Գ ր ա կ VI (XIV) 1973 Выпуск VI (XVI)

УДК 577.158.16 : 576.3

Е. Н. Аввакумова, М. Г. Шамцян, М. В. Овсепян

Цитологические и цитохимические особенности клубеньковых бактерий в клубеньках при подавлении фотосинтеза у растения-хозяина

Изучение цитологических и цитохимических особенностей клубеньковых бактерий в клубеньках дало возможность выявить некоторые признаки, отличающие эффективные штаммы от неэффективных (Аввакумова, 1967; Аввакумова, Розанова, Шамцян, 1970). Развитие клубеньков и их азотфиксирующая активность во многом зависят от физиологического состояния растения-хозяина. Многие исследователи нашли зависимость между фотопериодом растений и азотфиксацией, а также накоплением гемоглобина и увеличением количества бактероидных форм в клубеньке (Heumann, 1952; Федоров, Успенская, 1955; Bonnier, Stronval, 1956; Michiels, 1960; Pate, 1961 и др).

Целью настоящей работы было выявить изменения цитологических и цитохимических признаков клубеньковых бактерий, коррелирующих с интенсивностью азотфиксации под влиянием подавления фотосинтеза у растения-хозяина.

Методика исследования

Исследовались клубеньковые бактерии клубеньков растений гороха, фасоли и сои. Растения выращивались в вегетационных условиях на стерильном песке. В песок вносилась питательная смесь по Гельригелю с уменьшенной дозой азота до 0,2% от нормы. Семена бобовых растений перед посевом инокулировались эффективными и неэффективными штаммами клубеньковых бактерий. В период бутонизации растения были лишены доступа света сроком от 2 до 7 суток.

Клубеньковые бактерии из клубеньков исследовались с помощью цитологических и цитохимических методов в период перед затемнением растений и после затемнения. Полученные данные сравнивались с незатемненным вариантом.

Азот в растениях определялся методом Кьельдаля.

С помощью цитологических и цитохимических методов были выявлены: клеточная стенка, нуклеоиды, гликоген, кислые белки, РНК.

Методика цитологических и цитохимических исследований описана в предыдущих работах (Петросян, Аввакумова, 1964; Аввакумова, 1967).

Рис. 1. Бактероидные клетки в эффективных клубеньках гороха, штамм 123. Фиксация жидкостью Буэна, окраска по Гутштейну. Ув. 2000 х.

Результаты исследования

Сравнивая освещенные и лишенные света растения гороха, можно заметить, что растения, лишенные доступа света, были вытянутыми, верхушки их стали этиолированными, снизился вес растений и содержание в них общего азота незначительно (табл. 1). Клубеньки на корнях затемненных растений из розовых превратились в зеленые. Снижение веса клубеньков после затемнения наблюдалось только у активных штаммов. Остальные изменения одинаково были заметны на растениях гороха, инокулированных как эффективными штаммами №№ 65, 123, 144, так и неэффективным штаммом №36.

Сравнительные цитологические и цитохимические исследования клубеньковых бактерий из клубеньков затемненных и контрольных растений гороха показали, что подавление фотосинтеза, а следовательно, и азотфиксации вызвало появление у эффективных штаммов признаков неэффективного симбиоза (табл. 2).

Таблица 1

Влияние затемнения на растения гороха, инокулированного активными и неактивными штаммами*

№ штаммов клубеньковых бактерий	Сухой вес растений на сосуд				Сухой вес клубеньков в г		Азот на единицу сухого веса в %			
	незатемненные		затемненные				незатемненные		затемненные	
	г	%	г	%	незатемненные	затемненные	надземная часть	корни	надземная часть	корни
36 неактивный	4,69	100	3,89	82,0	0,516	0,522	2,10	2,60	2,40	2,50
65 активный	5,24	100	4,60	87,9	0,388	0,264	2,85	2,80	2,80	2,75
123 активный	5,84	100	3,65	63,0	0,400	0,270	2,90	2,80	2,75	2,70
144 активный	4,96	100	3,22	61,0	0,301	0,240	2,95	2,85	2,70	2,60

* В таблице приведены данные исследований 1968—1970 гг.

Так, вместо бактероидных клеток в клубеньках появились мелкие, палочковидные клетки (рис. 1, 2). У эффективных штаммов в клетках появился гликоген (рис. 3), а цитоплазма клеток не давала положительной реакции на кислые белки и РНК. У неэффективного штамма №36 эти изменения были меньше заметны, тем не менее и у этого штамма гликогена в клетках бактерий стало больше. Во многих случаях после затемнения нуклеоиды плохо окрашивались. У эффективных штаммов изменений нуклеоидов не наблюдалось.

В опыте с фасолью также были найдены цитологические и цитохимические изменения в клетках бактерий после затемнения растений (табл. 3).

Бактероидные клетки у эффективного штамма №100 превратились в мелкие палочковидные. Бактероидные формы у Rh. phaseoli чаще всего имеют форму длинных палочек, поэтому при переходе из бактероидных форм в палочковидные меняются только размеры клеток. В клетках бактерий клубеньков у лишенных света растений фасоли был обнаружен гликоген, хотя и в меньших количествах, чем у гороха, а кислые белки цитоплазмы не окрасились. Более слабо выра-

Таблица 2

Влияние затемнения растений на цитологические и цитохимические особенности клубеньковых бактерий в клубеньках гороха

№ штаммов клубеньковых бактерий	Бактероиды		Нуклеоиды		Гликоген		Кислые белки в цитоплазме		РНК в цитоплазме	
	незатемненные	затемненные	незатемненные	затемненные	незатемненные	затемненные	незатемненные	затемненные	незатемненные	затемненные
36 неактивный	+	−	+	±	±	±	−	−	−	−
65 активный	+++	±	+	+	−	+				
123 активный	++	−	+	+	−	+	+	−	+	−
144 активный	++	−	+	+	−	+	+	−	+	±

Примечание: (+)—положительная реакция; (±)—слабоположительная реакция; (−)—отрицательная реакция; (+++)—большое количество бактероидов.

женные изменения у фасоли, очевидно, связаны с тем, что фасоль (местные сорта)—культура короткого дня. Поэтому затемнение фасоли (4 сутки) меньше подавляло фотосинтез растений. В связи с этим не так четко были выражены цитологические и цитохимические изменения в клетках бактерий клубеньков, обычно коррелирующие с азотфиксацией.

Рис. 2. Палочковидные клетки в клубеньках гороха, штамм 123 после затемнения. Окраска по Гутштейну. Ув. 2000 х.

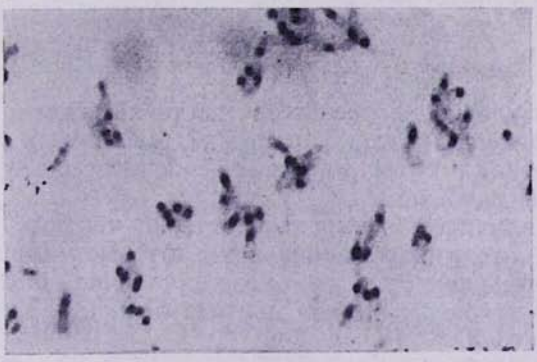

Рис. 3. Гликоген клубеньковых бактерий в клубеньках, образованных активным штаммом № 123 после затемнения. Фиксация формалином, реакция ШИК. Ув. 2000 х.

То же самое можно отметить и в опытах с соей. Хотя у клубеньковых бактерий также были отмечены изменения цитологических и цитохимических признаков после затемнения растений, они как и у фасоли были выражены слабее, чем у гороха (табл. 3).

Таблица 3

Влияние затемнения растений на цитологические и цитохимические особенности клубеньковых бактерий в клубеньках фасоли и сои

№ штаммов клубеньковых бактерий	Гликоген		Кислые белки	
	незатемненные	затемненные	незатемненные	затемненные
Соя				
640 неактивный	±	±	±	−
646 активный	−	−	±	−
Фасоль				
109 неактивный	±	±	−	−
100 активный	−	±	+	±

Выводы

1. Подавление фотосинтеза растений ведет к снижению веса и количества азота у растений, а также к изменению цитологических и цитохимических особенностей клубеньковых бактерий в клубеньках.

2. Под влиянием затемнения растений меняются те цитологические и цитохимические признаки, которые обычно коррелируют с эффективностью симбиоза (наличие бактероидных форм, содержание гликогена, кислых белков и РНК в цитоплазме клеток).

3. Таким образом, опыты с подавлением симбиотической азотфиксации путем затемнения еще раз подтверждают существование корреляции между некоторыми цитологическими и цитохимическими признаками клубеньковых бактерий в клубеньках и эффективностью симбиоза.

Ե. Ն. ԱՎԱԿՈՒՄՈՎԱ, Մ. Գ. ՇԱՄՑՅԱՆ, Մ. Վ. ՀՈՎՍԵՓՅԱՆ

ՊԱԼԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԲՋՋԱԲԱՆԱԿԱՆ ԵՎ ԲՋՋԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՊԱԼԱՐԻԿՆԵՐՈՒՄ ԲՈՒՅՍԻ ՖՈՏՈՍԻՆԹԵԶԻ ՃՆՇՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Ամփոփում

Ոլոռի, լոբու, սոյայի բույսերը զարգացման կոկոնակալման փուլում 2—7 օրով զրկվել են լույսից, դադարեցվել է ֆոտոսինթեզը, որը և հանգեցրել է ազոտաֆիքսացիայի ճնշմանը։

Լույսից զրկված և լուսավորված բույսերի (բնական պայմաններում գտնվածը) պալարիկներում պալարաբակտերիաների բջջաբանական և բջջաքիմիական առանձնահատկությունների համեմատական ուսումնասիրությունները ի հայտ են բերել որոշակի տարբերություններ նրանց միջև։ Ֆոտոսինթեզի դադարեցումը ուղեկցվում է պալարիկներում պալարաբակտերիաների այն հատկանիշների փոփոխման հետ, որոնք համահարաբերակցվում են սիմբիոզի էֆեկտիվության հետ (բակտերոիդ ձևերի առկայության, բջջապլազմայում գլիկոգենի, սպիտակուցների, ԴՆԹ-ի պարունակության փոփոխություն)։ Այս փոփոխությունները առավել ցայտուն են արտահայտվել էֆեկտիվ շտամների մոտ։

ЛИТЕРАТУРА

Аввакумова Е. Н. 1967. Сб. «Биологический азот и его роль в земледелии». М., «Наука».

Аввакумова Е. Н. Розанова Л. И., Шамцян М.,Г. 1970. Биол. журнал Армении, 23,5.

Петросян А. П., Аввакумова Е. Н. 1964. ДАН Арм. ССР, 39,1.

Федоров М. В., Успенская Т. А. 1955. Микробиология, 24. 3.

Bonnier Ch., Sironval C. 1956. Nature, 174, 4498.

Heumann W. 1952 Naturwissensch., 38, 3.

Michiels L. 1960. Arch. intvenat. physiol. et biochim., 68, 5.

Pate J. S. 1961 Nature, 192, 4803.