

УДК 581.1.035.23

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Н. Л. Каладжян, Р. Ш. Арутюнян, академик М. Х. Чайлахян

Корневые каллусы сои и их влияние на рост клубеньковых бактерий

(Представлено 23/1 1978)

Метод выращивания культуры изолированных растительных тканей открывает широкие возможности для биологических исследований в самых различных направлениях (<sup>1</sup>). В последнее время он используется для изучения симбиотических взаимоотношений бобовых растений и клубеньковых бактерий путем совместного выращивания клеток корней бобовых растений с клубеньковыми бактериями (<sup>2-6</sup>). При этом установлена даже возможность фиксации молекулярного азота (<sup>7,8</sup>).

Целью настоящей работы явилось получение корневых каллусов сои и изучение их влияния на рост клубеньковых бактерий при совместном выращивании.

Для получения стерильных корней растений сои, семена дезинфицировали серной кислотой и отобранные стерильные семена переносили в пробирки с агаровой средой Ковровцевой. Спустя 10—15 дней после прорастания семян стерильные корни растений использовали для получения изолированных тканей. Изолированная каллусная ткань нами получена из корней сои сорта «Имеретский», при этом использовали среду Гамборга (<sup>9</sup>) и ее, измененные нами, варианты, в которых варьировали количество макроэлементов, микроэлементов, состав и количество витаминов и фитогормонов. При этом выяснилось, что один из видоизмененных вариантов является наиболее благоприятным для каллусообразования. Однако, образовавшиеся каллусы при первых пересевах хорошо росли только в тех вариантах, где среда была обогащена ростстимулирующими веществами. После 4 и 5-го пересевов каллусы из корней сои становились рыхлыми, слабо-желтоватыми и хорошо росли (рис. 1). Изучение динамики роста каллусной ткани показало, что ткань после пересева растет в течение 35—40 дней, а период интенсивного роста протекает с 7 до 28 дней.

Ежедневные микроскопические исследования митотического цикла каллусных клеток корней сои показали, что самое высокое количество делящихся клеток наблюдается на 7-ой день после пересева. Совпадение периода наивысшего митотического цикла с наивысшим числом

клеток на единицу веса ткани на 7-ой день послужило основанием избрать этот период для совместного выращивания каллусных культур и клубеньковых бактерий. На каллусы, выращенные в чашках Петри, и вокруг них добавляли суспензию свежих культур клубеньковых бактерий сои штаммов 642, 646, 647, 649, 650.

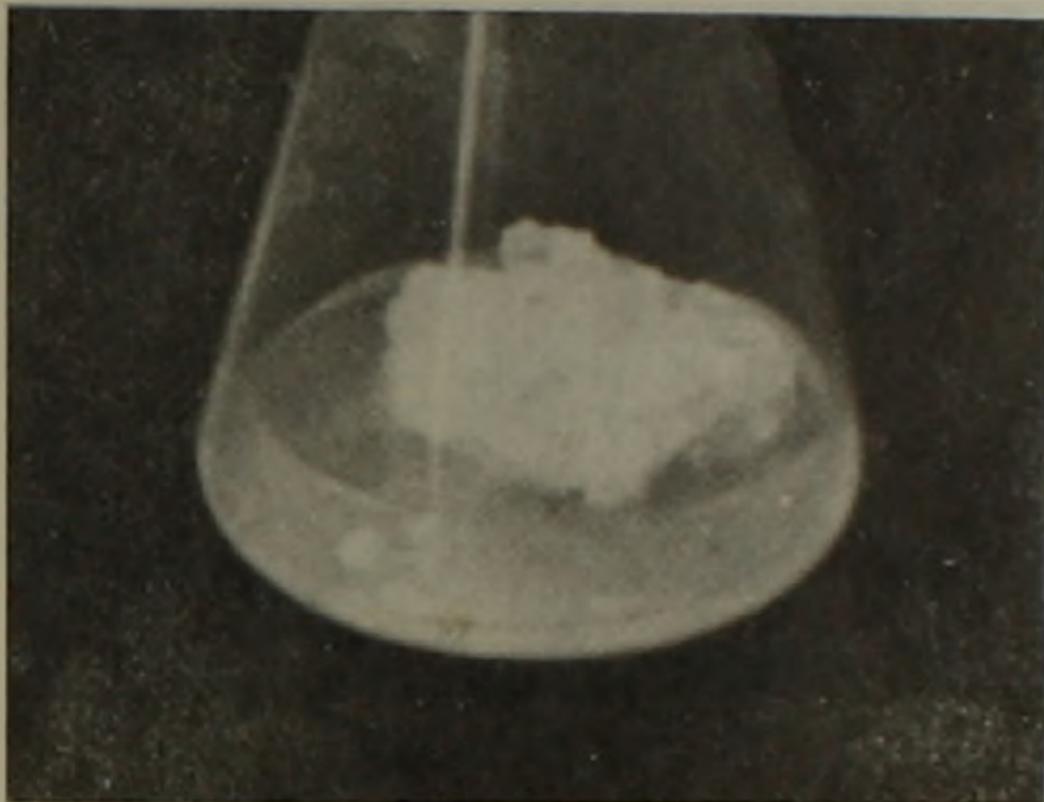


Рис. 1 Корневой каллус сои на агаризованной питательной среде

Таблица 1

Рост клубеньковых бактерий сои при их совместном выращивании с корневыми каллусами сои

Номера штаммов клубеньковых бактерий сои	Рост клубеньковых бактерий после посева			
	5-й день		12-й день	
	на среде без каллусов (контроль)	на среде с каллусами	на среде без каллусов (контроль)	на среде с каллусами
642	+	++	+	++++
646	+	+++	+	++++
647	+	+++	+	++++
649	+	++	+	++++
650	+	++	+	++++

Как показывают данные табл. 1 штаммы клубеньковых бактерий сои в контрольных чашках (без каллусов) растут слабо, а на среде с каллусами—интенсивно. Эта разница в росте клубеньковых бактерий особенно четко наблюдается на 12-й день после начала опыта. Стимуляция роста клубеньковых бактерий под влиянием каллусов видна на рис. 2.

Изучение морфологии клубеньковых бактерий показало, что в контроле клетки выглядят в виде маленьких палочек, а при совместном культивировании с каллусами они чуть утолщены и удлинены.

Выяснилось, что при совместном выращивании каллусов и клубеньковых бактерий, рост самих каллусов замедляется.

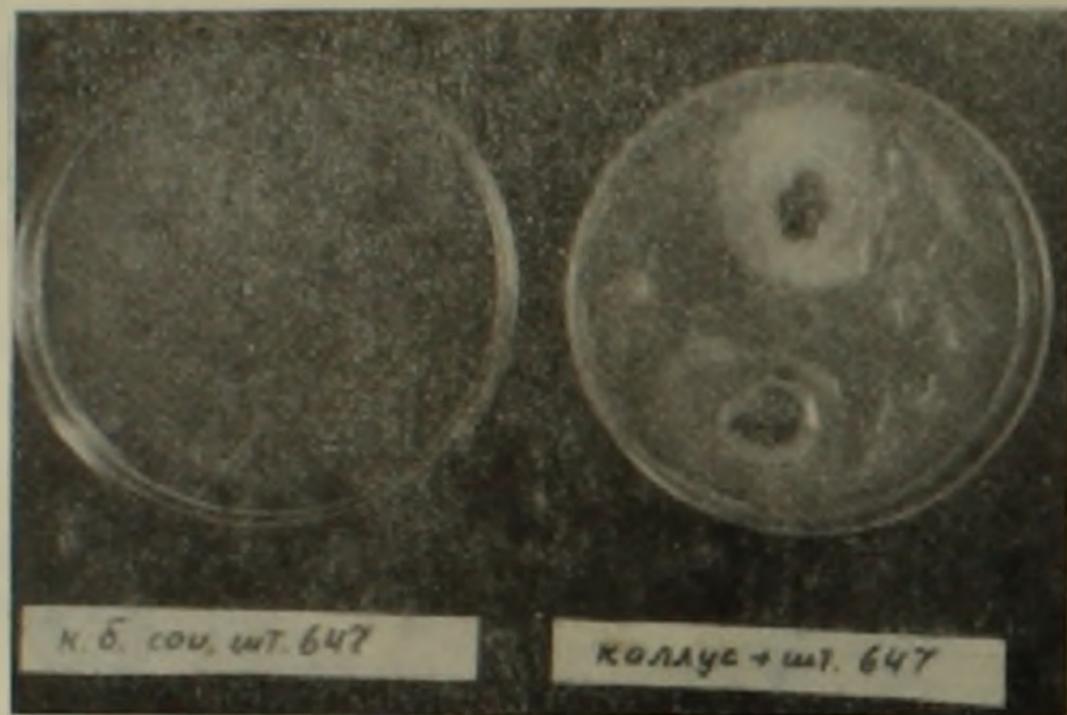


Рис. 2. Рост клубеньковых бактерий сои шт. 647 при их совместной культуре с корневыми каллусами сои (справа) и без корневых каллусов (слева)

Таблица 2

Рост корневых каллусов сои при их совместном выращивании с клубеньковыми бактериями сои

Варианты	Вес каллусов /мг/, после посева клубеньковых бактерий			Цвет каллуса
	5-й день	12-й день	20-й день	
Контроль: каллус сои	520	1050	1070	Бело-желтоватый
Каллус + шт. 642	200	300	180	Светло-бурый
Каллус + шт. 646	190	250	200	Светло-бурый
Каллус + шт. 647	400	550	400	Бурый
Каллус + шт. 649	200	210	200	Серый
Каллус + шт. 650	250	300	340	Бурый

Как видно из табл. 2, вес корневых каллусов сои в контрольных вариантах значительно выше, чем вес каллусов, выращенных совместно с клубеньковыми бактериями. В связи с задержкой роста каллусы при совместном культивировании с клубеньковыми бактериями, имеют более темную окраску (рис. 3).

Микроскопические исследования живых и мертвых каллусных клеток показали, что при совместном выращивании на 20-й день в каллусах появляются мертвые клетки. Это, по-видимому, объясняется тем, что интенсивно растущие клубеньковые бактерии мешают дальнейшему росту каллусов.

Изучали также влияние корневых каллусов сои на рост клубеньковых бактерий других видов. Выяснилось, что на средах без каллусов, изученные штаммы клубеньковых бактерий не растут, или растут слабо, тогда как на среде с каллусами растут интенсивно (табл. 3).

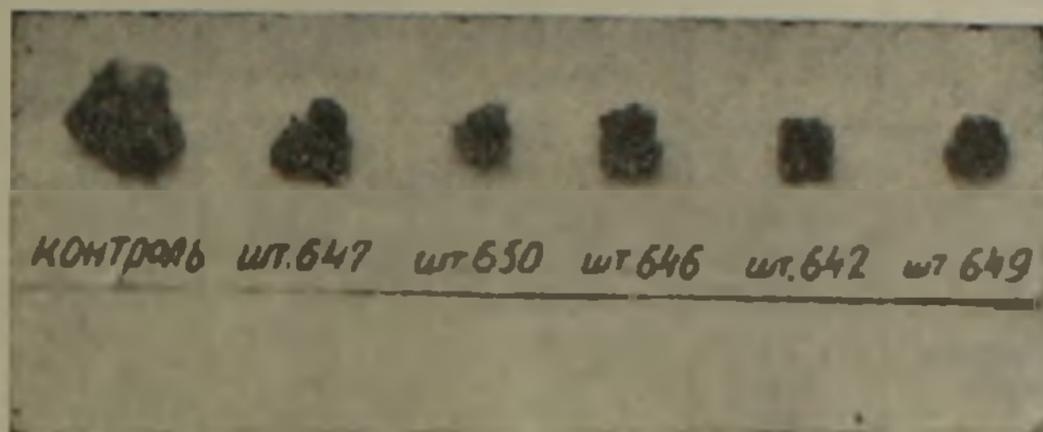


Рис. 3. Рост корневых каллусов сои при их совместном выращивании с разными штаммами клубеньковых бактерий сои

Таблица 3

Рост клубеньковых бактерий разных видов при совместном выращивании с корневыми каллусами сои

Виды клубеньковых бактерий	Номера штаммов	Рост клубеньковых бактерий	
		на среде без (каллусов)	на среде с каллусами
Люцерна	21	—	+++
Эспарцет	811	+	++
—	820	—	+
Вика	145	+	+++
Горюх	227	+	+++
—	250	++	+++
Фасоль	679	—	++
—	680	—	+++

Штаммы клубеньковых бактерий разных видов также хорошо растут при совместном выращивании с корневыми клетками сои и в условиях суспендиальных культур (табл. 4). Как показывают данные таблицы, клубеньковые бактерии фасоли (шт. 678, 680, 683), гороха, эспарцета и сои в контрольных средах не растут, а в присутствии корневых клеток они интенсивно растут. Часто этот рост не поддается учету, так как клубеньковые бактерии образуют большую биомассу, иногда с густой слизью. Вследствие этого получается несоответствие между числом клубеньковых бактерий и весом их биомассы.

Из всего изложенного можно сделать следующее заключение. Оптимальной средой для получения каллусных культур из корней сои является измененная среда Гамборга. При совместном выращивании корневых каллусов сои и клубеньковых бактерий сои, бактерии хорошо растут только в присутствии каллусов, при этом размеры клеток клубеньковых бактерий увеличиваются. Вместе с тем интенсивно растущие

Рост клубеньковых бактерий разных видов при совместном выращивании с корневыми клетками сои в суспензионных культурах

Виды клубеньковых бактерий	Номера штаммов	Число клубеньковых бактерий (в тыс /мл), выращенных		Вес сухой биомассы, г/л
		без растительных клеток (контроль)	с растительными клетками	
Фасоль	678	0	144 500.0	26.0
—	679	3	189.7	5.2
—	680	0	16 700.0	23.6
—	183	0	∞	9.6
Люцерна	21	55.9	169.5	4.8
Горох	210	0	∞	15.4
—	250	0	∞	19.0
Эспарцет	820	0	1 891.0	18.3
Соя	649	0	738.8	2.8

клубеньковые бактерии сои подавляют рост каллусов—калусы при этом буреют и в них появляются мертвые клетки.

При совместном выращивании корневых каллусов сои с клубеньковыми бактериями разных видов, или корневых клеток сои с бактериями в условиях суспензионной культуры, рост клубеньковых бактерий разных видов протекает интенсивно, тогда как на средах без каллусов клубеньковые бактерии не растут или растут слабо.

Институт микробиологии Академии наук  
Армянской ССР

Ե. Լ. ՔԱԼԱԶՅԱՆ, Ռ. Շ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, ակադեմիկոս Մ. Բ. ՉԱԿԱԿՅԱՆ

**Սոյայի արմատային կալուսները և նրանց ազդեցությունը պալարաբակտերիաների անման վրա**

Ընտրվել են համապատասխան սննդամիջավայրեր սոյայի արմատային կալուսների ստացման և աճեցման համար: Պարզվել է, որ սոյայի արմատային կալուսների ստացման համար օպտիմալ սննդամիջավայր է հանդիսացել Կամբորգի սննդամիջավայրի փոփոխված տարրերակր:

Սոյայի արմատային կալուսների և սոյայի պալարաբակտերիաների համատեղ աճեցողության ժամանակ խթանվում է բակտերիաների աճը: Ինտենսիվ աճող պալարաբակտերիաները ճնշում են կալուսի աճը, կալուսը մզանում է և նրանում հայտնաբերվում են մեռած բջիջներ:

Սոյայի արմատային հյուսվածքների ու բջիջների հետ համատեղ աճեցողության ժամանակ ինտենսիվ են աճում նաև պալարաբակտերիաների այլ տեսակները: Սրանք նույնպես ստուգիչ սննդամիջավայրերի վրա կամ չեն աճում և կամ աճում են թույլ:

ЛИТЕРАТУРА — ЦИЦЦЬ ПРРАПЬ

<sup>1</sup> Р. Г. Бутенко. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений, М. 1964. <sup>2</sup> I. Vellky, La Rue T. A. Naturwiss., v. 54, 96 (1957). <sup>3</sup> R. H. Graham. Fylop, v. 25, 159 (1968). <sup>4</sup> R. D. Holsten, R. C. Burns et al., Nature, v. 232, 5707, 173 (1971). <sup>5</sup> М. Г. Шамцяк, Е. Н. Аввакумова, М. Х. Чайлахян. ДАН СССР, т. 222, № 3 (1975). <sup>6</sup> Р. Ш. Арутюнян, Н. Л. Каладжян, М. Д. Степанян, Н. А. Карапетян, М. Х. Чайлахян. ДАН СССР, т. 229, № 5 (1976). <sup>7</sup> M. Reporter, N. Hermina Biochem. and Biophys. Res Commun., v. 64, 4, 1126 (1957). <sup>8</sup> J. J. Child and T. A. La Rue. Plant physiol., v. 53, n. 1 (1974). <sup>9</sup> O. I. Gamborg, R. A. Miller and K. Ojima. Exptl. Cell. Res. 50 (1968).