

Н. Л. КАЛАДЖЯН, М. Х. ЧАЙЛАХЯН

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ СПЕЦИФИЧЕСКИМИ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ НА СОДЕРЖАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ У БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

У бобовых растений при инокуляции клубеньковыми бактериями стимулируется синтез гиббереллиноподобных и ауксиноподобных веществ. При этом стимуляция синтеза гиббереллиноподобных веществ, в особенности гиббереллина A_3 , в растениях, в основном, овязана с заражением их специфическим штаммом. Стимуляция же синтеза ауксиноподобных веществ связана в основном со свойством вирулентности клубеньковых бактерий.

Специфичность клубеньковых бактерий является важным фактором в их симбиотических взаимоотношениях с бобовыми растениями и в процессе фиксации атмосферного азота. Известно, что отдельные виды клубеньковых бактерий заражают лишь отдельные виды или же узкую группу бобовых растений. Иногда эта специфичность ограничивается даже пределами отдельных сортов одного и того же вида. Подходы к объяснению специфичности морфо-физиологическими или антигенными свойствами клубеньковых бактерий оказались недостаточными для выяснения этого явления [3, 12].

В ряде исследований было показано, что в процессе заражения корней бобовых растений клубеньковыми бактериями определенную роль играют ауксины [13—16], а впоследствии прямыми опытами было установлено, что гетероауксин, или бета-индолилуксусная кислота, содействует образованию клубеньков на корнях бобовых растений [7, 9]. В дальнейшем исследования, проведенные нами совместно с Меграбян и Карапетян показали, что клубеньковые бактерии в чистой культуре способны синтезировать такие физиологически активные вещества, как гиббереллины, ауксины и ингибиторы. С другой стороны, в нашей работе [11] показано, что заражение бобовых растений клубеньковыми бактериями стимулирует образование физиологически активных веществ—гиббереллинов и ауксинов как в листьях, так и в корнях. По данным Таркашвили [8], а также наших исследований, эти вещества в бобовых растениях накапливаются в большем количестве при эффективном симбиозе с клубеньковыми бактериями. Для развития этих работ нами были предприняты опыты для выяснения вопроса о том, как влияет на образование физиологически активных веществ бобовыми растениями инокуляция их специфическими и неспецифическими штаммами клубеньковых бактерий.

Материал и методика. В опыты были взяты растения конских бобов (*Vicia faba*) и гороха (*Pisum sativum*), которые выращивались в условиях вегетационного опыта в 4-х килограммовых вазонах со стерильным песком, смешанным с питательной смесью Прянишникова. Растения конских бобов заражались клубеньковыми бактериями конских бобов (шт. 86) и неспецифическими клубеньковыми бактериями гороха (шт. 227). Растения гороха заражались специфическим штаммом клубеньковых бактерий гороха (шт. 227) и неспецифическим штаммом клубеньковых бактерий конских бобов (шт. 90). Контролем служили незараженные растения конских бобов и гороха, выращенные в тех же условиях.

Определение гиббереллиноподобных веществ в листьях, корнях и клубеньках бобовых растений проводилось методом бумажной хроматографии [5]. Биологическая активность веществ определялась по ростовой реакции проростков огурца [6]. Определение ауксиноподобных веществ проводилось методом бумажной хроматографии и по цветным реакциям [4]. Физиологическая активность их определялась методом биопробы, предложенным Бояркиным [1]. Для хроматографического разделения гиббереллинов в листьях, корнях и клубеньках бобовых растений использовался растворитель изопропанол—вода (35:14), а для хроматографирования ауксинов—бутанол-уксусная кислота-вода (100:19:35). Распределение веществ на хроматограммах проводилось в восходящем токе. Биопробы ставились на элюатах, полученных из разных пятен хроматограмм листьев, корней и клубеньков. Учет опыта проводился в начальной стадии цветения растений.

Таблица 1

Влияние инокуляции специфическим и неспецифическим штаммами клубеньковых бактерий на рост и развитие конских бобов

Варианты опыта	Число растений	Длина, см		Сырой вес, г		Общий вес растений, г	Число клубеньков	Азот, %		Прибавка веса растений по отношению к контролю, %
		стеблей	корней	надземных частей	корней			в листьях	в корнях	
Контроль, незараженные	29	34	17	125	197	322	нет	3,4	2,7	0
Зараженные клубеньковыми бактериями конских бобов, шт. 86	29	36	18	185	225	410	638	4,4	3,1	27,3
Зараженные клубеньковыми бактериями гороха, шт. 227	29	30	16	141	183	324	540	3,6	1,6	0,6

Результаты и обсуждение: Как показывают данные табл. 1, на корнях растений конских бобов, зараженных специфическим штаммом клубеньковых бактерий (шт. 86) образовалось 638 клубеньков при полном отсутствии их в контроле. В этом варианте увеличение веса растений по сравнению с контролем составило 27,3%, содержание азота в листьях и корнях также повысилось. На корнях конских бобов, зараженных неспецифическим штаммом клубеньковых бактерий гороха (шт. 227) образовалось также достаточно большое число (540) клубеньков, но увеличение веса растений не наблюдалось, а количество азота даже снизилось по сравнению с контролем.

На элюатах проявленных пятен хроматограмм из экстрактов листьев и корней растений конских бобов ставились биопробы на ростовую

реакцию проростков огурца. На рис. 1 приведены данные относительно тех пятен, активность которых была в пределах достоверности (т. е. $t > 3$).

Анализируя их, видим, что в варианте, где растения заражены клубеньковыми бактериями конских бобов (шт. 86), имеются 2 зоны с достоверной гиббереллиновой активностью на хроматограммах экстрактов из листьев, т. е. столько же, сколько у контрольных, однако у них R_f разные; в частности обнаружен гиббереллин A_3 (R_f 0,85) с достоверным уровнем активности. Отмечено также образование ингибиторов с определенным уровнем достоверности, которые распределены в зонах R_f 0,07 и 0,33. В корнях число активных зон по сравнению с контролем увеличивалось. Правда, уровень гиббереллиновой активности при одном и том же значении R_f (0,50) снизился, однако здесь тоже обнаружен гиббереллин A_3 (R_f 0,85) с достоверной активностью. В листьях и корнях конских бобов, зараженных неспецифическим шт. 227, лишь одна активная зона у листьев с R_f 0,58 и у корней с R_f 0,75. В листьях конских бобов, инокулированных неспецифическим штаммом гороха № 227, также образовался ингибитор с достоверным уровнем активности в R_f 0,80.

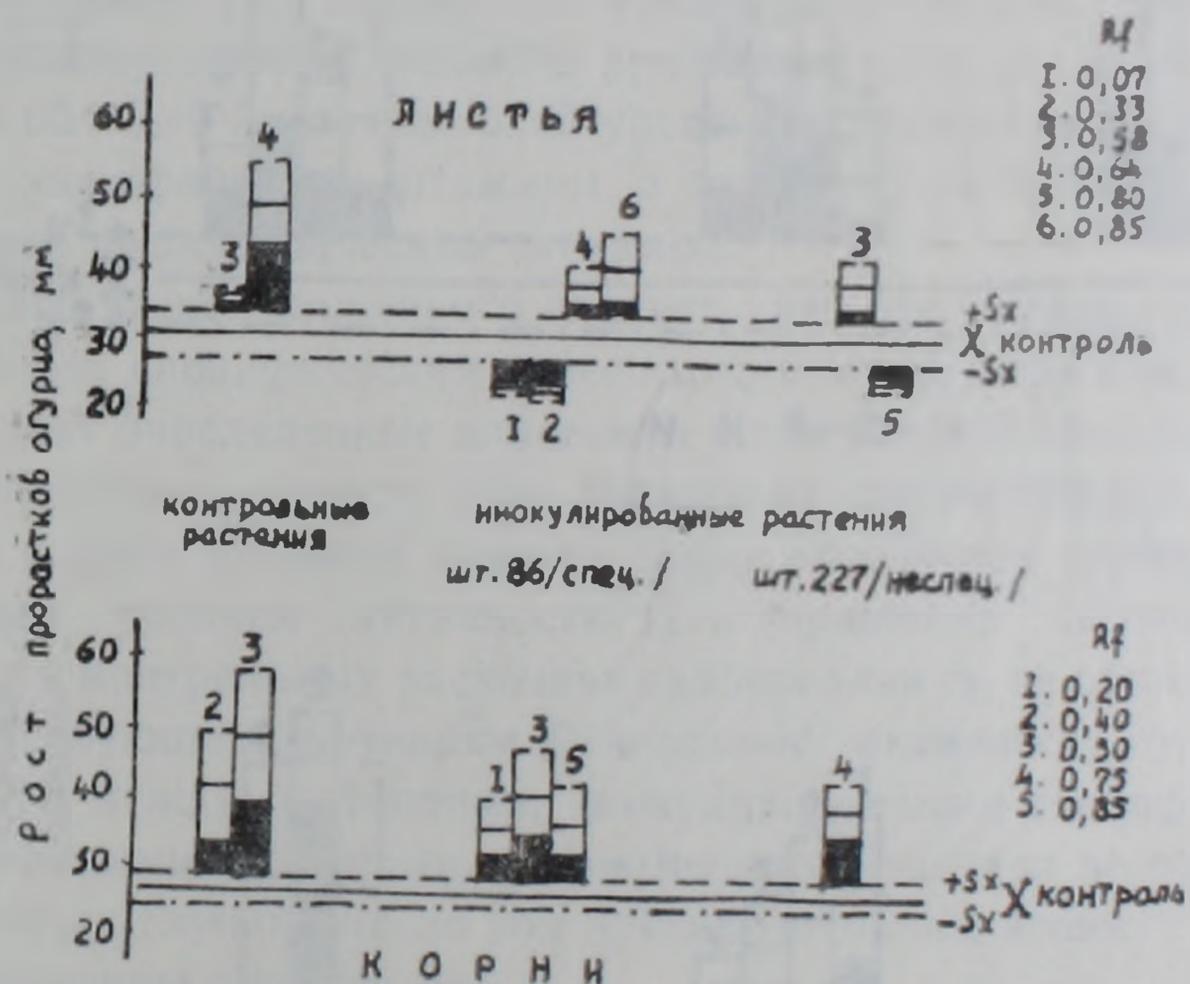
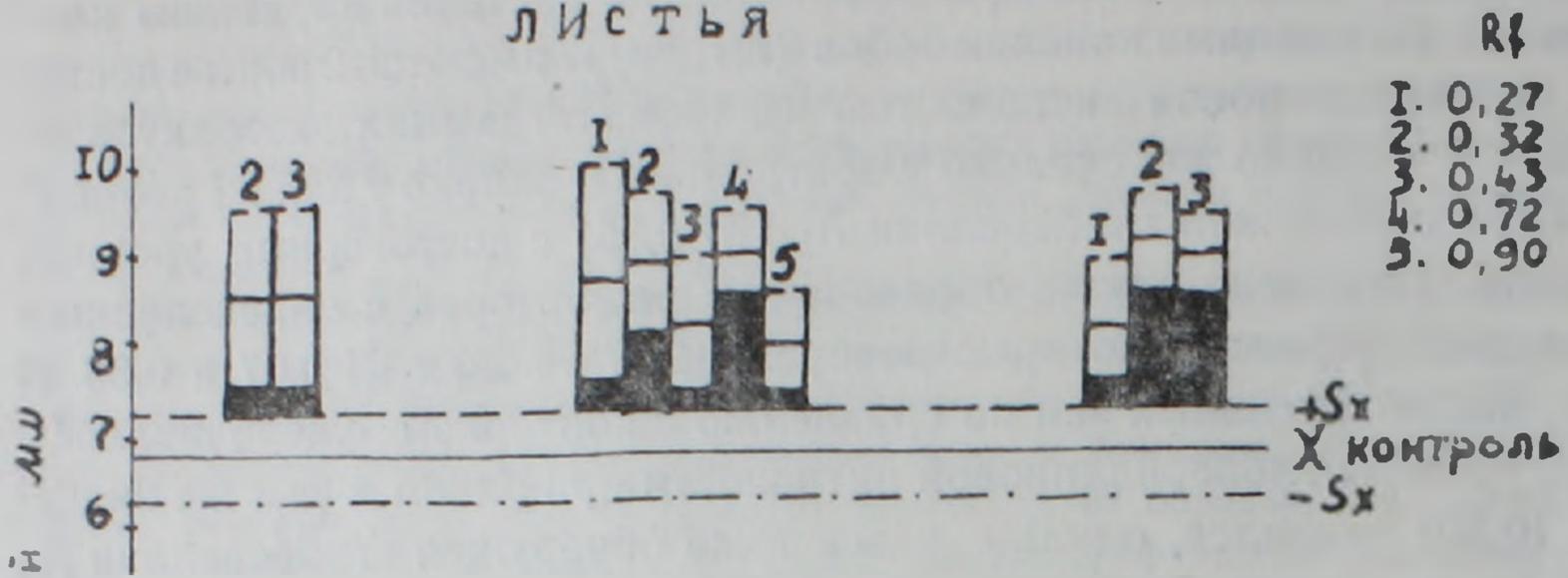


Рис. 1. Гистограммы, показывающие содержание гиббереллиноподобных веществ в растениях конских бобов, инокулированных специфическим и неспецифическим штаммами клубеньковых бактерий. Гистограммы составлены по расчету проростков огурца под действием элюатов активных зон хроматограмм. Условные обозначения: —X— средняя длина проростков
 — — + S_x квадратичное отклонение от среднего, ■ — степень достоверности.

Для выявления физиологической активности ауксиноподобных веществ на элюатах хроматограмм из экстрактов листьев, корней и клубеньков конских бобов ставились биопробы на ростовую реакцию колестоилей пшеницы. Из проявленных пятен хроматограмм листьев конт-

рольных растений конских бобов в двух пятнах имеются стимулирующие рост вещества ауксиновой природы (рис. 2). В варианте же с листьями,

ЛИСТЬЯ



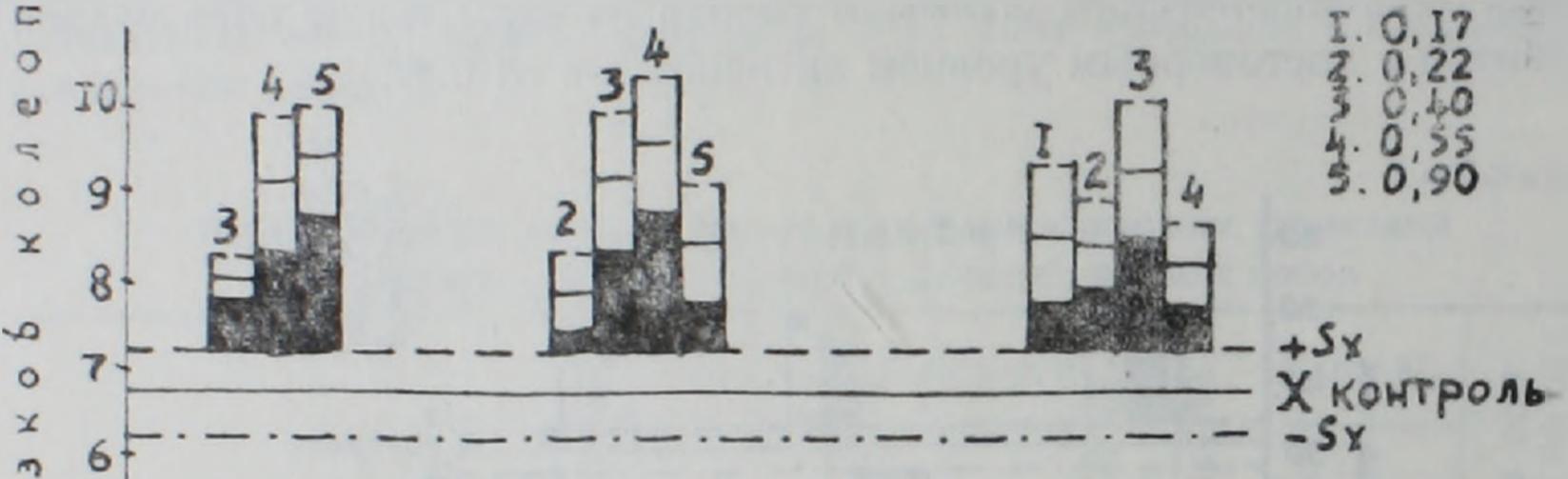
контрольные растения

инокулированные растения

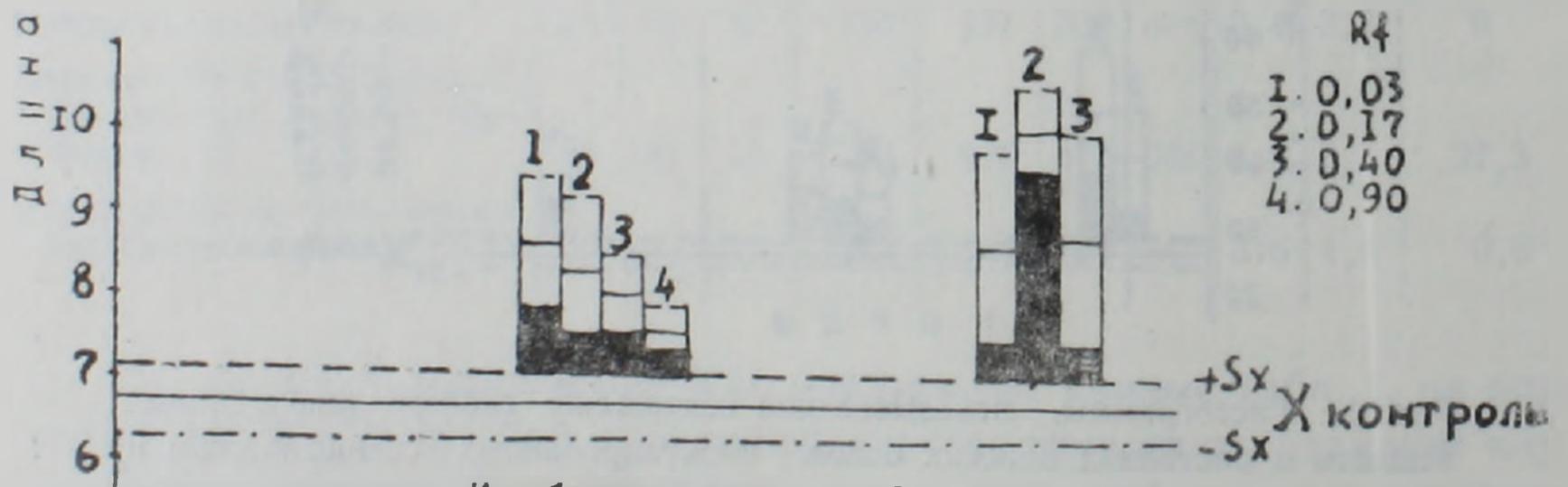
шт. 86 / спец. /

шт. 227 / не спец. /

Rf



КОРНИ



Клубеньки образованные

шт. 86 / спец. /

шт. 227 / не спец. /

Рис. 2. Гистограммы, показывающие содержание ауксиноподобных веществ в растениях конских бобов, инокулированных специфическим и неспецифическим штаммами клубеньковых бактерий. Гистограммы составлены по росту колеоптилей пшеницы под действием элюатов из активных зон хроматограмм. Условные обозначения те же.

зараженными клубеньковыми бактериями, число зон с достоверной ауксиновой активностью увеличилось по сравнению с контролем. При этом

число активных зон в вариантах с листьями, зараженными специфическим штаммом, больше (5 зон), чем в случае заражения их неспецифическим штаммом (3 зоны). Однако следует отметить, что каких-либо закономерных изменений уровня активности ауксиноподобных веществ при одном и том же значении R_f не наблюдается. Число проявленных под ультрафиолетовыми лучами пятен на хроматограммах корней контрольных растений сравнительно меньше [3], по своей физиологической активности на колеоптилях пшеницы все они были активными с высоким уровнем достоверности. В вариантах с растениями, зараженными клубеньковыми бактериями, такими активными зонами с высоким уровнем достоверности были 4 пятна. При этом, уровень активности ауксиноподобных веществ в зонах с R_f 0,40 и 0,55 выше в варианте с инокуляцией специфическим штаммом, а в зоне с R_f 0,90 выше в варианте без инокуляции.

На хроматограммах из экстрактов клубеньков при инокуляции специфическим штаммом число активных зон с достоверным уровнем ауксиновой активности больше [4] по сравнению с инокуляцией неспецифическим штаммом [3], однако закономерных изменений уровня активности ауксиноподобных веществ при одном и том же значении R_f нет. Зоны в R_f 0,03 и 0,40 имеют высокий уровень активности в вариантах с инокуляцией специфическим штаммом, а зоны в R_f -ах 0,17—в вариантах с инокуляцией неспецифическим штаммом.

Из всего вышеизложенного следует, что при заражении растений конских бобов специфическим и неспецифическим штаммами в растениях происходят определенные изменения в синтезе гиббереллиноподобных и ауксиноподобных веществ. При заражении специфическим штаммом в листьях и корнях растений конских бобов образуется гиббереллин A_3 с достоверным уровнем активности. При заражении неспецифическим штаммом и в контрольных растениях гиббереллин A_3 не обнаруживается. По соответствующим значениям R_f в уровне активности ауксиноподобных веществ между растениями, инокулированными специфическими и неспецифическими штаммами, закономерного различия не наблюдается, однако в обоих случаях число зон ауксиноподобных веществ увеличивается по сравнению с контролем.

На растениях гороха, зараженных специфическим и неспецифическим штаммами клубеньковых бактерий, как видно из табл. 2, образовалось большое число клубеньков, тогда как у контрольных растений их не было вовсе. При этом в вариантах с заражением растений гороха неспецифическим штаммом клубеньковых бактерий конских бобов (шт. 90) клубеньков образовалось больше, чем на растениях зараженных штаммом 227 специфических клубеньковых бактерий гороха. Соответственно, в этом варианте вес растений и процент содержания азота были больше, чем у растений, незараженных или зараженных специфическим штаммом клубеньковых бактерий гороха.

На элюатах из разных зон хроматограмм из листьев и корней гороха ставились биопробы на ростовую реакцию проростков огурца. На

Таблица 2

Влияние инокуляции специфическим и неспецифическим штаммами клубеньковых бактерий на рост и развитие растений гороха

Варианты опыта	Число растений	Средняя длина, см		Сырой вес растений, г		Общий вес, г	Число клубеньков	Азот, %		Прибавка веса растений по сравнению к контролю, %
		стеблей	корней	надземных частей	корней			в листьях	в корнях	
Контроль, незараженные	6	32,3	20,3	20,2	25,2	45,4	нет	2,04	2,50	0
Зараженные клубеньковыми бактериями гороха, шт. 227	6	33,5	19,8	24,5	25,2	49,7	490	2,58	2,61	9,4
Зараженные клубеньковыми бактериями конских бобов, шт. 90	6	29,0	15,6	24,0	28,0	52,0	647	2,75	2,42	14,7

рис. 3 приведены данные относительно только тех зон, элюаты которых дали стимуляцию роста проростков огурца в пределах достоверности. Выявилось, что в листьях зараженных растений гороха отмечаются зоны, имеющие достоверную гиббереллиновую активность, тогда как в контрольных растениях они не обнаруживаются. Замечается также, что число активных зон на хроматограммах из листьев и корней растений, зараженных клубеньковыми бактериями конских бобов (шт. 90) больше, чем таковые из листьев растений, зараженных специфическим штаммом. Однако надо отметить, что уровень активности зоны с значением R_f 0,16, находящейся в листьях обоих инокулированных вариантов, выше в варианте с инокуляцией специфическим штаммом, и гиббереллин A_3 (R_f 0,90) обнаруживается только на хроматограммах из экстрактов корней гороха, зараженных специфическим штаммом. Выясняется также, что на хроматограммах клубеньков, образующихся при заражении специфическим и неспецифическим штаммами, обнаруживается ряд активных зон. Однако большее число гиббереллиноподобных веществ синтезируется при заражении неспецифическим штаммом клубеньковых бактерий конских бобов (шт. 90). Кроме того, степень достоверности гиббереллиновой активности при разных значениях R_f , при заражении шт. 90 намного больше, чем при заражении специфическим штаммом.

На рис. 4 приведены данные биопроб тех элюатов из зон хроматограмм листьев и корней гороха, которые стимулировали рост отрезков coleoptилей пшеницы, и их физиологическая активность в пределах достоверности. Из них следует, что на хроматограммах листьев инокулированных растений число активных зон больше и уровень ауксиновой активности выше, чем на таковых контрольных неинокулированных растений. Однако в варианте с инокулированием специфическим штаммом гороха 227 число активных зон больше и уровень активности выше, чем в варианте с инокулированием неспецифическим штаммом.

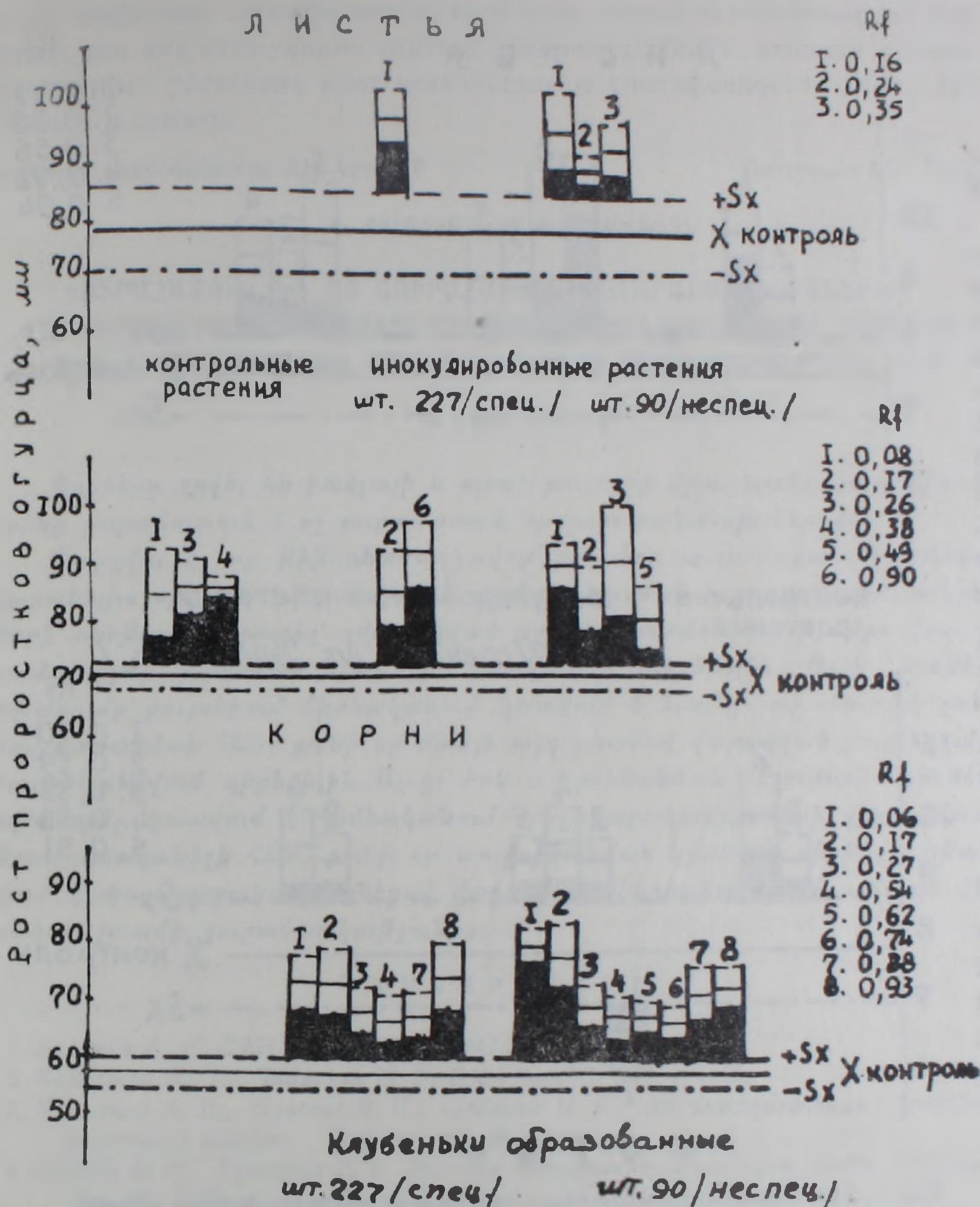
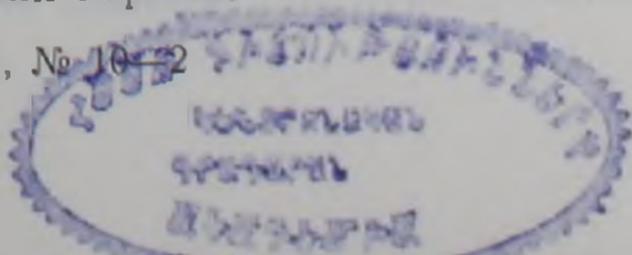


Рис. 3. Гистограммы, показывающие содержание гиббереллиноподобных веществ в растениях гороха, инокулированных специфическим и неспецифическим штаммами клубеньковых бактерий. Гистограммы составлены по росту проростков огурца под действием элюатов из активных зон хроматограмм. Условные обозначения те же.

На основании полученных данных можно предположить, что неспецифический для гороха штамм № 90 клубеньковых бактерий конских бобов в общем не проявил каких-либо чужеродных реакций по отношению к растениям гороха и положительно влиял как на усиление синтеза физиологически активных веществ, так и на усиление обмена азотистых веществ и увеличение веса растений гороха.



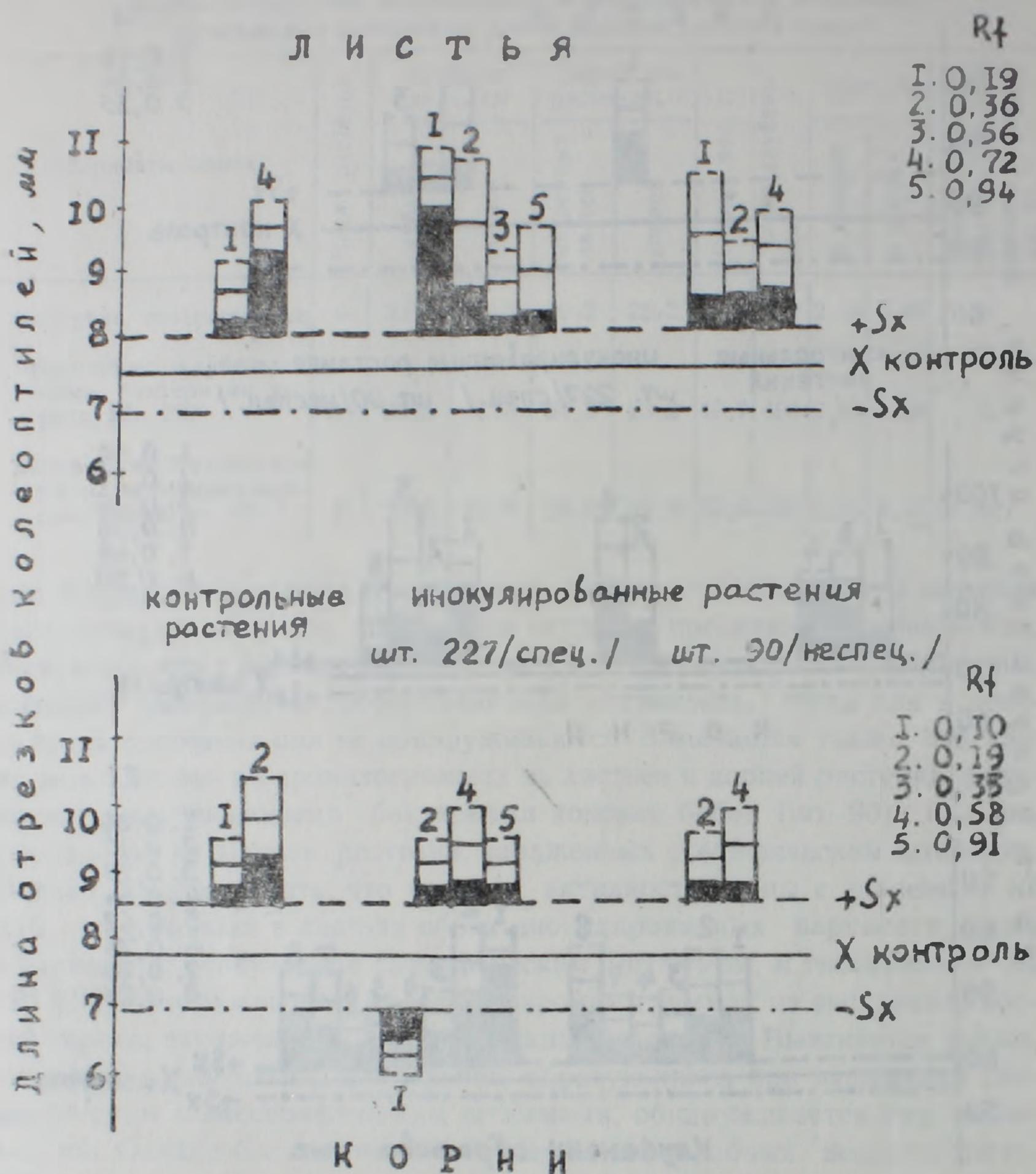


Рис. 4. Гистограммы, показывающие содержание ауксиноподобных веществ в растениях гороха, инокулированных специфическим и неспецифическим штаммами клубеньковых бактерий. Гистограммы составлены по росту coleoptилей пшеницы под действием элюатов из активных зон хроматограмм. Условные обозначения те же.

При инокуляции специфическими и неспецифическими штаммами клубеньковых бактерий стимулируется синтез гиббереллиноподобных и ауксиноподобных веществ в листьях и корнях растений конских бобов и гороха по сравнению с неинокулированными растениями. Однако усиление синтеза гиббереллиноподобных веществ, особенно гиббереллина A_3 в растениях, в основном, связана с инокуляцией специфическими штаммами клубеньковых бактерий, так как этот гиббереллин обнаруживается лишь в растениях, инокулированных специфическим штаммом. Стиму-

ляция синтеза ауксиноподобных веществ, по-видимому, связана не только со свойством специфичности, но и вирулентности клубеньковых бактерий, так как стимуляция синтеза ауксиноподобных веществ в инокулированных растениях идет независимо от специфичности инокулированных штаммов.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 5.VI 1975 г.

Ե. Լ. ՔԱԼԱԶՅԱՆ, Մ. Բ. ԶԱՅԼԱԽՅԱՆ

ՅՈՒՐԱՀԱՏՈՒԿ ԵՎ ՈՉ ՅՈՒՐԱՀԱՏՈՒԿ ՊԱՆԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐՈՎ
ՎԱՐԱԿՎԱԾՈՒԹՅԱՆ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԹԻԹԵՌՆԱԾԱՂԿԱՎՈՐ ԲՈՒՅՍԵՐԻ
ՄԵՋ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՊԵՍ ԱԿՏԻՎ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Փորձերը դրվել են բակլայի և ոլոռի բույսերի վրա, որոնք վարակվել են իրենց յուրահատուկ և ոչ յուրահատուկ պալարաբակտերիաներով:

Պարզվել է, որ թիթեռնածաղկավոր բույսերը պալարաբակտերիաներով վարակելիս սրանցում խթանվում է գիբբերելինանման և աուքսինանման նյութերի սինթեզը, ստուգիչ՝ շվարակված բույսերի համեմատությամբ: Ըստ որում, գիբբերելինանման նյութերի, հատկապես գիբբերելին Ա₃-ի սինթեզի խթանումը բույսերում հիմնականում կապվում է նրանց յուրահատուկ շտամով վարակման հետ, քանի որ միայն այդ շտամով վարակված բույսերում է հայտնաբերվում գիբբերելին Ա₃-ը: Իսկ աուքսինանման նյութերի սինթեզի խթանումը կապվում է հիմնականում պալարաբակտերիաների վիրուլենտության հատկանիշի հետ, քանի որ աուքսինանման նյութերի սինթեզը խթանվում է պալարաբակտերիաներով վարակված վարիանտներում՝ անկախ վարակող շտամի յուրահատկությունից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бояркин А. Н. ДАН СССР, 57, 2, 1947.
2. Каладжян Н. Л., Чайлахян М. Х. ДАН АрмССР, 46, 4, 1968.
3. Калниньш А. Д., Класенс В. П., Леймане И. Я. «IX международный микробиологический конгресс. Тезисы докл. М., 1966.
4. Кефели В. И., Турецкая Р. Х. Методы определения регуляторов роста и гербицидов, М., 1966.
5. Ложникова В. Н., Хлопенкова Л. П., Чайлахян М. Х. Агрехимия, 10, 1967.
6. Муромцев Г. С. Гиббереллины, М., 1962.
7. Тагиев В. Д. Изв. АН СССР, серия биол., вып. 2, 1965.
8. Таркашвили Д. Н. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1972.
9. Чайлахян М. Х., Меграбян А. А., Карапетян Н. А., Каладжян Н. Л. Изв. АН АрмССР, 14, 2, 1961.
10. Чайлахян М. Х., Меграбян А. А., Карапетян Н. А., Каладжян Н. Л. ДАН АрмССР, 40, 5, 1965.
11. Чайлахян М. Х., Каладжян Н. Л. Биологический журнал Армении, 23, 4, 1970.
12. Johnson H. W., Means U. M. Agron. J., 55, 3, 1963.
13. Kefford N. P., Brockwell J., Zwar J. A. Austral J. Biol. sci., 13, 4, 1960.
14. Pate I. Austral J. Biol., Sci. 11, 1958.
15. Thimann K. V. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 22, 1936.
16. Thornton H. G. Ann, Bot., new. ser., 44, 1930.