

О ВОЗМОЖНОСТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР

С.А. АРУТЮНЯН, С.Г. АСЛАНЯН, Н.М. АЛЕКСАНЯН, Т.У. СТЕПАНЯН,
Ф.С. МАТЕВОСЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Получены пассированные через пшеницу и овес штаммы клубеньковых бактерий гороха, люцерны и сои, образующие мелкие "клубеньки" на пшенице и своем бобовом растении-хозяине. "Клубеньки" на пшенице проявляют нитрогеназную активность.

Ստացվել են ցորենի և վարսակի բույսերի արմատների միջով բազմակի անգամ անցկացված ոլոռի, առվույտի և սոյայի պալարաբակտերիաների շտամները, որոնք առաջացնում են մանր «պալարիկներ» ցորենի և իրենց տեր թիթեռնածաղկավորներ բույսերի վրա: Ցորենի արմատային «պալարիկները» ցուցաբերում են նիտրոգենազային ակտիվություն:

The strains of peas, alfalfa's and soybean root nodule bacteria over and over again passed through wheat and oat, forming small nodules on wheat and it's bean host-plant. The "nodules" on wheat show nitrogenase activity.

Клубеньковые бактерии - бобовые растения - злаковые

Создание азотфиксирующего симбиоза между *Rhizobium* и злаковыми культурами могло бы быть полезным не только с точки зрения азотного питания, но и полной экологической безопасности биологического азота.

В литературе имеются данные об азотфиксирующем симбиозе между эндофитами и небобовыми растениями [2, 6, 7, 9, 14]. Кроме того, выявлено образование клубеньков на небобовых, тропических растениях *Тrema aspera* и *Parasponia* под влиянием клубеньковых бактерий группы гороха, донника, фасоли и сои [3-5, 8, 10-12].

Цель настоящего исследования - изучить возможность симбиотических взаимоотношений между пассированными через злаки штаммами *Rhizobium* и растением пшеницы.

Материал и методика. Для исследований использовали штаммы клубеньковых бактерий видов *Rh. leguminosarum*, *Bradyrhizobium japonicum* коллекции ИНМИА, из которых были получены пассированные через пшеницу штаммы: *Rh. leguminosarum* П-3, П-5, П-6, П-8 (третьего, пятого, шестого и восьмого пассажей), а также *B. japonicum* 0-1, п-1, п-4 (пассированные через овес и пшеницу).

Растения-хозяева: пшеница яровая, сорт "Шираки", озимая, сорт "Армянка 60", горох.

Вирулентность и активность пассированных штаммов определяли в микровегетационных опытах на стерильном песке (объем сосудов 200 мл) с безазотистой питательной средой Енсена [13]. Для выявления инфекционных нитей в корневых волосках брали пробы корней растений через 3-4, 10 и 20 суток после инокуляции. Корни фиксировали 96% этанолом и окрашивали 1%-ным раствором кристаллического фиолетового. Затем корни пшеницы помещали на предметное стекло в каплю воды, накрывали покровным стеклом и просматривали под световым микроскопом при увеличении 250-500 х.

Нитрогеназную активность определяли ацетиленовым методом [1].

Выделение культур из клубеньков на корнях пшеницы проводили после стерилизации последних сулемой.

Результаты и обсуждение. После инфицирования пшеницы клубеньковыми бактериями из образовавшихся на корнях выростов были выделены чистые культуры этих бактерий. Этими культурами повторно инокулировали пшеницу и получили штаммы 1-8 пассажей, с которыми и проводили дальнейшие исследования.

Через 3-4 суток после инфицирования пшеницы (яровой и озимой) пассированными штаммами обнаружено искривление кончиков корневых волосков и образование в них инфекционных нитей (рис. 1). В контрольном варианте и при инокуляции исходными (непассированными) штаммами клубеньковых бактерий корневые волоски не искривлены и в них не выявлены инфекционные нити (рис. 2).

Различные пассированные штаммы отличались друг от друга по способности инфицировать корневые волоски пшеницы (табл. 1).

Таблица 1. Влияние пассированных штаммов клубеньковых бактерий на пшеницу

Штаммы	Шираки		Армянка-60	
	количество инфицированных корневых волосков, %	азот, мкг/г корней, ч	количество инфицированных корневых волосков, %	азот, мкг/г корней, ч
	<i>Rhizobium leguminosarum</i>			
Контроль (без инокуляции)	0	0	0	1,098
шт. исходный, из клубеньков гороха	0	1,1	0	0,94
шт. П-3 из клубеньков пшеницы	12,6	3,91	15,3	2,6
П-5 -"	19,53	6,15	17,71	3,67
П-6 -"	19,87	3,36	-	-
П-8 -"	-	4,66	-	-
	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>			
шт. исходный из клубеньков сои	0	1,46	0	-
О-1 из клубеньков овса	30,97	5,21	11,67	3,82
П-1 из клубеньков пшеницы	-	2,47	-	3,68
П-4 -"	25,6	4,83	-	-

Примечание: (-) - данные отсутствуют.

Наибольшее количество волосков с инфекционными нитями обнаружено у яровой пшеницы при инокуляции шт. 0-1 и п-4 (*B. japonicum*) 30, 97 и 25,6%.

Через 25-30 суток после инокуляции пшеницы пассированными штаммами клубеньковых бактерий на ее корнях образовались мелкие

выросты, узелки диаметром до 1 мм, которые содержали грамотрицательные палочковидные бактериальные клетки (рис.3). При этом следует отметить, что образование выростов на корнях пшеницы не всегда стабильно, на одних растениях их больше, на других - меньше. Имеются также различия в размерах и расположении выростов на корнях.



Рис. 1. Образование инфекционных нитей в корневых волосках пшеницы.

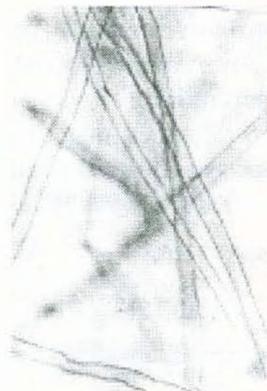


Рис. 2. Корневые волоски пшеницы, контроль.



Рис. 3. Отпечаток среза клубенька пшеницы.

Образовавшиеся на пшенице “клубеньки” обладают нитрогеназной активностью в пределах 2,6-1,15 мкг азота/г корней, час.

Наиболее высокая нитрогеназная активность отмечена у шт. п-5 (*Rh. leguminosarum*) на пшенице “Шираки”. На озимой пшенице “Армянка-60” нитрогеназная активность всех пассированных штаммов была почти на одном уровне.

С целью выяснения принадлежности штаммов, выделенных из пшеницы и овса, к роду *Rhizobium* ими инокулировали бобовые растения-хозяева.

Все “пшеничные” штаммы образовали клубеньки на своих бобовых растениях и проявили нитрогеназную активность.

Таблица 2. Влияние “пшеничных” штаммов клубеньковых бактерий на своем растении-хозяине горохе

Штаммы	Среднее количество клубеньков на 1 растении	Азот, мкг/г корней, ч
Контроль (без заражения)	0	0,72
Шт. исходный (<i>Rh. leguminosarum</i>)	13,7	12,96
Шт. П-2 (из клубеньков пшеницы)	11,0	10,52
Шт. П-5 - “ -	11,3	7,42
Шт. П-6 - “ -	17,7	7,24

В табл. 2 приведены данные лишь по гороху. На других бобовых растениях-хозяевах получены сходные результаты.

Было отмечено, что пассированные через пшеницу штаммы *Rh. leguminosarum*, хотя и образовали клубеньки на своем растении - горохе,

но были более мелкими по сравнению с исходным штаммом и обладали несколько меньшим уровнем нитрогеназной активности.

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы.

Пассированные через злаки штаммы клубеньков бактерий инфицируют корневые волоски и затем образуют мелкие клубенькообразные выросты на корнях пшеницы, проявляющие некоторый уровень нитрогеназной активности, что может предположительно свидетельствовать от элементах симбиотических взаимоотношений между клубеньковыми бактериями и злаковыми растениями.

Штаммы, выделенные из пшеницы, образуют азотфиксирующие клубеньки на своих бобовых растениях-хозяевах, чем подтверждается принадлежность этих штаммов к роду *Rhizobium*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методические указания по использованию ацетиленового метода. ВНИИ с-х микробиологии, Л., 1982.
2. Родынюк И.С. Вопросы метаболизма. Новосибирск, Наука, 101, 1984.
3. Симаров Б.В., Тихонович Н.А. Сб: Минеральный и биологический азот в земледелии СССР. Наука, М., 165-175, 1985.
4. Beking J.H. *Plant and Soil*, 75, 3, 309, 1983.
5. Bender G.L., Rolfe B.D., *Plant and Soil*, 38, 2, 135, 1985.
6. Beringer Y.E., Brewin N., Yohnston A.W., Schulman K.W., Hopwood A.D. *Proc. Roy. Soc, London, B.*, 204, 165, 219-233, 1979.
7. Klevenskaya Y.L. *Soil. Biol. and Conserv. Biosphere*. 481, Budapest, 1984.
8. Moffat Anne *Simon Science*, 250, № 4983, 910-912, 1990.
9. Schwinter Q.R. *Amer Y.Bot.*, 70, 7, 1071, 1983.
10. Scott K.F., Rolfe B.G., Shine Y. *DNA*, 2, 2, 141, 1986.
11. Scott K.F. *Nucl. Acids Res*, 14, 7, 2905, 1986.
12. Trinick M.G. *Nature*, 244, 459, 1973.
13. Vincent J.M. *A. manual for the Practical study of the root-nodule bacteria*. London, Edinburgh, 1970.
14. Wenshengwu Auebao *Acta. microbiol. Sin.*, 23, 4, 347, 1983.

Поступила 10.XII.1999