

ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ КОМПОНЕНТОВ ЛЕКТИНА КОРНЕВЫХ ВОЛОСКОВ РАСТЕНИЯ НА ИНФИЦИРОВАНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Е. Н. АВБАКУМОВА, С. А. АРУТЮНЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Выявлена специфичность ответной реакции компонентов лектина в оболочке корневых волосков гороха, нута, люцерны и пшеницы на инфицирование клубеньковыми бактериями различной специфичности и их сферопластами.

Բացահայտվել է պահանջատեղիքային ռեպոնսի կոմպոնենտների ռեպոնսի սպեցիֆիկությունը կորեային մազիկների վրա տարբեր սպեցիֆիկության և նրանց սֆերոպլաստների վրա:

The specificity of response reaction of lectine components in the membrane of root hairs of pea, alfalfa, chick pea, wheat on the infection of specific and non-specific strains and spheroplasts of nodule bacteria was revealed.

Клубеньковые бактерии—сферопласты—лектины

Проникновение клубеньковых бактерий в корень и образование инфекционной нити—строго специфичный процесс. В своей начальной стадии он зависит от взаимодействия лектина корней растения-хозяина с полисахаридами оболочки клубеньковых бактерий. Лектины, которые относятся к классу гликопротеидов, участвуют в «узнавании» специфичных штаммов клубеньковых бактерий и связывании их с корневыми волосками растения-хозяина по типу антиген—антитело [3—6, 9]. В процессе связывания участвуют ионы металлов, которые входят в состав лектина, стабилизируя пространственную структуру белка [3, 7, 8].

Пшеничный лектин не давал преципитации с клубеньковыми бактериями [6], хотя было обнаружено, что корни пшеницы и риса хорошо адсорбируют их [11].

Ранее нами была выявлена специфичность ответной реакции компонентов лектина в оболочке изолированных клеток гороха и люцерны на инфицирование клубеньковыми бактериями [1].

В данной работе представлены результаты изучения ответной реакции оболочки корневых волосков растений-хозяев на инфицирование клубеньковыми бактериями различной специфичности.

Материал и методика. Исследования проводили со штаммами клубеньковых бактерий коллекции Института микробиологии АН АрмССР: ИИМИА В-5609 (*R. leguminosarum*), ИИМИА В-5502 (*R. meliloti*) ИИМИА В-6048 (*R. loti*)—из клубеньков нута, ИИМИА В—(*R. sp.*)—из клубеньков эспарцета и 649 (*Bradyrhizobium japonicum*)—коллекции ВНИИСХИ.

В качестве растений-хозяев использовали горох, нут, люцерну и пшеницу. Растения инокулировали клетками и сферопластами клубеньковых бактерий. Сферопласты получали с помощью раствора лизоцима в трис-НСI буфере с pH 8,1, инкубацию проводили при 37° до образования сферопластов с 90—99% чистым их выходом, что контролировалось микроскопированием.

Растения выращивали в лабораторных условиях на стерильном песке с безазотистой питательной средой Еисена [12].

Пробы корней растений для анализа на компоненты лектина брали через 10, 20 и 30 суток после инокуляции. Компоненты лектина—гликопротеиды, мукопротеиды, полимеризованные формы кальция, магния, марганца, а из гликозидов гесперидин—определяли с помощью цитохимических методов. Методика цитохимического анализа компонентов лектина описана ранее [1]. Препараты корневых волосков просматривали под световым и поляризационным микроскопом марки NU Zeiss при увеличении 250X.

Результаты и обсуждение. Путем сочетания различных окрасок и реакций в оболочке корневых волосков гороха, нута, люцерны и пшеницы были выявлены некоторые компоненты, входящие в состав лектина. По метахроматической окраске метиленовым синим по методу Риттера и Олесона с помощью реакции нингидрин-реактив Шиффа были обнаружены гликопротеиды и мукопротеиды, которые обладали свойством дихроизма в поляризованном свете, что свойственно лектинам [2, 10]. В оболочке волосков выявлены также катионы Ca, Mg, Mn и гликозиды, из которых дифференцирован гесперидин.

Содержание и локализация указанных компонентов в оболочке корневых волосков зависят от вида растений, фазы развития, а также от специфичности штаммов клубеньковых бактерий (табл. 1, 2). Глико- и мукопротеиды обнаружены в оболочке волосков всех изученных растений независимо от штамма, поэтому данные о них в таблицах не приведены.

В контрольных вариантах растений (без заражения) компоненты лектина Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} и гесперидин обнаружены как во внешнем, так и внутреннем слоях оболочки волосков. Заражение растений клубеньковыми бактериями вызывает ответную реакцию корневых волосков.

При инокуляции растений специфичными штаммами гороха—В-5609, нута—В-6048, люцерны—В-5502 указанные компоненты лектина (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} и гесперидин) обнаруживаются во внешнем слое оболочки корневых волосков. При инокуляции неспецифичными штаммами, например, 649 В. *jarovicensis*, а также В-6048 для гороха и В-5601 для нута и люцерны, во внешнем слое оболочки волосков отсутствует тот или иной компонент, а иногда все. Отсутствующие во внешнем слое компоненты могут быть локализованы во внутренних слоях оболочки.

Заражение растений сферопластами клубеньковых бактерий специфичных и неспецифичных штаммов, т. е. клетками, частично лишенными клеточной оболочки, вызывает такую же ответную реакцию корневых волосков, как заражение специфичными штаммами. В этом случае, очевидно, преодолевается барьер инертности корневых волосков к инфицированию неспецифичными штаммами благодаря отсутствию оболочки у сферопластов.

В более поздние периоды вегетации через 20—30 суток после инокуляции растений не наблюдалось четкой закономерности в распределении компонентов лектина в оболочке корневых волосков и зависимости от специфичности штаммов.

Таблица 1. Влияние клубеньковых бактерий и их сферопластов на локализацию компонентов лектина в оболочке корневых волосков бобовых растений (10 дней после инокуляции)

Штаммы	Компоненты лектина в оболочке корневых волосков					
	горох		нут		люцерна	
	внешний слой	внутренний слой	внешний слой	внутренний слой	внешний слой	внутренний слой
Контроль (без заражения)	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	Mn^{2+}	Ca^{2+} , Mg^{2+}	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	—	Ca^{2+} , Mg^{2+} гесперидин
В-5609— <i>Rh. leguminosarum</i>	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	—	гесперидин	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}	—	Ca^{2+} , Mg^{2+}
В-5609— сферопласты	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	Mg^{2+}	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	Mn^{2+}	Ca^{2+} , Mg^{2+} гесперидин	Ca^{2+}
В-6048— <i>Rh. loti</i>	Mn^{2+}	Ca^{2+} , Mg^{2+}	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}	не исследовался	
В-6048— сферопласты	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	—	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}	не исследовался	
649— сферопласты	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	Ca^{2+} , Mg^{2+}	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} гесперидин	Ca^{2+}	Ca^{2+} , Mg^{2+} гесперидин	—
649— <i>B. japonicum</i>	—	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}	—	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}	—	Ca^{2+} , Mg^{2+}
В-5502— <i>Rh. meliloti</i>			не исследовался		Ca^{2+} , Mg^{2+} гесперидин	Mg^{2+}
В-5502— сферопласты			не исследовался		Ca^{2+} , Mg^{2+} гесперидин	Mg^{2+}

* Примечание (—)—отсутствие изученных компонентов. Mn^{2+} не был изучен у люцерны

Таблица 2. Локализация компонентов лектина в оболочке корневых волосков пшеницы, инокулированной клубеньковыми бактериями и их сферопластами

Штаммы	Компоненты лектина в оболочке корневых волосков			
	через 10 суток		через 30 суток	
	внешний слой	внутренний слой	внешний слой	внутренний слой
Контроль (без заражения)	—	Mg ²⁺ , Mn ²⁺	—	Mn ²⁺ гесперидин
В-5600— <i>Rh. leguminosarum</i>	—	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺	Mg ²⁺	Mg ²⁺ гесперидин
В-5р08 сферопласты	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ гесперидин
649— <i>B. japonicum</i>	Ca ²⁺	гесперидин	Ca ²⁺ , Mn ²⁺ гесперидин	гесперидин
649—сферопласты	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ гесперидин
В-5891— <i>Rh. sp.</i>	Mg ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺	Mg ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ , Mn ²⁺
В-5891— сферопласты	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺	Ca ²⁺ , Mg ²⁺	Ca ²⁺ , Mn ²⁺
В-5521— <i>Rh. meliloti</i>	Mg ²⁺ , Mn ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ , Mg ²⁺	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺	Ca ²⁺
В-5521 сферопласты	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ гесперидин	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺	Ca ²⁺ , Mn ²⁺

В качестве контроля клубеньковыми бактериями инокулировали злаковое растение—пшеницу.

Заражение пшеницы клубеньковыми бактериями различных видов вызвало такую же ответную реакцию корневых волосков, как заражение неспецифичными штаммами бобовых растений. Лишь при инокуляции пшеницы сферопластами клубеньковых бактерий во внешнем слое оболочки корневых волосков были выявлены понижившиеся формы кальция, магния, марганца и гесперидии, как и при специфичном симбиозе клубеньковых бактерий с бобовыми растениями (табл. 2). У пшеницы, как и у бобовых, закономерность распределения в оболочке волосков компонентов лектина при инокуляции сферопластами была отмечена только в начале вегетации.

Таким образом, проведенные исследования выявили ответную реакцию отдельных компонентов лектина в оболочке корневых волосков гороха, нута, люцерны и пшеницы на инфицирование клубеньковыми бактериями различной специфичности и их сферопластами.

При инфицировании бобовых растений специфичными штаммами, а также сферопластами специфичных и неспецифичных штаммов во внешнем слое оболочки корневых волосков обнаружены понижившиеся формы Са, Mg, Mn и гесперидии, входящие в состав лектина.

Можно предположить, что в специфичном симбиозе клубеньковых бактерий с растением-хозяином лектин оболочки корневых волосков выделяется наружу и взаимодействует со специфичными штаммами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакумова Е. Н., Арутюнян С. А. Биол. ж. Армении, 19, 4, 285—289, 1987.
2. Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.
3. Якубе Х. Д., Эшкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки. М., 1985.
4. Dazzo F. B., Trachet G. L., Sherwood J. E. Appl. and Environ. Microbiol., 48, 6, 1140—1150, 1981.
5. Halverson L. J., Stracey G. Plant Physiol., 77, 3, 621—627, 1985.
6. Kamberger W. Arch. Mikrobiol., 121, 1, 83—90, 1979.
7. Nowakowa N., Kocourek J. Biochem. Biophys. Acta, 329, 321—333, 1974.
8. Paulowa M. M., Ticha G., Entlicher J. V., Kostir Y. V., Kocourek J. Biochim. Biophys. Acta, 252, 388—395, 1971.
9. Robertson J. G., Wells B., Brewin N. Y., White E., Knight C. D., Downie J. A. Cell Sci., 78, 2, 317—331, 1985.
10. Roth J. The Lectins. Jena, 1978.
11. Shtmshtek E. Y., Hebert B. R. Biophys. Res. Commun., 84, 3, 735—742, 1978.
12. Vincent J. M. A manual for the practical study of root nodule bacteria, International biological programme, London, Edinburgh, 1970.

Поступило 17 IX 1987 г.