

Особенности функционирования симбиотической системы *Rhizobium-Glycyrrhiza uralensis* в условиях хлоридного засоления

Т. И. НОВИКОВА, Н. Я. ГОРДИЕНКО

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090 Новосибирск, ул. Золото долинская, 101

АННОТАЦИЯ

Исследовали действие хлоридного засоления на развитие симбиотической системы *Glycyrrhiza uralensis* – *Rhizobium* sp.: инфицирование, формирование клубеньков и азотфиксацию. Низкие концентрации соли (34 мМ) стимулировали образование клубеньков и азотфиксацию. Повышение хлоридного засоления (102–204 мМ) снижало нодуляцию, ингибируя начальные этапы развития симбиоза – скручивание корневых волосков и образование инфекционных нитей. С помощью световой, трансмиссионной электронной микроскопии и компьютерного морфометрического анализа изучена структура клубеньков, сформировавшихся на фоне 170–204 мМ. Для них была характерна относительно меньшая площадь инфицированных клеток, более низкая плотность бактерий и небольшие их размеры по сравнению с контрольным вариантом. Образование клубеньков у солодки уральской полностью подавлялось при концентрации 238 мМ NaCl, что свидетельствует о довольно высокой солеустойчивости симбиотической системы. Клубеньки, сформировавшиеся на пресном фоне, более чувствительны к солевому стрессу, чем образовавшиеся в присутствии соли. Нитрогеназная активность клубеньков после 96 ч обработки 170 мМ NaCl составила 40 % от контроля. Снижение нитрагеназной активности сопровождалось плазмоллизом инфицированных клеток, разрушением перибактероидных мембран, нарушениями в структуре бактериоидов.

Одной из причин снижения продуктивности растений в условиях засоления является неблагоприятный режим азотного питания. Применение азотных удобрений способствует повышению солеустойчивости бобовых культур [1], но в то же время приводит к росту степени засоления почв [2]. Поэтому использование азотфиксирующего потенциала бобовых является основой для создания экологически чистых технологий освоения засоленных земель. В целом культурные виды бобовых не отличаются высокой солеустойчивостью [3,4]. Решение проблемы заключается в выборе бобовых, являющихся компонентами природных аридных экосистем, которые в комбинации с солеустойчивыми штаммами клубеньковых бактерий обеспечат высокую эффективность фиксации азота [5]. С этих позиций нами в качестве объекта исследо-

вания выбрана солодка уральская *Glycyrrhiza uralensis* Fish. Это растение обладает не только ценными лекарственно-техническими свойствами, но и способно рассаливать почвы, что позволяет использовать его в фитомелиоративных целях [6]. Необходимой предпосылкой для использования азотфиксирующего потенциала солодки является изучение особенностей функционирования симбиотической системы *Rhizobium* – *Glycyrrhiza uralensis* в условиях засоления.

Известно, что взаимодействие макро- и микросимбионта – многостадийный процесс, эффективность сложившейся системы зависит от успешности прохождения каждой стадии. Цель настоящего исследования – изучение действия хлоридного засоления на следующие стадии симбиоза: инфицирования, формирования клу-

беньков, активной азотфиксации. Кроме того, ставилась задача изучения структурно-функциональных нарушений симбиотической системы солодки при действии солевого стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клубеньковые бактерии

Штамм клубеньковых бактерий изолировали из клубеньков дикорастущей солодки уральской и культивировали на минерально-дрожжевой среде [7].

Для инокуляции семян использовали суспензию трехдневной культуры (10^7 кл./мл).

Выращивание растений

В вегетационных опытах использовали семена солодки, любезно предоставленные В.П. Гранкиной (собранные в районе г. Семипалатинска, почвы – среднестолбчатые солонцы). Перед посевом семена стерилизовали 0,2 % раствором сулемы, затем многократно промывали дистиллированной водой и помещали для проращивания в чашки Петри на голодный агар. Наиболее однородные проростки инокулировали клубеньковыми бактериями и высаживали в сосуды с песком (объем 12 л). Растения выращивали в климатической камере, разработанной Р. Е. Крогулевичем [8]. В течение опытов поддерживался следующий режим: освещенность – 30 000 лк (лампы ДРФ-1000), фотопериод – 18 ч, никтопериод – 6 ч, температура – 25 °С. Для создания и поддержания стабильных условий засоления использовали сосуды для гидропонного выращивания растений, снабженные индивидуальной системой эрлифт. В качестве питательного раствора использовали смесь Кнопа с 0,1 нормой азота и микроэлементами по Хогланду [9], в опытные варианты вносили различные концентрации NaCl сразу при посеве или через временной интервал в зависимости от цели опыта. Контроль растворов проводили с помощью кондуктометра и рН-метра. Проведено три серии вегетационных опытов. В первой изучалось действие умеренных концентраций хлоридного засоления на формирование клубеньков (34 и 67 мМ NaCl вносили в питательный раствор при посеве ино-

кулированных проростков). Растения выращивали в течение 60 дней. Определяли массу надземной части и корней, количество клубеньков, массу клубеньков и их удельную нитрогеназную активность. Во второй серии опытов изучали влияние высоких концентраций хлоридного засоления (102, 135, 170, 204, 238 мМ) на образование клубеньков и их структуру. Соль в питательный раствор вносили одновременно с посадкой в сосуды инокулированных проростков. Через 2 мес после посева определяли количество клубеньков, их удельную нитрогеназную активность, а также фиксировали образцы для световой и электронной микроскопии. Для изучения действия солевого стресса на структуру и азотфиксирующую активность клубеньков, сформировавшихся на пресном фоне, поставлен отдельный опыт. Хлоридную соль до конечной концентрации 170 мМ вносили в питательный раствор через 5 нед. после посева, когда клубеньки хорошо развились. Затем через 24, 48, 72 и 96 ч после стресса определяли удельную нитрогеназную активность и отбирали клубеньки для микроскопии.

Определение нитрогеназной активности

Определение нитрогеназной активности проводили ацетиленовым методом [10]. Корни с клубеньками помещали в сосуды с вакуумными затворами, вводили в каждый флакон 10 % ацетилена и инкубировали 1 ч при 30 °С. Анализ газовой смеси проводили на газовом хроматографе "Хром-5" (Чехия), повторность определения восьмикратная.

Световая и электронная микроскопия

Образцы ткани (повторность пятикратная) фиксировали 2,5%-м раствором глутаральдегида в фосфатном буфере (рН 7,2), затем промывали фосфатным буфером и проводили дофиксацию в 1 % забуференном растворе оксида осмия (IV). После промывания фосфатным буфером и обезвоживания растворами спирта возрастающей концентрации и ацетоном образцы пропитывали аралдитом с последующей полимеризацией в термостате. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме

Tesla. Полутонкие окрашивали толуидиновым голубым и просматривали в световом микроскопе марки "Цейсс". Ультратонкие срезы окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе Tesla BS 500.

Морфометрический анализ

Компьютерный морфометрический анализ микрофотографий проведен с помощью прибора MOP Videoplan (Германия). Световые фотографии использовали для вычисления площадей зараженных и незараженных клеток. Электронные микрофотографии анализировали с целью определения размеров бактериоидов, их плотности, числа бактериоидов в перибактероидном пространстве, площади перибактероидного пространства, вычисленной как разность площади, окруженной перибактероидной мембраной, и суммарной площади заключенных в нее бактериоидов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Действие хлоридного засоления на инфицирование корневых волосков

Световая микроскопия корневых волосков инокулированных проростков солодки, поддерживаемых на пресном фоне, показала наличие характерных образований типа "барабанных палочек", "пастушьего крюка", содержащих инфекционные нити. Зона корневых волосков довольно протяженная. По мере повышения уровня засоления в среде выращивания до 238 мМ наблюдаются сокращение этой зоны, потемнение кончиков корней, уменьшение количества корневых волосков, появление укороченных корневых волосков луковичеобразной формы, не содержащих инфекционных нитей.

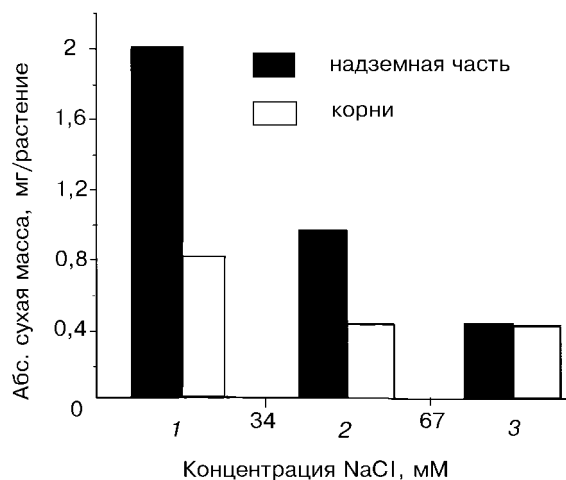


Рис. 1. Действие умеренных концентраций NaCl на абс. сухую массу корней и надземной массы: 1 – контроль, 2 – 34 мМ NaCl, 3 – 67 мМ NaCl

Влияние умеренных концентраций NaCl на развитие и симбиоз солодки

Растения солодки, выращенные на пресном фоне и на фоне невысоких концентраций хлоридного засоления (34 и 67 мМ), различались по фазе развития. Для солодки уральской характерна смена форм листьев в процессе онтогенеза, поэтому по их морфологии можно определить периоды роста надземного побега. В контрольном варианте в момент снятия опыта растения хорошо развиты, каждый побег наряду с простыми имел по 3–5 сложных пятилопастных листа. На фоне 34 мМ засоления у растений сформировалось по 1–3 сложных листа, а у побегов солодки, выращенных в присутствии 67 мМ NaCl, пятилопастные листья еще не развернулись. Засоление существенно уменьшает как надземную, так и подземную сухую массу растения (рис. 1). Корневая система менее подвержена действию соли, длина корней даже несколько увеличилась. Однако масса снизилась и составляла на фоне 34 мМ 51 %, 67 мМ – 47 %

Т а б л и ц а 1

Действие умеренных концентраций NaCl на образование клубеньков и азотфиксацию солодки

Концентрация NaCl, мМ	Количество клубеньков на 1 растение	Средняя сырая масса на 1 клубенек, мг	Средняя абс. сухая масса на 1 клубенек, мг	Удельная азотфиксирующая активность, $\mu\text{моль } \text{C}_2\text{H}_4 \text{ г}^{-1}\text{ч}^{-1}$
Контроль	116 ± 22	3,7 ± 0,2	0,56 ± 0,03	1,39 ± 0,14
34	252 ± 38	3,4 ± 0,5	0,45 ± 0,08	1,70 ± 0,17
67	129 ± 17	1,2 ± 0,1	0,21 ± 0,01	1,15 ± 0,16

от контроля. Для надземной части характерно снижение и ростовых показателей, особенно сухой массы (соответственно 47 и 20 % от контроля).

Невысокая концентрация соли (34 мМ) оказала стимулирующий эффект на образование клубеньков (табл. 1). Уровень нитрогеназной активности также несколько выше, чем в контроле. Клубеньки в этом варианте розовые, молодые или зрелые, стареющих практически не наблюдалось. Однако показатели сырой/сухой массы несколько ниже контрольных. В варианте с 67 мМ засолением образовалось множество мелких белых клубеньков. Их количество близко к контролю, но удельная нитрогеназная активность в 1,5 раза ниже, а по показателю сухой массы они в 2,6 раза меньше, чем клубеньки контрольного варианта.

Действие высоких концентраций NaCl на азотфиксацию и структуру корневых клубеньков солодки

По мере увеличения концентрации соли в питательном растворе от 102 до 238 мМ количество образовавшихся клубеньков снижается (рис. 2, А). На фоне 170 мМ засоления число клубеньков сократилось вдвое, а растения солодки, выращенные в присутствии 238 мМ NaCl, клубеньков не образовывали. Угнетение нодуляции сопровождалось резким снижением нитрогеназной активности (рис. 2, Б). Так, у клубеньков, сформировавшихся на фоне 204 мМ NaCl, удельная нитрогеназная активность составляла 7 % от контроля.

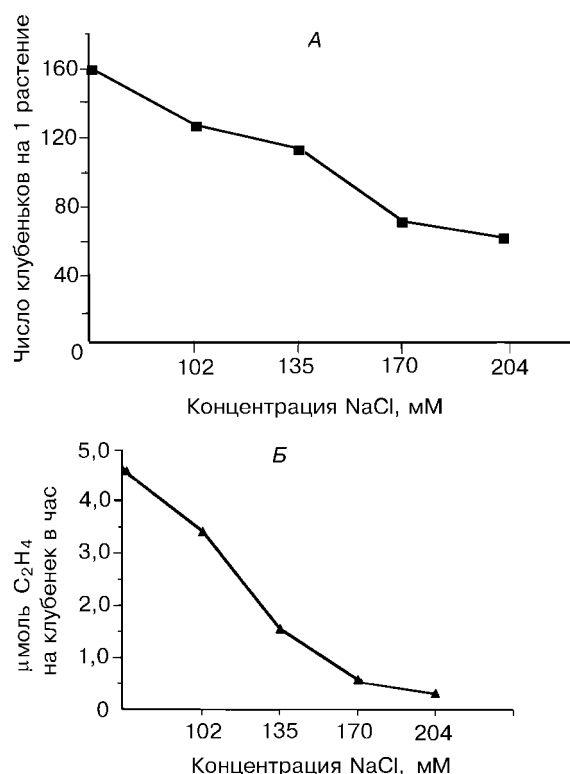


Рис. 2. Действие засоления на образование клубеньков (А) и нитрогеназную активность (Б).

С помощью световой микроскопии в центральной зоне клубеньков, выращенных на фоне 135, 170 и 204 мМ, наблюдалось явление плазмолиза в инфицированных клетках (рис. 3). Компьютерный морфометрический анализ показал, что площадь инфицированных клеток на фоне засоления уменьшается, отношение площади инфицированных клеток к площади неинфицированных также падает по мере увеличения концентрации NaCl в среде выращивания

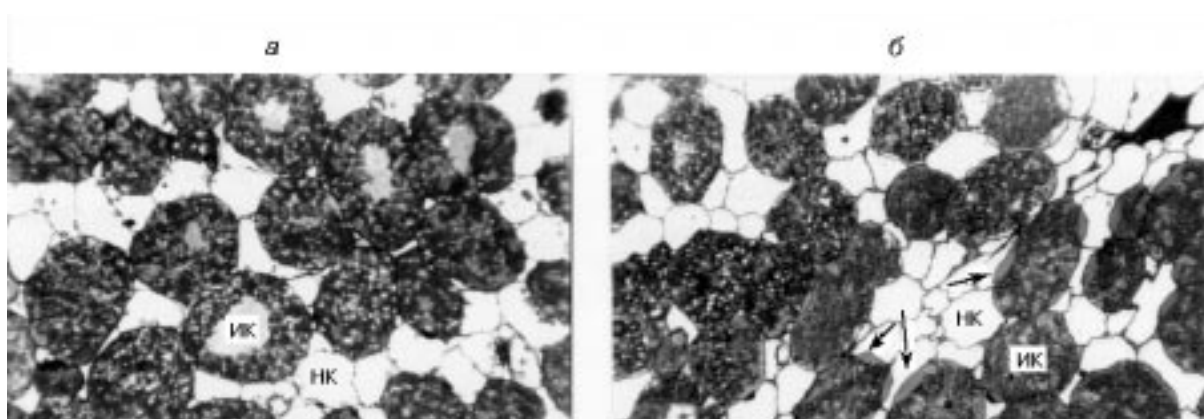


Рис. 3. Световая микроскопия бактериоидной зоны клубеньков: а – контроль, б – при действии 204 мМ NaCl; × 100. ИК – инфицированные клетки, НК – неинфицированные клетки. Стрелками показан плазмолиз инфицированных клеток.

Таблица 2

Морфометрическая обработка данных световой микроскопии клубеньков солодки, образовавшихся в условиях засоления

Обработка, mM NaCl	Площадь клеток, μm^2	
	инфицированных	неинфицированных
0 (контроль)	4703,2 \pm 384,4	698,0 \pm 60,2
170	4384,9 \pm 322,2	683,5 \pm 64,2
204	3283,0 \pm 207,4	852,5 \pm 85,6

Примечание. Значения даны как среднее \pm стандартная ошибка, количество измерений N = 60.

(табл. 2). На ультраструктурном уровне угнетающее действие высоких концентраций проявляется в увеличении площадей перибактероидных пространств (ПБП), возможно, за счет слияния нескольких ПБП (рис. 4). В результате на фоне 204 mM NaCl средняя площадь ПБП в 2,4 раза больше, чем в контроле. При этом число заключенных в ПБП бактериоидов также увеличивается с 6 до 10, но расположены бактерии реже, их плотность на единицу площади и размеры меньше, чем в контроле. Угнетающее действие соли затрагивает в первую очередь растительные бактериоидсодержащие клетки, что выражается в появлении сетчатых структур в ПБП, сокращении количества органелл и площади цитозоля. В инфицированных клетках присутствует крахмал, что редко встречается при активной фиксации азота.

Цитологическое исследование бактериоидов не выявило видимых нарушений в их структуре, следует отметить лишь значительное накопление поли- β -оксибутирата в цитоплазме.

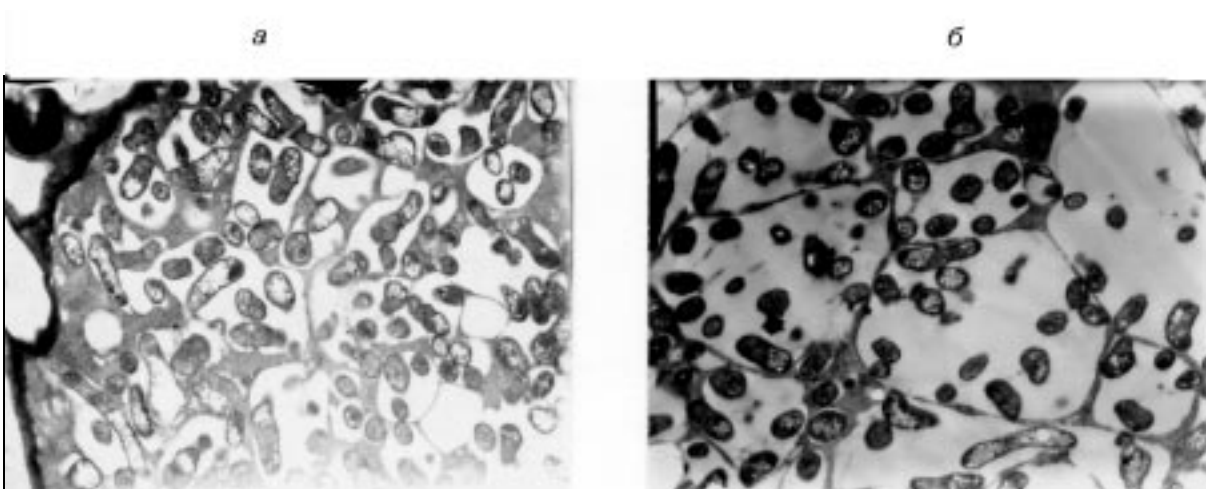


Рис. 4. Электронная микроскопия бактериоидной зоны клубеньков, образовавшихся на пресном фоне (а) и на фоне 204 mM NaCl (б); $\times 6000$.

Действие солевого стресса на симбиоз солодки

Внесение NaCl в питательную среду растений солодки с клубеньками, сформировавшимися на пресном фоне, позволило избежать повреждающего действия соли на этапе инфицирования и формирования клубеньков и оценить действие солевого стресса на активно функционирующую систему. Определение удельной нитрогеназной активности клубеньков через 24, 48, 72 и 96 ч после 170 mM NaCl стресса показало ее резкое подавление (рис. 5). Через 96 ч уровень азотфиксации составил 40 % от контроля.

По данным световой микроскопии на клеточном уровне отмечен плазмолиз в инфицированных и неинфицированных клетках. Изучение клубеньковой ткани на субклеточном уровне показало, что через 24 ч после внесения соли происходят конденсация хроматина в ядрах, дезинтеграция цитоплазмы, появление везикул. Через 48, 72 и 96 ч наблюдается постепенное разрушение перибактероидных мембран, что приводит к нарушению компартментации симбиотической системы (рис. 6). Цитоплазма бактериоидов становится гетерогенной, наблюдается явление плазмолиза (рис. 7). Округлая форма бактериоидов сменяется угловатой, характерной для стареющих, деградирующих бактериоидов. Морфометрический анализ электронограмм показал уменьшение размеров бактериоидов через 96 ч стрессовой обработки NaCl и некоторое снижение их количества на единицу площади (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

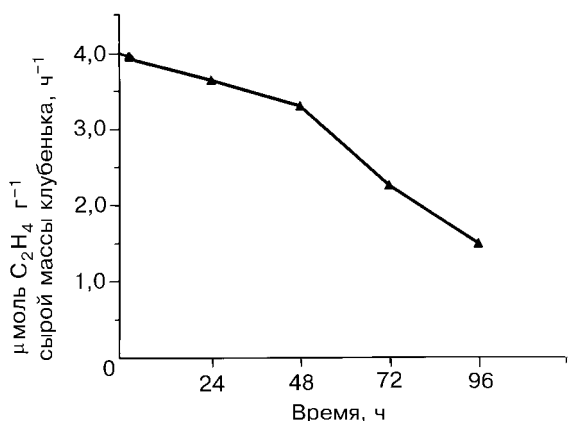


Рис. 5. Действие хлоридного стресса (170 мМ NaCl) на удельную нитрогеназную активность клубеньков, сформировавшихся на пресном фоне.

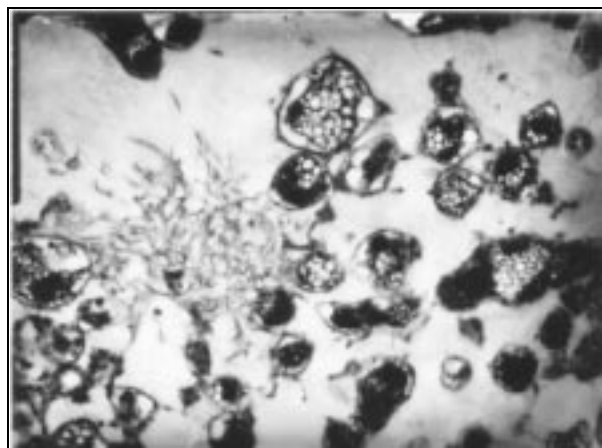


Рис. 6. Разрушение перибактероидных мембран после 96 ч обработки 170 мМ NaCl; × 10 000.

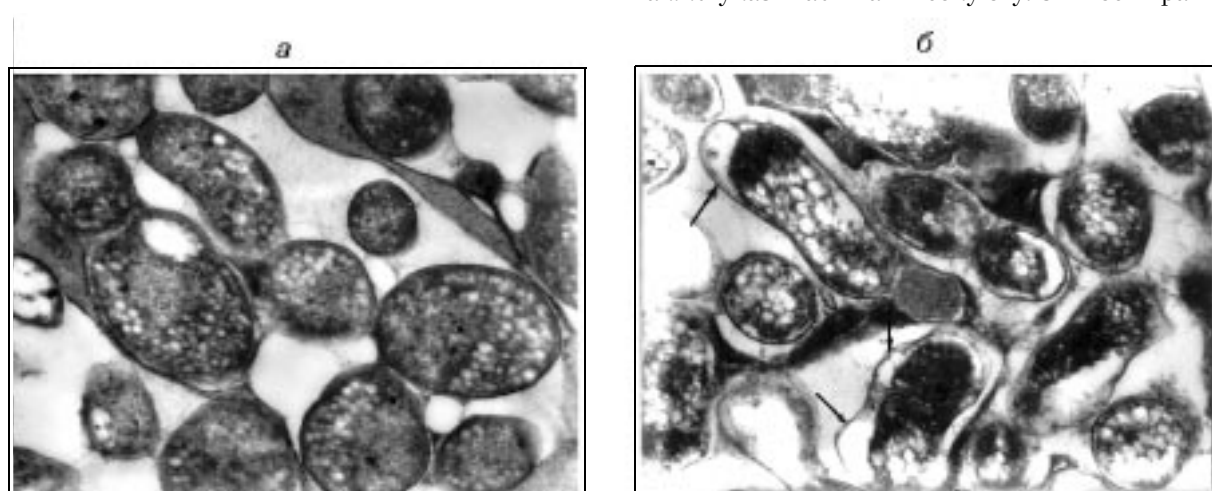


Рис. 7. Бактероиды клубеньков, образовавшихся на пресном фоне (а) и после 96 ч обработки 170 мМ NaCl; × 18 000 (б). Стрелками показан плазмолиз бактериоидов.

Сложность изучения функционирования такой высокоинтегрированной системы, как симбиоз в условиях засоления, обусловлена рядом причин. Во-первых, хлоридное засоление оказывает на симбиоз двойное воздействие: токсическое действие ионов натрия и хлора и осмотический стресс, вызываемый солью. Во-вторых, засоление оказывает на симбиоз прямое и опосредованное воздействие [11]. Последнее выражается в снижении поступления фотоассимилятов и торможении ростовых процессов, что мы наблюдали даже при умеренных концентрациях хлоридного засоления (см. рис. 1). Торможение роста происходит вследствие значительных энергетических затрат растения на поддержание ионного гомеостаза и биосинтез осмопротекторных соединений [12]. Поскольку азотфиксация является энергоемким процессом, ее снижение в условиях дефицита энергии вполне объяснимо. Засоление оказывает и прямое воздействие на развитие симбиоза. По мнению многих авторов, наиболее уязвимой является начальная стадия – инфицирование корневых волосков. Угнетение начальных этапов инфицирования при действии соли наблюдали Лакшми-Кумари с соав. на люцерне [13], Ту – на сое [14], Захран и Спрент на *Vicia Faba* [15]. При внесении NaCl через 3 дня после инокуляции клевера *Rhizobium trifolium* количество клубеньков было значительно выше, чем при начальном внесении соли, что также указывает на высокую уязвимость ран-

Ультраструктурные параметры клубеньков

Вариант опыта	Площадь, μm^2		Количество	
	перибактероидного пространства*	бактероида	бактероидов в перибактероидном пространстве	бактероидов на μm^2
Клубеньки, образовавшиеся на фоне 204 мМ NaCl	$5,17 \pm 0,66$	$0,16 \pm 0,02$	$10,86 \pm 0,90$	$1,75 \pm 0,14$
Контроль	$2,15 \pm 0,24$	$0,18 \pm 0,02$	$6,63 \pm 0,68$	$2,22 \pm 0,18$
Клубеньки после 96 ч обработки 170 мМ NaCl	–	$0,16 \pm 0,01$	–	$1,63 \pm 0,12$
Контроль	$1,94 \pm 0,28$	$0,20 \pm 0,03$	$8,15 \pm 0,71$	$1,78 \pm 0,09$

П р и м е ч а н и е. Морфометрическая обработка данных трансмиссионной электронной микроскопии инфицированных клеток клубеньков солодки. Значения представлены как среднее \pm стандартная ошибка, количество измерений N = 60.

* Площадь перибактероидного пространства рассчитывается как разница площади, ограниченной перибактероидной мембраной, и площади заключенных в ней бактериоидов.

них этапов симбиоза [16]. Наблюдаемые нарушения структуры являются типичными при действии NaCl. Отсутствие инфекционных нитей в укороченных корневых волосках приводит к нарушениям в формировании клубеньков, их число при действии высоких концентраций значительно снижается. Низкие же концентрации соли не снижают количество клубеньков, их удельная нитрогеназная активность на фоне 34 мМ даже выше, чем в контроле (см. табл. 1). Подобную реакцию на действие умеренных концентраций соли отмечали у вигны [17]. Однако при повышении концентрации соли (102–204 мМ) количество клубеньков и, особенно, их нитрогеназная активность снижались (см. рис. 2).

Пороговая концентрация соли, разобщающая симбиоз солодки с клубеньковыми бактериями, составила 238 мМ, при 204 мМ клубеньки еще образовывались и фиксировали азот, хотя и на очень низком уровне. Эти данные свидетельствуют о высокой солеустойчивости симбиотической системы солодки, так как по литературным данным даже солеустойчивые сорта люцерны не образуют клубеньков уже при 119 мМ засолении [18]. Полученные результаты подтверждают данные других авторов о том, что уровень засоления, ингибирующий симбиоз между бобовыми и ризобиями, ниже уровней, ингибирующих рост и развитие индивидуальных партнеров [19]. Солодка растет и при 340 мМ, а рост используемого нами штамма бактерий угнетался при концентрациях выше 425 мМ.

Солеустойчивость бактериального партнера и в других симбиотических системах значительно превышает устойчивость макросимбионта [20]. Проведенные нами цитологические исследования позволили установить связь между функциональной активностью клубеньков и их структурой. Компьютерный морфометрический анализ перевел эти данные на язык цифр.

Световая микроскопия показала, что клубеньки, которые успешно образовались в присутствии соли, более адаптированы к солевому воздействию, чем клубеньки, сформировавшиеся на пресном фоне. Хотя доля инфицированных клеток в клубеньках, выращенных на фоне 204 мМ засолении, ниже, чем в контроле (см. табл. 2), и наблюдается явление плазмолиза на клеточном уровне, на субклеточном уровне сохраняется компартиментация симбиотической системы за счет целостности перибактероидных мембран (см. рис. 3, 4). Отмеченное увеличение размеров перибактероидного пространства в 2,4 раза происходит за счет сокращения доли цитозоля растительной клетки (см. табл. 3), что приводит к снижению обмена метаболитами между растительной клеткой и бактериоидами и выражается в накоплении крахмала в растительной ткани и поли- β -оксибутирата – в бактериоидах. Подобные нарушения происходят и при других стрессовых воздействиях, неэффективном симбиозе и старении клубеньковой ткани [21]. Ускоренное старение бактериоидной ткани при действии хлоридного засоления отмечалось при изучении ультраструктуры клубеньков люцерны

[22]. При стрессовом воздействии 170 мМ NaCl на клубеньки, сформировавшиеся на пресном фоне, наблюдаются более глубокие нарушения системы на клеточном и, особенно, на субклеточном уровнях, что выражается в разрушении перибактероидных мембран и нарушении структуры бактериоидов (рис. 6, 7). Эти изменения в структуре клубеньков коррелируют с резким снижением их нитрогеназной активности (см. рис. 5). Важно отметить, что клубеньки солодки имеют недетерминированный рост [23], что дает этому виду определенные преимущества: при снятии стрессового воздействия клубеньки способны к регенерации.

В заключение следует отметить, что относительно высокая солеустойчивость симбиоза *Glycyrrhiza uralensis-Rhizobium* позволяет рассматривать эту систему как перспективную при решении проблем фитомелиорации засоленных почв. Плантационное выращивание солодки как ценного лекарственного сырья на засоленных землях будет одновременно способствовать рассолению и обогащению почв азотом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н.В. Арутюнова, Н. И. Шемякова, *Изв. АН СССР. Сер. биол.*, 1984, 10, 495–501.
2. М. Mohammad, W. F. Campbell, M. D. Rumbaugh, *Arid Soil Rehabil.*, 1989, 3, 11–20.
3. А. М. Abdel-Wahab, Н. Н. Zahran, *Biol. Plant.*, 1981, 23, 16–23.
4. L. Bergstein, G. Ogata, *Agron. J.*, 1966, 58, 201–203.
5. Н. Н. Zahran, *Biol. Fertil. Soils*, 1991, 12, 73–80.
6. К. З. Закиров, С. Х. Нигматов, Материалы IV Всесоюзного симпозиума по солеустойчивости растений, ФАН, 1986, 156.
7. J. M. Vincent, *A Manual for the Practical Study of the Root Nodule Bacteria.*, Oxford, 1970.
8. Р. Е. Крогулевич, *Физиология и биохимия культ. растений*, 1990, 22, 602–607.
9. И. А. Чернавина, Н. Г. Потапова, Л. Г. Косулина, Т. Е. Кренделева, *Большой практикум по физиологии растений*, М., 1978.
10. Г. Л. Шапошников, *Биохимические методы*, М., Наука, 1980, 207–210.
11. P. W. Singleton, *Crop Science*, 1983, 23, 259–262.
12. A. S. M. Ivanoviuci, W. I. Wiebe, *Stress Effects on Natural Ecosystems.*, 1981, 13–27.
13. M. Lakshmi-Kumari, C. S. Singh, N. S. Subba-Rao, *Plant Soil.*, 1974, 40, 261–268.
14. J. C. Tu, *Can. J. Plant Sci.*, 1981, 61, 231–239.
15. Н. Н. Zahran, J. I. Sprent, *Planta*, 1986, 167, 303–309.
16. J. Ikeda, *Plant and Soil*, 1994, 158, 23–27.
17. N. S. Subba-Rao, M. Lakshmi-Kumari, G. S. Singh, S. P. Magu, *Ind. J. Agron. Res.*, 1972, 42, 384–386.
18. I. S. M. Huq, F. Lahrer, *Z. Pflanzenphysiol.*, 1983, 112, 75–79.
19. D. J. Lauter, D. N. Munns, K. L. Clarkin, *Agron. J.*, 1981, 73, 961–966.
20. P. W. Singleton, S. A. El-Swaley, B. B. Bohlool, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1982, 44, 884–890.
21. И. Н. Андреева, *Докл. АН СССР*, 1985, 282, 251–253.
22. Г. Ф. Хайлова, Т. П. Ларькова, *Физиология растений*, 1992, 39, 326–333.
23. Т. И. Новикова, Н. Я. Гордиенко, *Цитология*, 1995, 37, 208–212.

Characterization of Function of *Glycyrrhiza uralensis* Symbiosis under Chloride Salinization

T. I. NOVIKOVA, N. YA. GORDIENKO

The salt effects on early stages of *Glycyrrhiza uralensis-Rhizobium* interaction, formation of nodules, nitrogen fixing activity and nodule structure were studied. A low salt concentration (34 мМ NaCl) stimulated the nodulation and nitrogen fixation. Increasing chloride salinization (102–204 мМ) reduced nodulation by inhibiting early symbiotic stages such as curling of root hairs and formation of infection threads. Using light, electron microscopy and computer morphometric analysis, the nodules formed at 170–204 мМ NaCl were examined. These nodules had a relatively smaller infection area in the central zone, a lower density of bacteroids per infected cell and a smaller size of bacteria, than those formed under non-saline conditions. Nodulation of licorice was completely inhibited when salinity was raised to 238 мМ. This result showed that *Glycyrrhiza uralensis-Rhizobium* symbiosis was a rather salt-tolerant system. The nodules formed under non-saline conditions were more sensitive to NaCl-stress than those developed in the presence of salt. After 170 мМ NaCl-treatment during 96 h, the nitrogenase activity was 40 % of control. This reduction of nitrogen fixation was due to plasmolysis in infection cells, degradation of peribacteroid membranes and structural damage of bacteroids.