõieliste taimede evolutsioonilise arenemisega. Need mügarbakteri tüved, mille peremeestaimed kuuluvad füsioloogiliselt noorematesse triibustesse, on happe moodustajad vastandina neile tüvedele, mis süsivesikute fermentatsioonil moodustavad aluselise reaktsiooni ja on isoleeritud kõige primitiivsematelt ning morfoloogiliselt kõige vähem spetsialiseerunud liblikõielistelt.

Kõikidest eespool nimetatud uurimustest ilmneb, et *Rhizobium* kasutab paljusid süsinikuühendeid, kuid nende kasutatavuses on väga erinevaid seisukohti nii kaasajal kui ka varasemates töödes.

Käesoleva uurimistööga püüti välja selgitada, missugused fermentatiivsed omadused on meie poolt isoleeritud mügarbakteritüvedel (Pärsim, 1966) ja kas nende põhjal poleks võimalik teha ettepanekuid senise tüvede klassifikatsiooni parandamiseks, seda enam et see ei paku üksnes teoreetilist huvi, vaid peale taksonoomilise tähtsuse on lihtne kättesaadav identifikatsioon abiks ka töötajatele, kes tegelevad nitragiini tootmisega.

Materjal ja meetodika

Uuriti 38 *Rhizobium*'i tüve (vt. tabel 1), millest 33 oli eraldanud autor (Pärsim, 1966) Eesti NSV erinevates rajoonides kasvavatelt liblikoelistelt. Peale nende kasutati *Genista*, *Ornithopus*'e, *Trigonella*, *Lens*'i ja *Soja* mügaratest eraldatud *Rhizobium*'i puhaskultuure, mis saadi Üleliidulisest Põllumajandusliku Mikrobioloogia TU Instituudist N. Lazareva kogust. Uuritud tüvede näol olid esindatud kõik Bergey' ja Krassilnikovi määrajates toodud *Rhizobium*'i liigid. Tüvesid, mille liigilise kuuluvuse kohta neis määrajates andmed puudusid, nimetati vastavate peremeestaimede järgi, millelt nad eraldati.

Rhizobium'i tüved isoleeriti täiskasvanud taimede tervetest juuremügaratest O. N. Alleni (1953) meetodika järgi ja kontrolliti nende valikulise reinokuleerimise teel vastavatele peremeestaimedele, mida pärast seda kasvatati laboratooriumis kunstlikul valguses 8—12 nädalat, s. o. kuni mügarate moodustumiseni.

Rhizobium'i tüvede fermenteerivat võimet süsivesikute suhtes uuriti 10 süsivesikul: 3 monosahhariidil (arabinoos, glükoos, galaktoos), 3 disahhariidil (sahharoos, laktoos, maltoos) ja 4 mitmealuselisel alkoholil (manniit, sorbiit, inosiit, dulsiit).

Katsed tehti nii tard- (I seeria) kui ka vedelsöötmel (II seeria).

Põhisöötme koostis (1 liitri destilleeritud vee kohta) oli järgmine: K_2HPO_4 — 0,5 g; $MgSO_4$ — 0,2 g; NaCl — 0,1 g; $FeCl_3$ — jäljed; pärmivesi — 30 ml; mikroelementide segu M. Fjodorovi (Федоров, 1951) järgi — 1 ml. Süsivesikuid lisati põhisöötmele nii, et iga variant sisaldaks uuritavat süsinikuühendit 0,05 gramm-mooli liitri kohta.

I katseseerias uuriti mügarbakteritest tingitud muutusi keskkonna reaktsioonis ja nende seaduspärasusi kaheksa nädala jooksul. Selleks lisati eespool loetletud söötmevariantidele 1 liitri kohta 15 g agar-agarit ja 10 ml 0,5%-list broomtümoolsinise piirituslahust. Saadud «keskkondi» võeti neljas korduses à 10 ml katseklaasidesse ja steriliseeriti autoklaavis 30 min. 50 kN/m² juures. Kolme- (kiiresti kasvavad) ja viiepäevased (aeglaselt kasvavad) *Rhizobium*'i puhaskultuurid külvasi katseklaasidesse kaldagarile. Külve hoiti termostaadis 28° C temperatuuris. Vaatlused toimusid kahel esimesel nädalal iga kahe päeva tagant, hiljem kolme ja viie päeva tagant. Muutused keskkonna reaktsioonis registreeriti indikaatori värvusastme alusel 9-pallilises süsteemis.

II katseseerias mõõdeti süsivesikute fermentatsioonil tekkinud hapete hulki. Selleks asetati igast söötmevariantist (indikaatorita ja agar-agarita) 50 ml kolmes korduses Erlenmeyeri kolbi ja steriliseeriti autoklaavis 30 min. 50 kN/m² juures. Seejärel külvasi igasse kolbi 1 ml *Rhizobium*'i puhaskultuure. Et kõik kolvid sisaldaksid võimalikult ühepalju bakterirakke, selleks kasvatati bakterite emakultuurid ja vahetult enne infitseerimist määrati neis nefelomeetri ning Gorjajevi kambri abil bakterite tiiter. Kolvid külvidega asetati kaheks nädalaks termostaati 28° temperatuuri. Seejärel määrati tekkinud hapete hulk potentsiomeetrilisel tiitrimisel 0,01N NaOH-lahusega.

Kontrollina kasutati kummaski katseseerias, niisamuti neljas ja kolmes korduses, vastavaid infitseerimata söötmevariante.

Katsetulemused töödeldi statistiliselt. Ühtlasi tehti dispersioonanalüüs. Erinevusi keskmiste vahel võrreldi Duncani testiga (Weber, 1961).

Hapete moodustumine süsivesikute fermenteerimisel *Rhizobium*'i tüvede poolt**

<i>Rhizobium</i> 'i tüved		Süsivesikud		Monosahhariidid		Disahhariidid		Mitmealuselised alkoholid			Keskmine	
Peremeestaim	<i>Rhizobium</i> 'i liik	Glükoos	Galaktoos	Arabiinooos	Sahharoos	Maltoos	Laktoos	Manniit	Inosiit	Sorbiit	Tüvel	Liigitl
1. <i>Vicia sylvatica</i>	<i>Rh. leguminosarum</i>	83,0±3,4	111,7±5,1	126,3±13,8	73,1±4,3	28,7±11,4	41,5±1,6	72,6±3,9	2,8±5,1	8,0±10,6	60,9±11,3	
2. <i>V. sativa</i>		66,8±3,3	67,5±3,3	91,6±3,0	39,3±3,6	69,6±2,0	77,9±2,7	85,9±2,1	17,8±4,2	30,0±6,0	61,2±11,3	
3. <i>V. cracca</i>		39,0±13,7	45,0±3,3	34,5±3,5	37,8±10,4	18,6±3,5	30,3±2,4	34,5±3,7	21,6±4,8	35,1±7,9	32,9±11,3	
4. <i>V. septium</i>		67,0±7,3	54,1±9,7	51,2±22,7	53,1±1,4	14,9±2,6	45,5±12,9	51,2±6,1	7,9±5,3	24,4±7,6	41,6±11,3	
5. <i>V. faba</i>		16,8±1,9	2,7±1,5	20,9±2,1	22,5±1,9	17,3±1,3	22,8±0,8	20,9±4,4	19,5±2,8	17,4±2,7	17,9±11,3	
6. <i>V. cassubica</i> *		47,9±2,1	64,4±14,9	33,7±8,2	39,6±2,6	40,9±20,3	25,1±4,0	25,0±2,9	18,2±5,7	23,1±3,2	33,8±11,3	
7. <i>Lathyrus vernus</i> *		38,3±8,6	37,6±5,3	37,6±2,8	42,5±1,7	26,0±2,5	30,1±2,4	29,7±1,6	6,6±2,9	20,2±5,2	29,9±11,3	
8. <i>L. niger</i>		83,4±13,2	102,8±4,7	87,7±8,0	96,6±2,4	49,5±9,4	75,0±19,5	23,1±7,6	22,2±10,7	22,2±10,7	62,9±11,3	
9. <i>L. pisiformis</i> *		41,9±2,5	36,3±4,1	42,9±2,4	27,0±24,9	35,3±1,5	44,8±1,1	17,8±2,2	17,8±4,1	35,8±5,7	33,3±11,3	
10. <i>L. sylvestris</i>		42,4±7,3	51,5±1,7	72,8±1,9	88,9±2,2	29,2±3,4	25,1±7,0	10,2±2,2	10,2±4,1	1,1±3,5	36,8±11,3	
11. <i>L. patustris</i>		44,6±2,3	45,8±1,9	44,5±3,5	43,3±3,2	21,9±3,6	27,4±6,6	23,4±2,4	36,9±3,8	28,9±5,5	36,4±11,3	
12. <i>Lens culinaris</i>		30,8±3,2	1,8±2,5	28,2±2,6	37,4±1,8	22,4±2,4	25,7±3,9	36,1±2,6	10,3±11,0	3,7±4,2	21,9±11,3	
13. <i>Pisum sativum</i>		25,5±3,8	12,9±3,2	63,3±4,0	31,8±5,8	11,7±3,4	33,0±1,3	40,2±2,2	28,8±5,1	28,2±8,5	30,6±11,3	38,6±3,1
14. <i>Trifolium arvense</i>	<i>Rh. trifolii</i>	24,2±0,9	37,4±6,2	22,4±2,3	10,3±1,5	15,8±2,3	26,2±2,6	20,7±13,7	26,4±9,5	8,3±3,5	21,9±11,3	
15. <i>T. alpestre</i>		86,2±1,6	104,7±7,3	101,8±16,1	90,5±3,5	42,0±5,7	60,8±6,6	80,6±8,3	38,2±8,9	21,2±20,5	69,8±11,3	
16. <i>T. spadicum</i> *		27,1±4,3	31,2±2,2	29,7±2,9	37,8±0,9	25,3±2,5	32,6±1,2	37,0±3,7	32,2±3,2	29,7±4,3	30,7±11,3	
17. <i>T. pratense</i>		25,0±2,7	22,6±2,3	19,8±2,2	29,3±1,6	17,9±1,4	31,4±0,9	31,1±1,4	30,0±3,3	33,0±4,0	26,7±11,3	
18. <i>T. hybridum</i>		30,0±3,6	24,4±9,0	40,1±3,2	39,3±1,1	16,8±3,9	53,3±4,9	17,8±2,0	9,9±4,4	31,7±5,8	29,3±11,3	
19. <i>T. medium</i>		28,8±2,7	10,4±14,0	24,5±2,6	38,0±4,5	28,1±1,4	29,7±1,4	37,2±3,5	23,8±3,5	29,5±5,9	27,8±11,3	40,2±4,3
20. <i>T. fragiferum</i> *		90,8±10,6	104,0±12,4	114,4±6,4	96,3±7,7	77,0±8,6	68,7±17,7	84,2±4,3	19,3±8,9	25,3±12,4	75,6±11,3	
21. <i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Rh. phaseoli</i>	78,7±9,1	147,6±21,2	68,8±5,3	17,4±10,4	3,3±10,8	59,9±25,0	6,6±4,4	9,9±4,9	14,6±8,5	45,2±11,3	48,2±11,3
22. <i>Medicago falcata</i>		21,9±10,0	39,8±15,7	10,3±8,7	23,5±2,9	5,2±7,9	14,4±8,0	42,1±6,1	13,8±12,6	13,1±11,7	20,5±11,3	
23. <i>M. sativa</i>		21,3±2,1	18,8±11,9	17,5±6,6	20,5±1,3	15,1±11,7	23,3±2,1	25,6±2,0	16,7±2,8	24,9±3,8	20,4±11,3	
24. <i>M. lupulina</i> *		25,3±5,4	11,0±2,3	18,0±2,9	12,3±0,9	6,6±1,1	7,9±2,1	20,9±3,4	18,9±4,8	19,4±5,0	15,6±11,3	
25. <i>Melilotus albus</i>		24,5±4,6	26,8±2,3	17,3±2,3	17,5±3,9	13,6±4,6	23,5±10,5	21,5±2,7	9,3±3,3	18,4±4,8	19,2±11,3	
26. <i>M. dentatus</i>		83,4±4,9	91,0±3,9	85,8±3,3	91,0±3,9	53,3±2,7	63,6±6,0	91,9±7,5	27,8±5,0	39,1±6,4	69,7±11,3	
27. <i>Trigonella</i>		18,7±1,7	19,5±2,0	13,9±1,7	11,6±1,1	11,1±1,1	22,6±1,3	16,3±1,0	6,3±2,3	9,8±3,3	13,8±11,3	26,5±4,7
28. <i>Onobrychis viciifolia</i>	<i>Rh. simplicr</i>	34,7±5,3	25,9±1,4	16,2±1,7	40,7±0,7	24,5±1,6	25,0±1,0	41,5±1,4	38,5±0,6	38,0±3,2	31,7±11,3	31,7±11,3
29. <i>Lotus corniculatus</i> *	<i>Rh. ?</i>	17,8±4,4	9,9±2,6	22,0±3,1	18,9±3,9	10,3±3,4	7,5±4,2	22,2±2,3	13,9±3,6	15,6±5,4	15,3±11,3	15,3±11,3
30. <i>Anthyllus vulneraria</i> *	<i>Rh. ?</i>	15,3±1,2	13,5±4,6	19,9±1,3	16,1±1,5	10,5±2,5	8,4±0,7	18,0±1,6	11,3±2,4	14,9±2,8	14,2±11,3	14,2±11,3
31. <i>Tetragonolobus siliquosus</i> *	<i>Rh. ?</i>	24,6±2,4	23,9±1,1	31,4±1,6	12,2±1,0	20,8±1,2	18,6±0,6	18,6±1,0	16,0±1,9	13,5±2,8	21,2±11,3	21,2±11,3
32. <i>Oxytropis pilosa</i> *	<i>Rh. ?</i>	75,9±9,1	83,0±6,1	84,4±5,4	81,6±9,0	66,5±17,1	83,0±3,4	83,0±7,9	9,4±7,3	34,4±10,7	66,9±11,3	66,9±11,3
33. <i>Astragalus danicus</i> *	<i>Rh. ?</i>	112,8±1,3	91,9±6,7	86,6±6,4	107,8±2,0	55,6±2,1	55,8±4,8	77,6±2,0	36,9±4,6	23,4±6,2	72,0±11,3	72,0±11,3
34. <i>Ononis repens</i> *	<i>Rh. ?</i>	28,0±2,1	19,6±1,6	27,2±1,9	32,8±2,0	-2,3±2,0	14,5±1,2	32,5±2,4	26,1±3,8	26,3±4,4	22,7±11,3	22,7±11,3
35. <i>Lupinus luteus</i>	<i>Rh. lupini</i>	16,8±3,7	13,5±3,6	2,7±4,0	-14,4±15,2	-31,6±13,6	45,6±7,7	28,5±6,4	-30,0±4,0	-16,2±11,6	-8,5±11,3	-8,5±11,3
36. <i>Ornithopus sativus</i>		7,0±4,4	14,4±8,3	10,5±2,2	-10,0±5,1	-26,0±3,1	-30,4±13,6	13,8±1,8	-12,9±6,0	-15,5±2,8	-5,6±11,3	-7,0±8,0
37. <i>Soja hispida</i>	<i>Rh. japonicum</i>	-19,7±3,4	1,5±3,0	15,3±4,5	-10,3±6,0	-30,3±9,2	-37,8±4,5	16,5±2,3	-25,8±3,1	-22,8±5,2	-12,6±11,3	-12,6±11,3
38. <i>Genista</i>	<i>Rh. ?</i>	23,9±6,1	10,5±2,8	7,2±3,3	-14,5±14,3	-56,6±6,0	-38,4±4,8	24,8±3,0	-29,0±6,6	-32,3±2,7	-11,6±11,3	-11,6±11,3
	Keskmine	40,9±5,6	42,9±5,6	43,2±5,6	37,7±5,6	20,0±5,6	28,6±5,6	36,7±5,6	14,7±5,6	17,7±5,6	31,4±1,9	
			42,3±3,2			28,8±3,2			23,0±3,2			

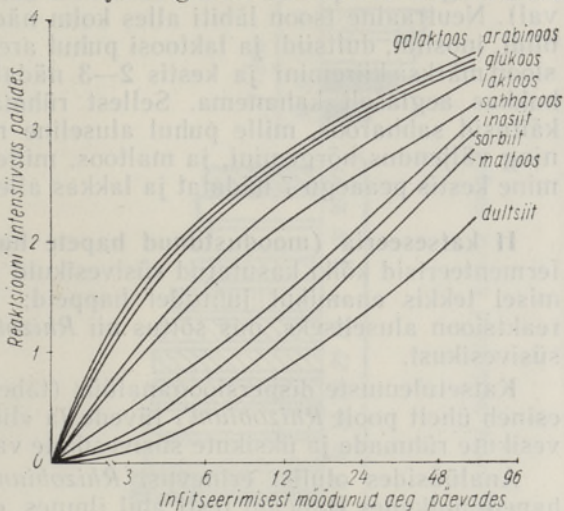
* Reinokuleeritud tüved.

** Kahe nädala jooksul vedeldõõtes moodustunud happe hulk (µg-ekv. 1 mlj. külvatud bakteriraku kohta).

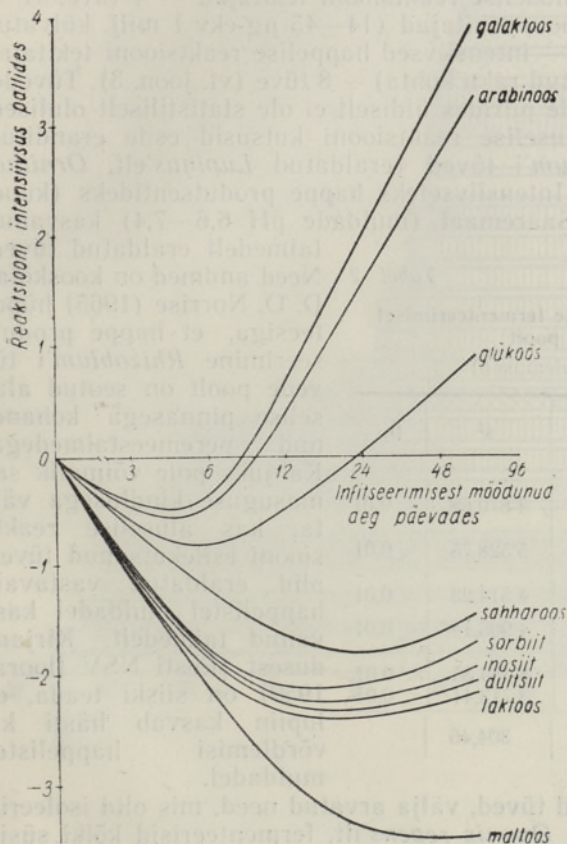
Katsete tulemused ja nende arutelu

I katseseeria (hapete moodustumise dünaamika). Kõikide *Rhizobium*'i tüvede puhul kõikides söötmevariantides täheldati pidevat keskkonna reaktsiooni muutumist, kusjuures kiiresti ja aeglaselt kasvavad bakteritüved

Joon. 1. Keskkonna reaktsiooni muutumine süsivesikute fermenteerimisel kiiresti kasvavate *Rhizobium*'i tüvede poolt. Kõverad joonistel 1–2 on tasandatud libiseva keskmise meetodiga (Урбан, 1963).



käitused erinevalt. Kiiresti kasvavate *Rhizobium*'i tüvede puhul muutus keskkonna reaktsioon happeliseks. See protsess süvenes pidevalt; tema dünaamika sõltus kasutatud süsivesikust (joon. 1). Kõige kõrgem oli happelisus galaktoosi, arabiinoois ja



glükoosi puhul; tõus oli kiireim katse algul (esimese kahe nädala jooksul), hiljem see pidevalt aeglustus. Happelisuse astmelt ning kasvu kiiruselt vahepealse rühma moodustasid laktoos ja sahharoos. Märksa väheemat happelisust registreeriti inosiidi, sorbiidi, maltoosi ja dultsiidi puhul, kusjuures selle kasvu dünaamika katse vältel on erinev: keskkonna happelisuse kasv katse algul oli märgatavalt aeglasem, katse lõpul aga kiireim, võrreldes teiste suhkrute rühmadega.

Aeglaselt kasvavate *Rhizobium*'i tüvede puhul muutus keskkonna reaktsioon algul aluselises suunas (joon. 2), hiljem ilm-

Joon. 2. Keskkonna reaktsiooni muutumine süsivesikute fermenteerimisel aeglaselt kasvavate *Rhizobium*'i tüvede poolt.

nes selles erinevusi, olenevalt kasutatud süsivesikust. Galaktoos ja arabiinoo kutsusid esile aeglaselt kulgeva aluselise reaktsiooni, mis 4—5 päeva pärast tegi pöörde happelisuse suunas, läbis 9.—10. päeval neutraalsuspunkti ja edaspidi kasvas happelisuse suunas proportsionaalselt aja logaritmiga. Analoozilist keskkonna reaktsiooni muutumise dünaamikat täheleandati ka glükoosi puhul, kuid reaktsiooni suund muutus hiljem (6.—7. päeval). Neutraalne tsoon läbiti alles kolm nädalat pärast katse algust. Sorbiidi, inosiidi, dultsiidi ja laktoosi puhul arenes keskkonna aluseline reaktsioon märksa kiiremini ja kestis 2—3 nädalat, misjärel selle intensiivsus hakkas aeglaselt kahanema. Sellest rühmast teataval määral erinevalt käitusid sahharoos, mille puhul aluseline reaktsioon kasvas aeglasemalt ning väljendus nõrgemini, ja maltoos, mille puhul aluselise suuna aremine kestis peaaegu 7 nädalat ja lakkas alles enne katse lõppu.

II katseseeria (moodustunud hapete hulga määramine). Kõik tüved fermenteerisid kõiki kasutatud süsivesikuid (vt. tabel 1). Viimaste lagunemisel tekkis enamikul juhtudel happeid; harvemini muutus keskkonna reaktsioon aluseliseks, mis sõltus nii *Rhizobium*'i tüvest kui ka kasutatud süsivesikust.

Katsetulemuste dispersioonanalüüs (tabel 2) näitas, et olulisi erinevusi esineb ühelt poolt *Rhizobium*'i tüvede ja «liikide» vahel, teiselt poolt süsivesikute rühmade ja üksikute süsivesikute vahel.

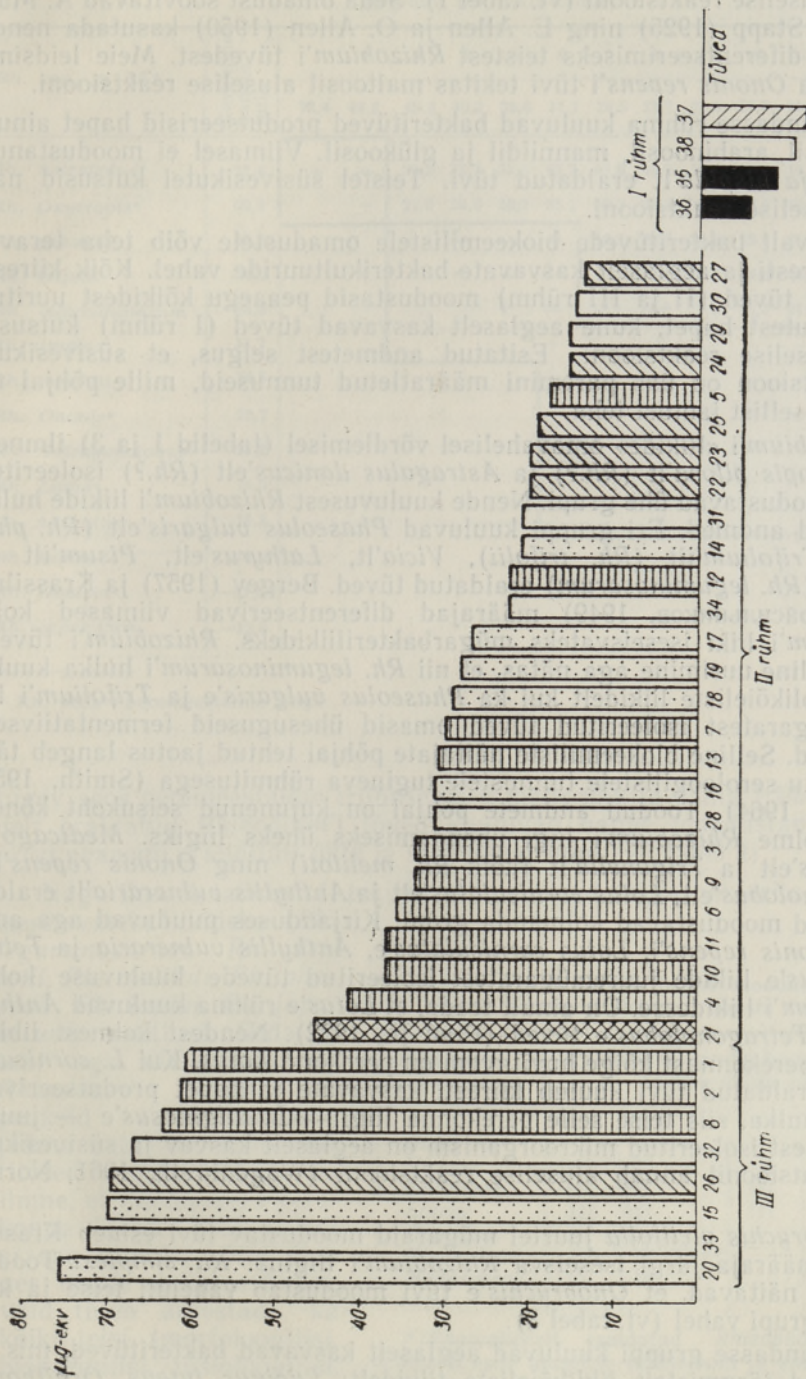
Analüüsides olulisi erinevusi *Rhizobium*'i tüvede poolt moodustatud hapete hulkades Duncani testi abil ilmnas, et kõik *Rhizobium*'i tüved võib jagada kolme rühma: I — aluselise reaktsiooni tekitajad — 4 tüve; II — mõõdukad happelise reaktsiooni tekitajad (14—45 µg-ekv 1 milj. külvatud raku kohta) — 26 tüve; III — intensiivsed happelise reaktsiooni tekitajad (60—75 µg-ekv 1 milj. külvatud raku kohta) — 8 tüve (vt. joon. 3). Tüvedevahelised erinevused rühmade piirides üldiselt ei ole statistiliselt olulised. On huvitav märkida, et aluselise reaktsiooni kutsusid esile eranditult aeglaselt kasvavad *Rhizobium*'i tüved (eraldatud *Lupinus*'elt, *Ornithopus*'elt, *Genista*'lt, *Soja*'lt). Intensiivseteks happe produktentideks (kuuel juhul kaheksast) osutusid Saaremaal (muldade pH 6,6—7,4) kasvanud taimedelt eraldatud tüved.

Tabel 2 Need andmed on kooskõlas D. O. Norrise (1965) hüpoteesiga, et happe produktseerimine *Rhizobium*'i tüvede poolt on seotud aluselise pinnasega kohanevad peremeestaimedega. Kahjuks pole võimalik samasuguse kindlusega väita, kas aluselise reaktsiooni esilekutsunud tüved olid eraldatud vastavalt happelistel muldadel kasvanud taimedelt. Kirjandusest (Eesti NSV flora, 1959) on siiski teada, et lupiin kasvab hästi ka võrdlemisi happelistel muldadel.

Hapete moodustumine süsivesikute fermenteerimisel *Rhizobium*'i tüvede poolt
(dispersioonanalüüsi tulemused)

Varieeruvuse allikas	f	s ²	β _F
<i>Rhizobium</i> 'i tüved	37	4 870,68	< 0,01
Sellest:			
<i>Rhizobium</i> 'i «liigid»	13	5 528,75	< 0,01
<i>Rhizobium</i> 'i tüved «liikide» sees	24	4 514,23	< 0,01
Süsivesikud	8	4 906,14	< 0,01
Sellest:			
süsivesikute rühmad	2	8 484,35	< 0,01
süsivesikud rühmade sees	6	3 713,41	< 0,01
J ä ä k	296	304,46	

Kõik teise rühma kuuluvad tüved, välja arvatud need, mis olid isoleeritud *Phaseolus vulgaris*'elt ja *Ononis repens*'ilt, fermenteerisid kõiki süsi-



Joon. 3. Erinevate *Rhizobium*'i tüvede mõjul moodustunud keskmised hapete hulgid.

vesikuid, kutsudes esile happelise reaktsiooni. Meie katsetulemuste põhjal võis *Phaseolus vulgaris*'elt eraldatud tüvi maltoosil tekitada nii happelise kui ka aluselise reaktsiooni (vt. tabel 1). Seda omadust soovivad A. Müller ja C. Stapp (1925) ning E. Allen ja O. Allen (1950) kasutada nende bakterite diferentseerimiseks teistest *Rhizobium*'i tüvedest. Meie leidsime aga, et ka *Ononis repens*'i tüvi tekitas maltoosil aluselise reaktsiooni.

Kolmandasse rühma kuuluvad bakteritüved produtseerisid hapet ainult galaktoosil, arabinoosil, manniidil ja glükoosil. Viimasel ei moodustanud hapet *Soja hispida*'lt eraldatud tüvi. Teistel süsivesikutel kutsusid nad esile aluselise reaktsiooni.

Vastavalt bakteritüvede biokeemilistele omadustele võib teha teravat vahet kiiresti ja aeglaselt kasvavate bakterikultuuride vahel. Kõik kiiresti kasvavad tüved (II ja III rühm) moodustasid peaaegu kõikidest uuritud süsivesikutest hapet, kuna aeglaselt kasvavad tüved (I rühm) kutsusid esile aluselise reaktsiooni. Esitatud andmetest selgus, et süsivesikute fermentatsioon on üks paremini määratletud tunnuseid, mille põhjal on võimalik sellist jaotust teha.

Rhizobium'i «liikide» omavahelisel võrdlemisel (tabelid 1 ja 3) ilmneb, et *Oxytropis pilosa*'lt (*Rh.?*) ja *Astragalus danicus*'elt (*Rh.?*) isoleeritud tüved moodustavad ühe grupi. Nende kuuluvusest *Rhizobium*'i liikide hulka puuduvad andmed. Eri gruppi kuuluvad *Phaseolus vulgaris*'elt (*Rh. phaseoli*), *Trifolium*'ilt (*Rh. trifolii*), *Vicia*'lt, *Lathyrus*'elt, *Pisum*'ilt ja *Lens*'ilt (*Rh. leguminosarum*) eraldatud tüved. Bergey (1957) ja Krassilnikovi (Красильников, 1949) määravad diferentseerivad viimased kolm *Rhizobium*'i liiki iseseisvateks mügarbakteriliikideks. *Rhizobium*'i tüvede biokeemiline uurimine aga nätas, et nii *Rh. leguminosarum*'i hulka kuuluvatelt liblikõieliste liikidelt kui ka *Phaseolus vulgaris*'e ja *Trifolium*'i liikide mügaratest isoleeritud tüved omasid ühesuguseid fermentatiivseid tunnuseid. Selline biokeemiliste näitajate põhjal tehtud jaotus langeb täpselt kokku seroloogilistele tunnustele tugineva rühmitusega (Smith, 1958; Graham, 1964). Toodud andmete põhjal on kujunenud seisukoht kõnesoleva kolme *Rhizobium*'i liigi ühendamiseks üheks liigiks. *Medicago*'lt, *Melilotus*'elt ja *Trigonella*'lt (kõik *Rh. meliloti*) ning *Ononis repens*'ilt, *Tetragonolobus*'elt, *Lotus corniculatus*'elt ja *Anthyllis vulneraria*'lt eraldatud tüved moodustavad kolmanda grupi. Kirjanduses puuduvad aga andmed *Ononis repens*'i, *Lotus corniculatus*'e, *Anthyllis vulneraria* ja *Tetragonolobus*'e liikide juuremügaratest isoleeritud tüvede kuuluvuse kohta *Rhizobium*'i liikidesse. On ainult teada, et *Lotus*'e rühma kuuluvad *Anthyllis*'e ja *Tetragonolobus*'e tüved (Fred jt., 1932). Nendest kolmest liblikõieliste perekonnast kõige huvitavam on perekond *Lotus*. Kui *L. corniculatus*'elt eraldatud tüvi kuulub kiiresti kasvavate ja hapet produtseerivate tüvede hulka, siis teise selle perekonna liigi — *L. uliginosus*'e — juuremügaratest isoleeritud mikroorganism on aeglaselt kasvav ja süsivesikute fermentatsioonil annab aluselise reaktsiooni (Wagenbreth, 1961; Norris, 1965).

Onobrychis viciifolia juurtel mügaraid moodustav tüvi esineb Krassilnikovi määraja järgi iseseisva *Rhizobium*'i liigina: *Rh. simplex*. Toodud andmed näitavad, et *Onobrychis*'e tüvi moodustab vahelüli teise ja kolmanda grupi vahel (vt. tabel 3).

Neljandasse gruppi kuuluvad aeglaselt kasvavad bakteritüved, mis on eraldatud järgmistelt liblikõieliste liikidelt: *Lupinus luteus*, *Ornithopus sativus* (*Rh. lupini*); *Soja hispida* (*Rh. japonicum*) ja *Genista* (*Rh.?*).

Analüüsides *Rhizobium*'i liikide jagunemist mistahes grupis happe moodustamise keskmise võime järgi eri süsivesikutel ilmneb, et sellel on

Tabel 3

Statistiliselt olulised erinevused *Rhizobium*'i «liikide» vahel süsivesikute fermentatsioonil moodustunud keskmise hapete hulga järgi ($\mu\text{g-ekv } 10^6$ raku kohta)

Rh. spp. ja Rh?	Keskmine hapete hulk														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
		72,4	66,8	45,2	40,2	38,6	31,7	26,5	22,7	21,2	15,3	14,2	-7,0	-11,6	-12,6
1. Rh. Astragalus*	72,4	+	-	27,2	32,2	33,8	40,7	45,9	49,7	51,2	57,1	58,2	77,4	84,0	85,0
2. Rh. Oxytropis*	66,8		+	21,6	26,6	28,2	35,1	40,3	44,1	45,6	51,5	52,6	73,8	88,4	89,4
3. Rh. phaseoli	45,2			+	-	-	-	18,7	22,5	24,0	29,9	31,0	52,2	56,8	57,8
4. Rh. trifolii	40,2				+	-	-	13,7	17,5	19,0	24,9	26,0	47,2	51,8	52,8
5. Rh. leguminosarum	38,6					+	-	12,1	15,9	17,4	23,3	24,4	45,6	50,2	51,2
6. Rh. simplex	31,7						+	-	-	-	-	-	38,7	43,3	44,3
7. Rh. meliloti	26,5							+	-	-	-	-	33,5	38,1	39,1
8. Rh. Ononis*	22,7								+	-	-	-	29,7	34,3	35,3
9. Rh. Tetragonolobus*	21,2									+	-	-	28,2	32,8	33,8
10. Rh. Lotus*	15,3										+	-	22,3	26,9	27,9
11. Rh. Anthyllis*	14,2											+	21,2	25,8	26,8
12. Rh. lupini	-7,0													+	-
13. Rh. Genista*	-11,6														+
14. Rh. japonicum	-12,6														+

* Rh. «liik» peremeestaime järgi.

tugev seos peremeestaime triibusega, nimelt: ühe ja sama triibuse taime-delt eraldatud *Rhizobium*'i tüved kuuluvad happe moodustamise võime järgi peaaegu eranditult ühte ja samasse gruppi (vt. tabel 4).

Nagu ilmneb tabelist 4, tekitavad tulemused mügarbakterite jaotumisel iseseisvateks liikideks (*Rh. leguminosarum*, *Rh. trifolii*, *Rh. meliloti*, *Rh. phaseoli*, *Rh. lupini*, *Rh. japonicum*) kahtlust. Seda ei tohi aga nii mõista, et *Rhizobium*'i liigitamisel peaksid põhitunnuseks jääma bakterite fermentatiivsed tunnused. Kuid on ilmne, et *Rhizobium*'i perekonna liikide määramisel ei saa aluseks võtta üksnes nende nakatusvõimet, vaid tuleb arvestada ka kõiki teisi (morfoloogilisi, biokeemilisi, füsioloogilisi, seroloogilisi jne.) omadusi.

Mõnede uurijate (Geor-

Tabel 4

Seos *Rhizobium*'i tüvede happe moodustamise võime ja peremeestaime triibuste vahel

Peremees-taime triibus	<i>Rhizobium</i> 'i grupp happe moodus-tamise võime järgi				
1. Galegeae	I	I			
2. Viciae	II	II			
3. Trifolieae	III	III	II	II	II
Loteae	III	III	III		
4. Genisteeae	IV	IV			
Phaseoleae	IV	II (IV)*			
Hedysareae	IV	II			

* *Phaseolus*'elt eraldatud *Rhizobium* kutsub enamasti esile aluselise reaktsiooni ja kuulub seega neljandasse gruppi. Kõnesolev tüvi eraldati *Phaseolus vulgaris*'elt. See on üks vähesed erandeid, kus *Rhizobium* moodustab hapet; seetõttu sattus ta teise gruppi.

gi, Ettinger, 1941) arvates fermenteeritakse mono- ja disahhariide koos happe moodustamisega märksa kergemini kui tri- või polüsahhariide. Ükski bakteritüvi pole aga võimeline produtseerima hapet dekstriinil. Dekstriini soovitavad nad testiks *Agrobacterium radiobacter*'i eraldamisel *Rhizobium*'ist, kuna kulturaalsete omaduste poolest nende eraldamine teineteisest on peaaegu võimatu.

Tabel 5

Statistiliselt olulised erinevused süsivesikute vahel nende fermenteerimisel *Rhizobium*'i tüvede poolt moodustunud keskmise hapete hulga järgi ($\mu\text{g-ekv } 10^6$ raku kohta)

Süsivesikud	Keskmine hapete hulk	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		43,2	42,9	40,9	37,7	36,7	28,6	20,0	17,7	14,7
1. Arabinoos	43,2	+	-	-	-	-	14,6	23,2	25,5	28,5
2. Galaktoos	42,9		+	-	-	-	14,3	22,9	25,2	28,2
3. Glükoos	40,9			+	-	-	12,3	20,9	23,2	26,2
4. Sahharoos	37,7				+	-	9,1	17,7	20,0	23,0
5. Manniit	36,7					+	-	16,7	19,0	22,0
6. Laktoos	28,6						+	-	10,9	13,9
7. Maltoos	20,0							+	-	-
8. Sorbiit	17,7								+	-
9. Inosiit	14,7									+

Tabelis 5 esitatud andmed näitavad, et monosahhariididest fermenteeriti kõige paremini arabinoosi, galaktoosi ja glükoosi, disahhariididest — sahharoosi ja mitmealuselitest alkoholidest — manniiti. Laktoos moodustas iseseisva rühma. Kõige halvemini fermenteeriti maltoosi ning mitmealuselitest alkoholidest sorbiiti ja inosiiti. Erandi moodustas manniit, mida fermenteeriti niisama hästi kui monosahhariide ja sahharoosi.

Ka O. R. Neali ja R. H. Walkeri (1935) andmeil lõhustavad mügarbakterid galaktoosi ja arabinoosi paremini kui glükoosi ning viimast paremini kui manniiti, sahharoosi, laktoosi või maltoosi.

N. V. Joshi (1920) aga järeldas, et manniit on kõige paremaks süsinikuühendiks mügarbakteritele. Kuid J. Reid ja W. B. Sarles (1935) leidsid, et sahharoos ületab manniidi ning kõige sobivamaks süsivesikuks *Rhizobium*'ile on sahharoosi ja manniidi kombinatsioon.

Esitatust selgub, et *Rhizobium*'i tüved kasutavad mitmesuguseid süsinikuühendeid, kuid missuguseid ja kuidas, selles küsimuses ei ole veel ühtset seisukohta. Põhjuseks võib siin olla sageli liiga väheste bakteritüvede uurimine ja erinevad uurimismeetodid. Üheks suuremaks puuduseks, mis võis tulemusi moonutada, on ka see, et paljud uurijad on söötmes kasutanud kaltsiumkarbonaati. See võib aga tekkinud happeid neutraliseerida, nagu kinnitavad viimaste aastate uurimused (Norris, 1965). Ja lõpuks jäetakse põhiliselt kõrvale nende *Rhizobium*'i tüvede uurimine, mis ei paku agronoomilist huvi.

Tuleb siiski konstateerida, et bakterite juures on süsivesikute hüdrolüüsivõime klassifikatsioonilise tähtsusega tunnuseks ja liigi diagnostikas tuleb tingimata ära näidata uuritava vormi suhtumine eri suhkrutesse.

Järeldused

1. Kõik uuritud 38 *Rhizobium*'i tüve, mis olid eraldatud 20 perekonda kuuluvalt 38 liblikõielise liigilt, fermenteerisid kõiki katsetes kasutatud süsivesikuid (arabinoos, galaktoos, glükoos, manniit, sahharoos, laktoos, maltoos, sorbiit, inosiit, dultsiit). Fermentatsioonil võib tekkida kas happeline või aluseline reaktsioon.

2. Süsivesikute fermentatsioonil tekkiva keskkonnareaktsiooni ja selle muutumise dünaamika järgi jagunevad *Rhizobium*'i tüved kahte erinevasse rühma: 1) kiiresti kasvavad tüved (moodustavad süsivesikute lagundamisel happeid); 2) aeglaselt kasvavad tüved (kutsuvad esile aluselise reaktsiooni). Aeglaselt kasvavate tüvede poolt süsivesikute fermentatsioonil esilekutsutud aluseline keskkonna reaktsioon süvenes teatava aja (olenevalt süsivesikust), pidurdus siis ja muutus happeliseks (arabinoosi, galaktoosi ja glükoosi fermenteerimisel). Uuritud tüvedest kuulusid aeglaselt kasvavate hulka *Lupinus*'e, *Soja*, *Ornithopus*'e ja *Genista* juuremügaratest eraldatud tüved; kõik teised osutusid kiiresti kasvavateks.

3. Happe moodustumise intensiivsuse järgi süsivesikute lagundamisel jagunevad *Rhizobium*'i kiiresti kasvavad tüved kahte rühma: 1) mõõdukad (26 tüve — moodustavad kahe nädala jooksul 14—45 µg-ekv hapet 1 milj. bakteriraku kohta) ja 2) intensiivsed (8 tüve — moodustavad sama aja jooksul 60—75 µg-ekv hapet 1 milj. bakteriraku kohta).

4. *Rhizobium*'i traditsiooniline klassifikatsioon biokeemiliste omaduste järgi ei vasta süsivesikute fermenteerimisel tema tüvede tegelikule rühmitusele. Sama «liigi» tüvedest võib osa kuuluda mõõdukate, osa aga intensiivsete happe moodustajate rühma. Võrreldes keskmist happe moodustumise võimet *Rhizobium*'i eri «liikide» poolt ilmneb, et *Rh. phaseoli*, *Rh. trifolii* ja *Rh. leguminosarum* ei erine üksteisest, vaid moodustavad ühise grupi (keskmine hapete moodustumise võime 40 µg-ekv). Nendest vähem hapet produtseerivad *Rh. meliloti* tüved, mis koos *Ononis*'e, *Tetragonolobus*'e, *Lotus*'e ja *Anthyllis*'e tüvedega moodustavad teise grupi (keskmine hapete moodustumise võime 20 µg-ekv). Iseseisva kolmanda grupi moodustavad eriti intensiivsed *Astragalus*'e ja *Oxytropis*'e tüved (keskmine hapete moodustumise võime 70 µg-ekv). *Onobrychis viciifolia*'lt eraldatud tüvi moodustas vahepealse grupi esimese ja teise grupi vahel (keskmine hapete moodustumise võime 32 µg-ekv).

5. Happe moodustumise keskmise võime alusel ilmneb *Rhizobium*'i liikide rühmituse ja vastava peremeestaimetriibuse vahel tugev seos: ühe ja sama triibuse taimedelt eraldatud *Rhizobium*'i tüved kuuluvad happe moodustamise võime järgi peaaegu eranditult ühte ja samasse gruppi.

6. Hapete moodustumise intensiivsuse järgi jagunevad süsivesikud *Rhizobium*'i poolt lagundamisel kolme rühma (intensiivsuse kahanemise järjekorras): 1) arabinoos, galaktoos, glükoos, sahharoos, manniit; 2) laktoos; 3) maltoos, sorbiit, inosiit.

7. Bakterite juures on süsivesikute hüdrolüüsivõime taksonoomiliseks tunnuseks. Liigi diagnostikas tuleb tingimata ära näidata uuritava vormi suhtumine suhkrutesse.

KIRJANDUS

- Allen O. N., 1953. Experiments in Soil Bacteriology. Minneapolis, Minnesota, Burgess Publishing Co.
Allen E. A., Allen O. N., 1950. Biochemical and symbiotic properties of *Rhizobia*. Bacteriol. Revs 14 : 273.

- Allen O. N., Baldwin I. L., 1954. *Rhizobia-Legume* relationships. *Soil Sci.* **78** (6) : 415—427.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1957. Baltimore, Williams and Wilkins.
- Baldwin I. L., Fred E. B., 1927. Fermentation characters of the root nodule bacteria of the leguminosae. *Soil Sci.* **24** : 217—230.
- Conklin M. E., 1936. Studies of the root nodule organisms of certain wild legumes. *Soil. Sci.* **41** (3) : 167—185.
- Eesti NSV floora **3**, 1959. K. Eichwald, M. Kask, S. Talts, A. Vaga, E. Varep. Tallinn, ERK. (ENSV TA Zool. ja Bot. Inst.)
- Fred E. B., Baldwin J. L., McCoy E., 1932. *Root Nodule Bacteria and Leguminous Plants*. Madison, Univ. Wisconsin.
- Garman H., Didlake M., 1914. Six different species of nodule bacteria. *Ky. Agr. Exp. Sta. Bul.* **184** : 342—363.
- Georgi G. E., Ettinger J. M., 1941. Utilization of carbohydrates and sugar acids by the *Rhizobia*. *J. Bacteriol.* **41** : 323—339.
- Graham P. H., 1964. The application of computer techniques to the taxonomy of the root-nodule bacteria of legumes. *J. Gen. Microbiol.* **35** : 511—517.
- Jakob A., 1953. *Der Boden*. Berlin, Akademie Verlag.
- Jensen H. L., 1958. The classification of the *Rhizobia*. In: Hallsworth E. G., 1958. *Nutrition of the Legumes*. London, Scientific Publications.
- Joshi N. V., 1920. Studies on the root nodule organisms of the leguminous plants. *India Dept. Agr. Mem., Bact. Sect.* **1** : 247—276.
- Manil P., 1963. Les *Rhizobium* et la fixation symbiotique de l'azote. A propos de la taxonomie et la classification des *Rhizobium*. *Ann. Inst. Pasteur* **105** (1) : 19—45.
- Manninger E., 1962. Biochemical examination of *Rhizobium* strains. *Acta Microbiol. Acad. Scient. Hung.* **9** (3) : 219—225.
- Müller A., Stapp C., 1925. Beiträge zur Biologie der Leguminosenknöllchenbakterien mit besonderer Berücksichtigung ihrer Artverschiedenheit. *Arb. biol. Reichsanst. Länd- u. Forstw.* **14** (4) : 455—554.
- Neal O. R., Walker R. H., 1935. Physiological studies on *Rhizobium*. IV. Utilizations of carbonaceous materials. *J. Bacteriol.* **30** : 173—187.
- Norris D. O., 1965. Acid production by *Rhizobium*, a unifying concept. *Plant and Soil* **22** (2) : 143—166.
- Pärsim E., 1966. Mugarate esinemisest ja morfoloogiast Eestis kasvavatel liblikõielistel. *ENSV TA Toimet., Biol. Seeria* **15** (1) : 16—28.
- Reid J., Sarles W. B., 1935. Growth and longevity of *Rhizobia* on agar containing various energy sources. *J. Bacteriol.* **30** : 651.
- Rippel-Baldes A., 1952. *Grundriss der Mikrobiologie*. Berlin, Springer Verlag.
- Smith K. N., 1958. Bacteriology of the genus *Rhizobium*. In: Hallsworth E. G., 1958. *Nutrition of the Legumes*. London, Scientific Publications.
- Wagenbreth D., 1961. Ein Beitrag zur systematischen Einordnung der Knöllchenbakterien durch Bestimmung des relativen Basengehaltes ihrer Desoxyribonucleinsäuren. *Flora* **151** (2) : 219—30.
- Weber E., 1961. *Grundriss der biologischen Statistik*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag.
- Красильников Н. А., 1949. *Определитель бактерий и актиномицетов*. М.—Л.
- Урбах В. Ю., 1963. *Математическая статистика для биологов и медиков*. М., Изд. АН СССР.
- Федоров М. В., 1951. *Руководство к практическим занятиям по микробиологии*. М.

Э. ПЯРСИМ

ОБРАЗОВАНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ
УГЛЕВОДОВ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Резюме

Изучена способность ферментировать углеводы (галактозу, арабинозу, глюкозу, сахарозу, лактозу, мальтозу, инозит, сорбит, дульцит и маннит) у 38 штаммов клубеньковых бактерий, изолированных в большинстве автором от бобовых растений, как культурных, так и диких, растущих на территории Эстонской ССР (38 видов из 20 родов). Изучаемый углевод вводили в питательную среду в концентрации 0,05 моля на литр. После заражения бактериями пробы инкубировали при 28°C. Работа проведена в двух сериях.

В первой серии, посвященной изучению динамики кислотообразования при ферментации углеводов, к основной питательной среде добавляли еще агар-агар и бром-тимоловый синий. В течении восьми недель по изменению цвета и его интенсивности прослеживали изменение реакции среды.

Все изученные штаммы обладали способностью ферментировать все использованные углеводы, однако реакция среды, а также динамика ее изменения зависели как от штамма, так и от ферментируемого углевода. Все быстрорастущие штаммы образовали кислоты, количество которых возрастало приблизительно пропорционально логарифму времени, а все медленно растущие (из которых были изучены штаммы, изолированные от люпина, сои, сераделлы и генисты) давали щелочную реакцию, которая в начальный период инкубации увеличивалась, а затем в определенные сроки в зависимости от углевода остановилась, начала уменьшаться и в случае галактозы, арабинозы и глюкозы через 2—3 недели перешла даже в кислую, увеличиваясь пропорционально логарифму времени. При ферментации других углеводов щелочная реакция увеличивалась в течение трех недель, а затем начала медленно снижаться.

Во второй серии потенциометрическим титрованием с NaOH определяли количества органических кислот, образовавшиеся в течение двухнедельной ферментации. Дисперсионный анализ полученных данных и тест Дункана показали, что с точки зрения кислотообразования все быстрорастущие штаммы делятся на две группы: 1) интенсивные — 8 штаммов (образуют 60—75 мкг-экв на 10⁶ инокулированных клеток) и 2) умеренные — 26 штаммов (14—45 мкг-экв на 10⁶ клеток). Третью группу составляют четыре медленно растущих штамма, которые дают щелочную реакцию. При объединении штаммов в традиционные виды (по Бэджу) и сравнении этих «видов» по способности кислотообразования дисперсионный анализ выявил существование четырех групп: 1) *Rh. Astragalus* и *Rh. Oxytropis*; 2) *Rh. phaseoli*, *Rh. trifolii*, *Rh. leguminosarum*, *Rh. simplex*; 3) *Rh. meliloti*, *Rh. Ononis*, *Rh. Tetragonolobus*, *Rh. Lotus*, *Rh. Anthyllis* и 4) *Rh. lupini*, *Rh. Genista*, *Rh. japonicum*. Показано, что эти группы определенным образом коррелируют с трибами растений-хозяев клубеньковых бактерий.

Сравнение эффективности использования разных углеводов при их ферментации показало, что лучше всего используются арабиноза, галактоза, глюкоза, сахароза и маннит, значительно хуже — мальтоза, сорбит и инозит, в то время как лактоза занимает промежуточное положение между этими группами углеводов.

При обсуждении таксономического значения полученных данных делается вывод о неадекватности существующей классификации видов клубеньковых бактерий, так как ей противоречат основные биохимические свойства этих бактерий, а именно — их способность ферментировать углеводы.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
10/X 1966

E. PÄRSIM

ACID PRODUCTION BY FERMENTATION OF CARBOHYDRATES
BY RHIZOBIA

Summary

The acid production by fermentation of 10 carbohydrates and alcohols (galactose, arabinose, glucose, sucrose, lactose, maltose, mannitol, dulcitol, inositol, sorbitol) by 38 strains of *Rhizobia* isolated from 38 species of *Leguminosae* collected from several areas

