ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ
ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

LXXV 1982 1

УДК 581.1.035.23

МИКРОБИОЛОГИЯ

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

# Влияние корневых клеток бобовых и злаковых растений на рост клубеньковых бактерий

(Представлено 13/IV 1981)

Известно, что бактерии рода Rhizobium способны образовывать клубеньки на корнях растений, принадлежащих к семейству бобовых. Однако до сих пор не выяснены причины подобной специфичности. Одной из них может быть взаимное влияние симбиотических партнеров на их рост.

Показано, что клубеньковые бактерии могут менять растение-хозяина в пределах семейства бобовых ([1,2]). В последние годы установлено, что клубеньковые бактерии некоторых штаммов способны проявлять азотфиксирующую активность в ассоциациях с культурой тканей ряда небобовых растений ([3–7]). Более того, клубеньковые бактерии способны осуществлять азотфиксацию на искусственных средах в присутствии некоторых метаболитов растений ([8–12]). Все это дает основание предполагать, что более детальное изучение поведения партнеров в азотфиксирующем симбиозе приведет к выявлению механизмов, обусловливающих его образование. А это позволит подойти к решению вопроса о возможности создания симбиоза между клубеньковыми бактериями и злаковыми культурами. Возможность создания такого симбиоза часто обсуждается в современной литературе ([13]).

Наши предыдущие работы ([14–17]) показали, что совместное выращивание каллусных и клеточных культур корней бобовых растений с клубеньковыми бактериями в условиях in vitro стимулирует рост последних. Стимуляция роста клубеньковых бактерий обусловливается метаболитами, выделяемыми корневыми клетками бобовых растений, так как рост клубеньковых бактерий стимулируется также при их выращивании в фильтратах суспензионных культур растительных клеток.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния метаболитов культуры клеток и тканей корней бобовых и небобовых (злаковых) растений на рост клубеньковых бактерий в условиях совместного выращивания.

Для этого нами были получены культуры тканей из корней кукурузы и пшеницы. Культуры были получены на среде Мурашиге и Скуга с добавлением в среду препаратов пиклорама для пшеницы и дикамбы для кукурузы, в расчете 0,5 мг/л; препараты получены от Все-

союзного института химических средств защиты растений. Из среды исключалась β-индолилуксусная кислота (ИУК), так как она инициирует органогенез в культуре ткани. В присутствии в среде ИУК на каллусной ткани кукурузы начинается образование корней (рис. 1).

Для получения изолированных тканей корней злаковых растений часть их выращивали на среде Мурашиге и Скуга, другую часть—на среде Ковровцевой. В первом случае рост корневых тканей проходил быстрее (рис. 2).

Рис. 1. Культура тканей корней кукурузы на среде Мурашиге и Скуга с добавлением β-индолилуксусной кислоты (слева) и на той же среде без ИУК (справа)

Рис. 2. Культура тканей корней кукурузы, полученных из растений, выращенных на среде Мурашиге и Скуга (слева) и на среде Ковровцевой (справа)

Рост тканей корней пшеницы и кукурузы протекал в 7—10 раз медленнее, чем рост тканей корней бобовых растений в наших предыдущих опытах ([14–17]).

Влияние тканей корней бобовых и злаковых растений на рост клубеньковых бактерий изучали при их совместном выращивании на агаризованных средах в чашках Петри, а также в условиях суспензионных культур. В чашках Петри, на агаризованных средах, предназначенных для роста растительных клеток, высевали клубеньковые бактерии. Затем на разных сегментах чашки помещали кусочки выжатых тканей корней бобовых растений—фасоли, гороха, сои, эспарцета и злаковых—пшеницы и кукурузы. Через 2—3 дня учитывали рост клубеньковых бактерий вокруг этих кусочков.

Данные табл. 1 показывают, что метаболиты тканей корней и бобовых, и небобовых (злаковых) растений стимулируют рост разных видов клубеньковых бактерий. Отсутствие роста некоторых штаммов клубеньковых бактерий вокруг тканей корней гороха и фасоли, на наш взгляд, объясняется тем, что эти ткани были более сухими по сравнению с другими. Более увлажненными были ткани сои, и вокруг них образовалась стимуляционная зона почти всех испытанных штаммов клубеньковых бактерий.

Данные табл. 2 показывают рост клубеньковых бактерий при их совместном выращивании с корневыми клетками бобовых и небобовых растений в условиях суспензионных культур. Как и в наших пре-

дыдущих опытах в контрольных вариантах, где в среде отсутствуют растительные клетки, клубеньковые бактерии не росли, а в среде с растительными клетками росли интенсивно.

*Таблица 1*

Влияние тканей корней бобовых и злаковых растений на рост клубеньковых бактерий

| Виды клубеньковой бактерии и номер штамма | | Ткани корней | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | фасоли | гороха | сои | эспарцета | пшеницы | кукурузы |
| Горох | 210 | + | — | + | + | + | + |
| | 245 | + | + | + | + | — | — |
| | 248 | + | + | + | + | + | + |
| | 227 | — | — | — | — | — | — |
| Фасоль | 679 | — | — | + | + | + | + |
| | 680 | — | — | + | + | + | + |
| | 683 | + | + | + | + | + | + |
| | 678 | + | — | + | — | + | + |
| | 685 | — | — | + | + | + | — |
| Соя | 647 | — | + | + | — | + | — |
| | 646 | + | + | + | — | — | — |
| | 650 | — | — | + | — | — | — |
| | 648 | — | — | + | + | + | + |
| Эспарцет | 811 | — | — | — | + | + | — |
| | 820 | + | + | + | + | + | — |

\+ стимуляция роста; — отсутствие роста.

*Таблица 2*

Рост клубеньковых бактерий при их совместном выращивании с корневыми клетками пшеницы, эспарцета и сои в условиях суспензионной культуры (число бактерий в 1 мл)

| Вид клубеньковой бактерии и номер штамма | | Выращивание в среде | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | без растительных клеток (контроль) | с растительными клетками | | |
| | | | пшеницы | эспарцета | сои |
| Фасоль | 678 | 0 | 40 | 7200 | 139200 |
| | 679 | 0 | 0 | 5500 | 23000 |
| Горох | 202 | 0 | 0 | 1772000 | 53000 |
| | 227 | 0 | 0 | 189700 | 77200 |
| Эспарцет | 56 | 0 | 10760 | 2922000 | 17440 |
| | 810 | 0 | 0 | | 79500 |
| Соя | 646 | 0 | 0 | | 563800 |
| | 647 | 0 | 0 | 305000 | 17000 |

При совместном выращивании с корневыми клетками эспарцета и сои в 1 мл число клубеньковых бактерий составило десятки тысяч и даже миллионы. Однако при совместном выращивании с корневыми клетками пшеницы увеличивался только рост штаммов клубеньковых бактерий фасоли шт. 678 и эспарцета шт. 56. Число клубеньковых бактерий в 1 мл суспензионной культуры при этом составляло соответственно 40 и 10 760 клеток.

Отсутствие роста большинства штаммов клубеньковых бактерий при совместном выращивании с корневыми клетками пшеницы в этом опыте объясняется тем, что изолированные клетки пшеницы растут в 7—10 раз медленнее, чем клетки сои и эспарцета, поэтому в момент внесения в среду клубеньковых бактерий рост пшеницы, а следовательно, и количество выделяемых ими метаболитов в суспензионной культуре были весьма ограничены.

Учитывая это, в последующих опытах инкубацию изолированных клеток пшеницы и кукурузы продлили до 14—15 дней, после чего в суспензию вводили клубеньковые бактерии. В результате этого влияние корневых клеток пшеницы и кукурузы на рост клубеньковых бактерий при совместном выращивании оказалось более отчетливым. Это выявилось в опытах, проведенных с корневыми клетками пшеницы и кукурузы.

Результаты опыта с клетками пшеницы приводятся в табл. 3. Они показывают, что в контрольном варианте, где отсутствовали растительные клетки, клубеньковые бактерии вовсе не росли, а при совместном выращивании с растительными клетками пшеницы они росли интенсивно, как это было при совместном выращивании с растительными клетками бобовых растений.

Исключение составили только штаммы клубеньковых бактерий фасоли 679, сои 648 и гороха 210, которые не росли в присутствии растительных клеток пшеницы.

*Таблица 3*

Рост клубеньковых бактерий при их совместном выращивании с корневыми клетками пшеницы в условиях суспензионной культуры (число бактерий в 1 мл в тысячах)

| Вид клубеньковой бактерии и номер штамма | | Выращивание в среде | |
|---|---|---|---|
| | | без растительных клеток (контроль) | с растительными клетками |
| Фасоль | 679 | 0 | 0 |
| | 680 | 0 | 3040,0 |
| | 683 | 0 | 194,0 |
| Горох | 245 | 0 | 346,0 |
| | 210 | 0 | 0 |
| | 248 | 0 | 39280,0 |
| | 250 | 0 | [illegible] |
| Эспарцет | 811 | 0 | 1040,0 |
| | 820 | 0 | 4200,0 |
| | 821 | 0 | 780,0 |
| Соя | 647 | 0 | 64000,0 |
| | 648 | 0 | 0 |
| | 649 | 0 | 140,0 |
| | 650 | 0 | 4,8 |

Результаты опыта с клетками кукурузы приводятся в табл. 4. Они свидетельствуют о том, что рост клубеньковых бактерий всех испытанных штаммов также стимулировался при их совместной культуре с корневыми клетками кукурузы (табл. 4).

Результаты всех проведенных опытов показывают, что при совместном культивировании на агаризованной среде и в условиях сус-

*Таблица 4*

Рост клубеньковых бактерий при их совместном выращивании с корневыми клетками кукурузы в условиях суспензионной культуры (число бактерий в 1 мл в тысячах)

| Вид клубеньковой бактерии и номер штамма | | Выращивание в среде | |
|---|---|---|---|
| | | без растительных клеток (контроль) | с растительными клетками |
| Фасоль | 683 | 0 | 352.0 |
| | 678 | 0 | 500.0 |
| Горох | 210 | 0 | 161.0 |
| | 245 | 0 | 10800.0 |
| Соя | 649 | 1 | 12100.0 |
| | 650 | 0 | 104.8 |
| Эспарцет | 811 | 0 | 23900.0 |
| | 820 | 0 | 91.0 |

пензионной культуры корневые клетки как бобовых, так и злаковых растений стимулируют рост разных видов клубеньковых бактерий. Интенсивный рост клубеньковых бактерий обусловливается веществами, выделяемыми корневыми клетками.

Таким образом в процессе роста клубеньковые бактерии не проявляют избирательности к метаболитам тканей и клеток бобовых и злаковых растений. Следовательно, в этих условиях метаболиты, содействующие росту клубеньковых бактерий, оказываются неспецифичными для бобовых растений.

Институт микробиологии
Академии наук Армянской ССР

Ն. Լ. ՔԱԼԱՋՅԱՆ, Ռ. Շ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Է. Ն. ՕՀԱՆՅԱՆ, ակադեմիկոս Մ. Ջ. ՋԱՅԼԱԽՅԱՆ

## Թիթեռնածաղկավոր և հացազգի բույսերի արմատային բջիջների ազդեցությունը պալարաբակտերիաների աճման վրա

*Փորձարկվել են թիթեռնածաղկավոր և հացազգի բույսերի արմատային հյուսվածքների և մեկուսացված բջիջների ազդեցությունը պալարաբակտերիաների աճման վրա ագարային սննդամիջավայրերի վրա և սուսպենզիոն կուլտուրայի պայմաններում համատեղ աճեցողության ժամանակ։*

*Պարզվել է, որ՝ թիթեռնածաղկավոր և՝ հացազգի բույսերի արմատային բջիջները in vitro կուլտուրայի պայմաններում համատեղ աճեցողության ժամանակ խթանում են պալարաբակտերիաների աճը։*

*Պալարաբակտերիաների աճը պայմանավորվում է արմատային բջիջների կողմից արտազատվող մետաբոլիտներով։*

*Աճման ընթացքում պալարաբակտերիաներն ընտրողական վերաբերմունք չեն ցուցաբերում թիթեռնածաղկավոր և հացազգի բույսերի արմատային մետաբոլիտների նկատմամբ։ Հետևաբար այս պայմաններում պալարաբակտերիաների աճեցողությանը նպաստող բուսական մետաբոլիտները յուրահատուկ չեն միայն թիթեռնածաղկավոր բույսերին։*

## ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ


[1] *Е. Н. Мишустин, В. К. Шильникова,* Биологическая фиксация атмосферного азота. Наука. М., 1968. [2] *Е. Н. Мишустин, В. К. Шильникова,* Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс у бобовых растений. Наука, М., 1975. [3] *J. J. Child,* Nature, vol. 253, N 5490 (1975) [4] *A. H. Gibson, J. J. Child, J. D. Pagen, W. R. Scowcroft,* Planta, vol. 128, N 3 (1976). [5] *V. Ranga-Rao,* Plant. Sci. lett. vol. 6. N 2 (1976). [6] *W. R. Scowcroft, A. H. Gibson,* Nature, vol. 253, N 5490 (1975). [7] *Г. Н. Юркова, М. М. Ничик, Б. А. Левенко, Е. П. Старченко,* ДАН СССР, т. 230, № 4, (1976). [8] *J. D. Ragan, J. J. Child, W. R. Scowcroft,* Nature, vol. 256, N 5516 (1975). [9] *W. G. N. Kurz, T. A. La Rue,* Nature, vol. 256, N 5516 (1975). [10] *J. A. Mc Comb, J. Elliott, M. J. Dilworth,* Nature, vol. 256, N 5516 (1975). [11] *J. Tierkema, T. Evans Horold,* Biochem. and Biophys. Res. Comuns, vol. 65, N 2 (1975). [12] *А. Н. Парийская, Т. А. Калининская,* Микробиология, т. 46, № 1 (1977). [13] *А. Н. Парийская,* Успехи микробиологии, № 10, 1975. [14] *Р. Ш. Арутюнян, Н. Л. Каладжян, М. Д. Степанян и др.,* ДАН СССР, т. 229, № 5 (1976). [15] *Н. Л. Каладжян, Р. Ш. Арутюнян, М. Х. Чайлахян,* ДАН Арм.ССР, т. 66 № 4 (1978). [16] *Н. Л. Каладжян, Р. Ш. Арутюнян, М. Х. Чайлахян,* ДАН СССР, т. 242, № 1 (1978). [17] *Н. Л. Каладжян, Р. Ш. Арутюнян, М. Х. Чайлахян,* в сб: Вопросы микробиологии, т. 8 (18), Изд. АН АрмССР, 1979.