

# ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛУБЕНЬКОВ РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ СОРТОВ ГЕЛИАДА И ШОКОЛАДНИЦА ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭПИН-ЭКСТРА

О.Г. Волобуева<sup>1</sup>, М.П. Мирошникова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия, [ovolobueva@list.ru](mailto:ovolobueva@list.ru)

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур», Орёл, Россия

**Аннотация.** Электронномикроскопически установлено изменение ультраструктуры клубеньков растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница под влиянием Эпин-экстра. У растений фасоли сорта Гелиада наблюдалась наибольшая площадь симбиосом, включений волютина и их количество. У растений фасоли сорта Шоколадница наибольшая площадь, количество бактериоидов и включений волютина отмечено в варианте с обработкой только Ризоторфином.

**Ключевые слова:** ультраструктура клубеньков, симбиосомы, бактериоиды, волютин, фасоль

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-1215-1218

В настоящее время в связи с ухудшающимися природно-климатическими условиями и экологической обстановкой, все более актуальным становится использование биопрепаратов и регуляторов роста антистрессорного действия [Колмыкова, Лукаткин, 2012]. Одним из таких препаратов является Эпин-экстра. Эпин-экстра – синтетический аналог брассиностероидов, действующее вещество эпибрассинолид (ЭПБ). Фитогормон широкого диапазона действия вызывает большой спектр клеточных ответов, включая рост растений, прорастание семян, фиксацию азота, повышение устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам [Хрипач и др., 1993; Будыкина и др., 2011, 2013; Sasse, 2003; Hasan et al., 2008]. Механизм действия связан с повышением активности ДНК и РНК-полимераз, влиянием на аминокислотный состав белков, а возможно, с влиянием на структурно-функциональные свойства клеточных мембран. Брассины стимулируют АТФ-азную активность, изменяют жирнокислотный состав липидной фракции мембран, активизируют протонный насос. Цель работы – изучение влияния предпосевной обработки семян препаратом Эпин-экстра и Ризоторфином на ультраструктуру клубеньков растений фасоли разных сортов. Полевые опыты проводили в ФГБНУ ВНИИ зернобобовых и крупяных культур (Орловская область).

Условия проведения опыта изложены ранее [Волобуева, 2015]. Для электронномикроскопических исследований фиксацию клубеньков в глутаральдегиде проводили по методу [Sabatini et al., 1963]. Срезы получили на ультрамикротоме «LKB-3» (LKB, Швеция), контрастировали 1%-ным водным раствором уранилацетата и 0,2%-ным цитратом свинца. Их просматривали под электронным микроскопом «TEMSCAN 100CX2» (JEOL, Япония). Морфометрические исследования провели на приборе «MOP-VIDEOPLAN» фирмы (Reichert, Австрия), статистическую обработку результатов – с использованием программы Statistica for Microsoft Windows.

Применив метод электронной микроскопии по изучению ультраструктуры клубеньков, удалось установить следующее. Изучение зрелой бактериоидной ткани показало, что в клубеньках всех вариантов бактериоидная зона была заполнена сформировавшимися бактериоидами и бактериоидами с сильно развитым перибактероидным пространством (ПБП). По данным И.Н. Андреевой [Андреева, 1989]

ПБП, как зона между макро- и микросимбионтом, ограниченная перибактероидной (ПБМ) или симбиосомной мембраной (СМ), играет важную роль в регуляции транспорта веществ и метаболизма формирующихся и функционирующих симбиосом. Ризобии в процессе образования клубенька превращаются в бактериоиды, которые вместе с окружающей их симбиосомной мембраной составляют симбиосому. В наших исследованиях ПБП было хорошо развито в варианте с обработкой Эпином-экстра у сорта Гелиада. В зависимости от периода развития симбиосом ПБП претерпевает существенные изменения, что проявляется в увеличении его объема, числа содержащихся в нем бактериоидов, наличии мембранно-фибриллярных структур. В процессе биогенеза СМ активно участвуют диктиосомы аппарата Гольджи и цистерны гранулярно эндоплазматического ретикулама растительной клетки. СМ представляет собой пограничную мембрану между микро- и макросимбионтами, создавая структурную и метаболическую компартментализацию за счет разделения всей симбиотической системы на три основные составляющие: цитоплазма растительной клетки (макросимбионта), ПБП, бактериоиды [Измайлов, 2014]. Помимо обязательных компонентов рибосом и внутриклеточных мембранных структур в клетках бактериоидов имеются непостоянные компоненты – гранулы включений волютина (В), гликогена, липидов, в частности поли- $\beta$ -оксимасляной кислоты (ПОМ). Волютин рассматривается как запасное вещество, подобное крахмалу, гликогену, жиру, как резерв неорганических фосфатов. Основную часть волютиновых гранул составляют полифосфаты. Волютин служит запасным резервуаром фосфата, важного предшественника в синтезе АТФ и ДНК. ПОМ – запасное вещество, эндогенный накопитель энергии и углерода для прокариот. Наличие этого эндогенного резерва определяет большую пластичность метаболизма ризобий в чистых культурах [Романов, 1977]. В.И. Романов [Романов и др., 1987] показали, что существует строгая обратная зависимость между интенсивностью азотфиксации и дыханием, с одной стороны, и содержанием ПОМ в бактериоидах, с другой. Обычно при активной азотфиксации содержание ПОМ в клетках бактерий минимально, поскольку синтез и распад ПОМ при этом наиболее интенсивны. Результаты наших исследований показали, что в вариантах обработки препаратом Эпин-экстра увеличивались площадь и количество бактериоидов, включений волютина и снижалась площадь и количество включений ПОМ у растений фасоли сорта Гелиада. У растений фасоли сорта Шоколадница в варианте с обработкой только Ризоторфином наблюдалось увеличение площади и количества бактериоидов и включений волютина и снижение площади и количества включений ПОМ (таблица). Азотфиксация, осуществляемая ризобиями, достаточно энергозатратный процесс, поэтому наличие гранул волютина можно рассматривать как один из возможных источников энергии этого процесса. Площадь и количество включений волютина было больше в тех вариантах, где наблюдали наибольшую азотфиксирующую активность в клубеньках растений фасоли, а депонирование ПОМ в клетках, обычно свидетельствует о невысоком уровне азотфиксации.

Таким образом, установлена сортовая реакция растений фасоли на обработку препаратом Эпин-экстра: наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт фасоли Гелиада. У растений фасоли сорта Шоколадница в большей степени проявилось действие Ризоторфина. В клубеньках растений этого сорта наблюдалось увеличение площади и количества бактериоидов, площади и количества включений волютина. Площадь и количество ПОМ в этом варианте было минимальным. Наиболее активно процессы азотфиксации протекали в вариантах с большим количеством бактериоидов, с большим количеством и большей площадью гранул включений волютина. Содержание в клетках включений волютина и ПОМ может служить для некоторых видов ризобий дополнительной характеристикой активности симбиотической системы.

Таблица.

## Изменение ультраструктуры клубеньков фасоли

Вариант	Площадь, мкм <sup>2</sup>			Количество, шт		
	бактероиды	ПОМ	воллютин	бактероиды	ПОМ	воллютин
Гелиада, Ризоторфин	0,091±0,003	0,033± 0,002	0,014± 0,0002	4,28±0,14	1,62± 0,080	9,51±0,37
Гелиада, Эпин-экстра	0,47±0,017	0,023± 0,001	0,018± 0,0004	23,56±2,28	0,62± 0,100	10,41± 0,28
Шоколадница, Ризоторфин	0,56±0,028	0,023± 0,001	0,033± 0,0007	24,70±1,93	1,09± 0,056	9,08±0,37
Шоколадница, Эпин-экстра	0,54±0,013	0,031± 0,001	0,026± 0,0007	16,41±1,05	1,69± 0,055	6,10±0,22

## Литература

Андреева И.Н. Структурно-функциональная организация взаимоотношений растительной клетки и эндوفита в клубеньках бобовых и небобовых (актиноризных) растений /Дис. д-ра б. наук. – М., 1986. – 301 с.

Будыкина Н.П., Алексеева Т.Ф., Хилков Н.И. Действие препарата эпин-экстра на растения огурца в защищенном грунте // Агрохимия. – 2011. – № 1. – С. 28–34.

Будыкина Н.П., Шиббаева Т.Г., Титов А.Ф. Эффективность препарата Эпин-экстра при выращивании сладкого перца (*Capsicum annuum* L.) в защищенном грунте в условиях Северо-Запада России // Агрохимия. – 2013. – № 11. – С. 38–44.

Волобуева О.Г. Эффективность инокуляции семян фасоли при обработке препаратом Эпин-экстра // Научно-производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры». – 2015. – № 4 (16). – С. 42–47.

Измайлов С.Ф. Симбиосомная мембрана. – Москва: Наука, 2014. – 110 с.

Колмыкова Т.С., Лукаткин А.С. Эффективность регуляторов роста растений при действии абиотических стрессовых факторов // Агрохимия. – 2012. – № 1. – С. 83–94.

Романов В.И. Азотфиксация и метаболизм фотоассимилятов в клубеньках бобовых растений: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М: Ин-т биохимии им. А.Н Баха АН СССР, 1987. – 46 с.

Романов В.И. Физиологическая роль и метаболизм ПОМ у микроорганизмов // Успехи биол. химии. – 1977. – Т. 18. – С. 211–230.

Романов В.И., Четкова С.А., Тихонович И.А., Алисова С.М., Кретович В.Л. Азотфиксация у хлорофильных мутантов гороха // Доклады АН СССР. – 1987. – Т. 294. – С. 1277–1280.

Хрипач В.А., Жабинский В.А., Лахвич Ф.А. Перспективы практического применения брассиностероидов – нового класса фитогормонов // Сельскохозяйственная биология. – 1995. – № 1. – С. 3–11.

Hasan S.A., Hayat S., Ali B., Ahmad A. 28-homobrassinolide protects chickpea (*cicer arietinum*) from cadmium toxicity by stimulating antioxidants // Environ Pollut. – 2008. – V. 151. – P. 60–66.

Sabatini D.D., Bensch R., Barnett R.J. Cytochemistry and electron microscopy the preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation // J. Cell. Biol. – 1963. – V.1. – No. 1. – P. 16–58.

Sasse J.M. Physiological actions of brassinosteroids: an update // J. Plant Growth Regul. – 2003. – V. 22. – P. 276–288.

**CHANGE IN THE ULTRASTRUCTURE OF NODULES IN BEAN PLANTS  
VARIETIES GELIADA AND CHOKOLADNITSA,  
UNDER THE INFLUENCE OF EPIN-EXTRA**

O.G. Volobueva<sup>1</sup>, M.P. Miroshnikova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Russian Timiryazev State Agrarian University”, Moscow, Russia, *ovolobueva@list.ru*

<sup>2</sup>The All-Russia Research Institute of Legumes and Groat Crops, Orel, Russia

**Abstract.** Electron microscopy revealed a change in the ultrastructure of nodule plants of Goliad and Chokoladnitsa bean cultivars under the influence of Epin-extra. The largest area of symbiosis, volutin inclusions and their number were observed in the plants of the Geliad bean plant. In the plants of the bean variety, Chokoladnitsa, the largest area, the number of bacteroides and volutin inclusions was noted in the variant with treatment with only Risotorfin.

**Keywords:** *ultrastructure of nodules, symbiosomes, bacteroids, volute, beans*