

Р. М. ГАЛАЧЬЯН

МЕТАБОЛИТЫ БАКТЕРИЙ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ОПУХОЛИ,
КАК СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Одним из важных вопросов микробиологии является синтез ростовых веществ бактериями, которым и в прошлом интересовались многие исследователи. А. Д. Иерусалимский [5, 6], М. И. Нахимовская [8], Е. А. Разницина [9], В. И. Смалый, Е. Ф. Березова [10] и др. изучали синтез ростовых веществ бактериями, природу и значение их в жизни микроорганизмов. В. П. Израильский [7] исследовал ростовые вещества с точки зрения развития бактериальных опухолей растений и их значения для фитопатогенных бактерий. Е. Ф. Березова, А. Н. Наумова и Е. А. Разницина [4] выявили природу действия азотогена и пришли к тому положению, что увеличение урожая помимо азотфиксирующей деятельности азотобактера объясняется также непосредственным стимулирующим влиянием выделений азотобактера на высшее растение. Действие ростовых веществ, в частности гиббереллина на высшие растения, показано в работах М. Х. Чайлахяна [12, 13, 14]. Д. С. Филевым Н. И. Логачевым [11] изучено влияние гиббереллина на рост, развитие и продуктивность кукурузы. В результате проведенных ими исследований выяснилось, что эффективность гиббереллина, как вещества, стимулирующего рост и продуктивность кукурузы, сильно зависит от концентрации стимулятора и метода воздействия на растение. Наилучшие результаты получены при капельном методе, где прибавка урожая, по сравнению с контролем, была на 35%.

За последнее время Институт микробиологии АН АрмССР занимался исследованием метаболитов возбудителей бактериальных болезней, вызывающих опухоли или наросты на растениях, с целью выявления в них ростовых веществ. Работа проводилась при консультации чл.-корр. АН АрмССР, проф. М. Х. Чайлахяна.

Исследования сектора были направлены на изыскание гиббереллиноподобных и ауксиноподобных ростовых веществ в культурах возбудителей туберкулеза овеклы — *Xanthomonas beticola* и возбудителя раковых опухолей растений — *Pseudomonas tumefaciens*.

Изучение гиббереллиноподобных веществ проводилось в лабораторных условиях на проростках кукурузы по методу А. Н. Бояркина и М. Н. Дмитриевой [3], ауксинов на колеоптилях пшеницы методом А. Н. Бояркина [1, 2].

Мы поставили целью проверить некоторые питательные среды и возраст культур, максимально продуцирующий ростовые вещества. Исследовался 2% картофельный экстракт с 1% содержанием декстропура

и без такового. Затем применялся 2% бобовый экстракт чистый и тот же экстракт с наличием 2% глюкозы, наконец, 2% бобовый экстракт с 2% глюкозой и с 0,01% и 0,001% содержанием триптофана.

Работа проводилась на 13 различных штаммах указанных возбудителей болезней.

В отношении возраста метаболитов испытывалась различная инкубация культур в средах, в течение 3, 4, 5, 7 и 10 дней. Обычно метаболиты культур в соответствующем возрасте пропускались через фильтр Зейтца и брались под опыты в исходном виде и в разбавлении фильтратов культуральных жидкостей в соотношении 1 : 2 и 1 : 10.

При постановке опытов по выявлению гиббереллиноподобных веществ по методу А. Н. Бояркина и М. Н. Дмитриевой в каждый стаканчик наливалось по 2 мл испытываемых фильтратов, куда вкладывались соответствующим образом срезанные (5 мм ниже узла и 30 мм выше узла) проростки кукурузы сорта ВИР-42 в 10 повторностях. На четвертый день производились обмеры длины проростков кукурузы и выводилось среднее из 10 повторностей по каждому варианту опытов.

Для выявления ауксиноподобных веществ по А. Н. Бояркину испытываемые фильтраты культуральных жидкостей в тех же концентрациях наливались по 2 мл в лодочки, куда вкладывались спицы с нанизанными на них десятью колеоптилями пшеницы, срезанными на специальных станочках длиной по 5 мм каждый. В качестве контроля был взят гетероауксин 0,01% и 0,005%, и вода.

По истечении 17—20 ч., после инкубации в термостате колеоптилей в фильтратах, спицы вынимались из лодочек, отрезки колеоптилей сдвигались до контакта на каждой спице и производился их обмер.

В результате проведенных опытов выяснилось, что штаммы возбудителей туберкулеза свеклы *Xanthomonas beticola* и рака растений—*Pseudomonas tumefaciens* продуцируют ростовые вещества, стимулирующие рост проростков кукурузы и колеоптилей пшеницы.

Наиболее подходящим возрастом для максимальной продукции гиббереллиноподобных веществ является пятидневный, для ауксиноподобных веществ десятидневный возраст культур.

В качестве примера в табл. 1 и 2 приводятся результаты образования гиббереллиноподобных и ауксиноподобных веществ штаммами возбудителей на картофельном экстракте с наличием декстропура и без такового.

Данные, приведенные в табл. 1 и 2, показывают, что штаммы возбудителей опухолей вызывают стимуляцию роста проростков кукурузы и колеоптилей пшеницы. Однако в опытах по проверке гиббереллиноподобных веществ наши штаммы в разведениях фильтратов культуральных жидкостей 1 : 10 давали увеличение роста проростков кукурузы более сильное, чем то же в контроле — воде, но ниже, чем — гиббереллин 0,01% и 0,005%.

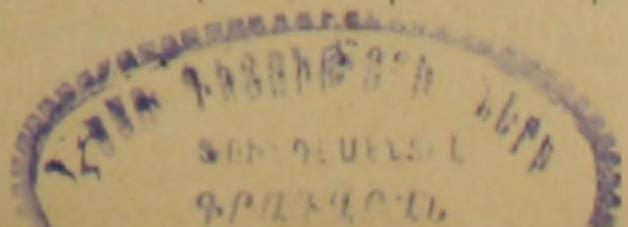
В опытах с ауксиноподобными веществами в подавляющем боль-ли

Таблица 1
Образование гиббереллиноподобных веществ штаммами
Xanth. beticola и *Pseud. tumefaciens*

Название культур	Длина проростков кукурузы в мм					
	2% карт. экстр. 1% декстропур			2% карт. экстр. без декстропура		
	исх.	1:2	1:10	исх.	1:2	1:10
<i>Xanth. beticola</i> № 1	57	84	98	63	85	99
№ 10	37	49	70	44	63	90
№ 13	54	84	83	66	86	95
№ 22	44	62	78	46	63	84
<i>Xanth. beticola</i> № 27	73	77	102	62	86	93
№ 28	42	71	84	43	71	86
№ 29	38	55	69	43	59	78
№ 30	68	85	89	68	89	100
<i>Pseud. tumefac</i> 1a	37	44	71	36	37	55
55	44	72	83	36	46	76
66	36	48	73	37	45	68
чех.	69	96	90	67	87	101
<i>Pseud. tumefaciens</i>	55	69	81	48	72	97
Контроль среды	57	72	84	55	77	92
Гиббереллин	110					
Вода	71					

Таблица 2
Образование ауксиноподобных веществ штаммами
Xanth. beticola и *Pseud. tumefaciens*

Название культур	Длина 10 coleoptилей в мм					
	2% бобовый экстракт 1% декстропур			2% бобовый экстракт без декстропура		
	исх.	1:2	1:10	исх.	1:2	1:10
<i>Xanth. beticola</i> № 6	57	82	108	68	72	75
№ 10	58	71	83	55	60	89
№ 13	67	78	86	71	81	79
№ 32	59	78	89	59	85	83
<i>Xanth. beticola</i> № 27	71	87	110	65	95	108
№ 28	58	70	90	58	64	81
№ 29	59	71	87	65	81	86
№ 30	80	98	112	78	88	94
<i>Pseud. tumefaciens</i> 1a	57	74	83	60	65	96
55	82	72	96	60	73	90
66	57	68	97	55	64	95
чех.	69	80	112	87	99	91
<i>Pseud. tumefaciens</i>	72	100	110	77	90	110
Контроль среды	56	62	84	53	64	85
Гетероауксин 0,01	81					
0,005	85					
Вода	75					



шинстве случаев прирост coleoptилей пшеницы получался выше, чем контроль гетероауксин—0,01% и 0,005%.

Это свидетельствует о том, что наши штаммы являются продуцентами больше ауксиноподобных, нежели гиббереллиноподобных веществ.

При испытании других питательных сред с наличием триптофана выяснилось, что наибольший выход ауксиноподобных веществ наблюдается при выращивании возбудителей опухолей в 2% бобовом экстракте с 2% глюкозой с наличием триптофана в вариантах опытов с разведенными фильтратами культуральных жидкостей 1:2 и 1:10.

Данные образования ауксиноподобных веществ штаммами возбудителей опухолей *Xanth. beticola* и *Pseud. Tumefaciens* на средах с триптофаном приводятся в табл. 3.

Таблица 3.

Образование ауксиноподобных веществ штаммами
Xanth. beticola и *Pseudomonas tumefaciens*

Название культур	Длина 10 coleoptилей в мм.					
	2% боб. 2% глюк. 0,01% триптофана			2% боб. экстр. 2% глюк. 0,001% триптофана		
	исх.	1:2	1:10	исх.	1:2	1:10
<i>Xanth. beticola</i> 6	78	104	132	101	115	100
• • 10	88	100	98	97	105	121
• • 13	90	95	99	85	100	93
• • 22	95	119	109	93	104	109
<i>Xanth. beticola</i> 27	94	100	114	91	134	118
• • 28	105	117	120	94	132	116
• • 29	103	118	122	102	112	110
• • 30	110	108	116	94	116	104
<i>Pseud. tumefaciens</i> 1	93	111	118	105	111	118
• • 55	103	126	120	111	141	105
• • 66	111	134	117	95	123	98
• • Чех	96	98	116	94	95	112
<i>Pseud. tumefaciens</i>	105	111	108	107	111	103
Контроль среды	92	107	110	92	107	110
Гетероауксин 0,01	93					
• 0,005	80					
Вода	75					

Данные, приведенные в табл. 3, показывают, что большинство штаммов являются активными продуцентами ауксиноподобных веществ.

Отмечено некоторое увеличение показателей в контроле—среда, по сравнению с контролем—вода. Подавляющее большинство испытываемых штаммов проявили увеличение длины coleoptилей пшеницы больше, чем контроль—гетероауксин. Так, например, в случае штамма *Pseud. tumefaciens* 55, длина coleoptилей в начале опыта равная 50 мм, увеличилась под влиянием метаболитов до 141 мм, причем наибольшая

стимуляция роста coleoptилей отмечается в разведенных фильтратах культуральных жидкостей 1 : 2 и 1 : 10 (рис. 1).

На рис. 1 показан прирост coleoptилей пшеницы под влиянием метаболитов культуры *Pseud. tumefaciens* 55. Справа—метаболит, слева—вода, в середине—гетероауксин 0,01%.

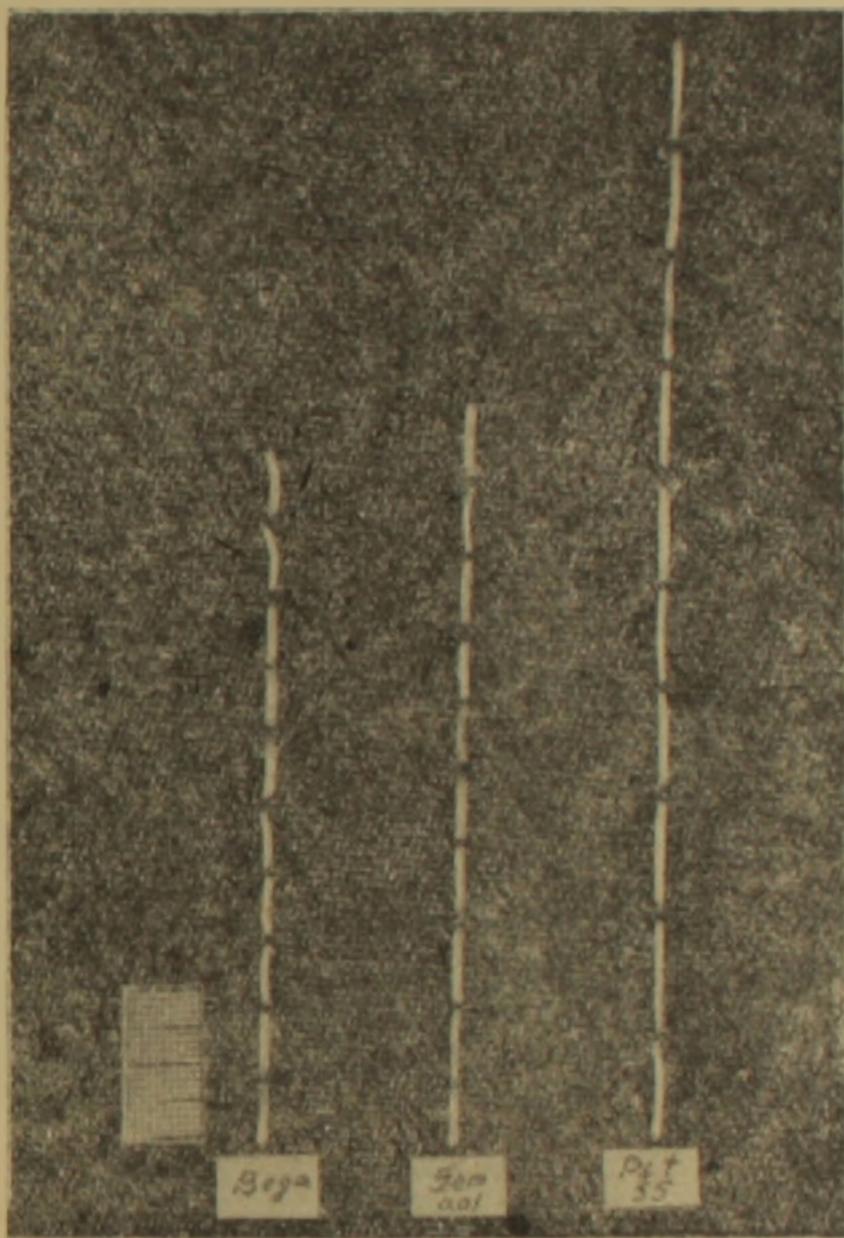


Рис. 1. Прирост coleoptилей пшеницы под влиянием метаболитов культуры *Pseud. tumefaciens* 55. Справа — метаболит, слева — вода, в середине — гетероауксин 0,01%.

После установления того факта, что штаммы возбудителей туберкулеза свеклы и рака растений являются продуцентами ростовых веществ, нами были отобраны наиболее активные культуры и из них получены первичные продукты—сырцы. Затем в вегетационных опытах было проверено действие как фильтратов культуральных жидкостей, так и полученных из них сырцов на рост и развитие высших растений. В качестве подопытных растений были взяты кукуруза и табак.

Опыты были заложены в 15 различных вариантах, в которых сырцы и фильтраты культуральных жидкостей брались в концентрациях 1% и 0,1%. Для каждого варианта опыта бралось по 5 повторностей, всего 150 растений. К ним были поставлены контрольные опыты—контроль сырца и контроль жидкостей среды в соответствующих концентрациях, гиббереллин 0,01% и 0,005% и вода.

Обработка растений была начата 9/VI в раннем возрасте растения (4—5 листочков) методом закапывания в верхушку роста, у куку-

рузы в раструбы верхних листьев. Закапывание производилось ежедневно в течение 5 недель до 16/VII. Уже в процессе обработки растений было заметно увеличение роста надземных частей кукурузы и табака закапываемых метаболитами по сравнению с контролем.

Затем опыты были сняты, произведены обмеры и взвешивания надземных и подземных частей растений. Для каждого варианта опытов после высушивания устанавливался их воздушно сухой вес. Результаты полученных данных, средних с пяти повторностей для каждого растения, приведены в табл. 4 и 5.

Данные, приведенные в табл. 4 и 5, свидетельствуют о том, что сырцы и фильтраты культуральных жидкостей производят явную стимуляцию роста кукурузы и табака, значительно увеличивая длину, вес и воздушно сухой вес надземных и подземных частей растений.

Показатели контроля—среда приближаются к контролю—вода.

В вегетационных опытах почти во всех случаях как на кукурузе, так и на табаке наблюдалось преимущество сырцов перед культуральными жидкостями. Так, например, в отношении штамма *Pseud. tumefaciens* 55 на кукурузе и табаке сырцы показали длину и вес надземных

Таблица 4

Влияние метаболитов возбудителей опухолей на кукурузу

Название возбудителя	Варианты	Разведение в %	Надземная часть			Подземная часть		
			длина	вес	воздушно-сухой вес	длина	вес	воздушно-сухой вес
<i>Pseudomonas tumefaciens</i>	культ.	1	112	140	187	100	187	169
		0,1	122	151	165	105	170	126
	сырец	1	128	159	203	145	203	233
		0,1	126	159	187	135	180	107
<i>Xanthomonas bellicola</i>	культ.	1	117	170	222	135	174	147
		0,1	117	151	195	155	163	108
	сырец	1	105	141	163	130	180	175
		0,1	119	146	190	170	176	159
Контроль среда	культ.	1	103	114	162	130	160	106
		0,1	102	109	162	110	156	150
	сырец	1	101	100	138	115	138	92
		0,1	101	119	156	105	126	78
Гибберелин	культ.	0,01	122	107	130	120	111	68
	сырец	0,005	124	110	130	115	111	81
Вода			100	100	100	100	100	100

частей растений больше, чем фильтраты культуральных жидкостей. На рис. 2 показано влияние сырца культуры *Pseud. tumefaciens* 55 на рост и развитие кукурузы. Слева—гибберелин, в середине—сырец *Pseud. tumefaciens* 55, справа—контроль сырца. На рис. 3 показано влияние



Рис. 2. Влияние сырца культуры *Pseud. tumefaciens* 55 на рост и развитие кукурузы. Слева — гиббереллин, в середине сырец *Pseud. tumefaciens* 55, справа — контроль сырца.



Рис. 3. Влияние сырца и фильтрата культуральной жидкости *Pseud. tumefaciens* 55 на рост и развитие табака. Слева гиббереллин, в середине — сырец и культуральная жидкость *Pseud. tumefaciens* 55, справа — контроль сырца.

Влияние метаболитов возбудителей опухолей на табаке

Название возбудителя	Варианты	Разведение	Надземная часть			Подземная часть		
			длина	вес	воздуш. сухой вес	длина	вес	воздуш. сухой вес
<i>Pseudomonas tumefaciens</i>	фильтр. культ.	1	136	139	990	105	192	255
		0,1	136	140	111	105	192	300
	сырец	1	157	166	137	105	204	320
		0,1	138	161	127	105	204	270
<i>Xanthomonas beticola</i>	фильтр. культ.	1	140	154	122	100	183	265
		0,1	119	148	137	105	196	260
	сырец	1	133	124	980	115	142	150
		0,1	140	153	137	115	196	200
Контроль среды	фильт. культ.	1	119	132	127	105	146	150
		0,1	114	124	108	100	146	150
	сырец	1	126	128	127	100	138	100
		0,1	107	122	118	100	125	150
Гиббереллин		0,01	178	102	108	105	125	120
		0,001	145	100	100	105	113	110
Вода			100	100	100	100	100	100

сырца и фильтрата культуральной жидкости *Pseud. tumefaciens* 55 на рост и развитие табака. Слева—гиббереллин, в середине—сырец и культуральная жидкость *Pseud. tumefaciens* 55, справа—контроль сырца.

В ы в о д ы

1. Возбудители бактериальных болезней, вызывающих опухоли или наросты на растениях, туберкулез свеклы—*Xanthomonas beticola* Sm. Bg. Towns и рак растений *Pseudomonas tumefaciens* Smith a. Towns, являются продуцентами ростовых веществ.

2. Среда, на которых выращиваются возбудители *Xanth. beticola* и *Pseudomonas tumefaciens* и сырцы, приготовленные из них, также содержат ауксины и гиббереллиноподобные вещества, но их всегда меньше, чем при наличии метаболитов бактерий.

3. Метаболиты возбудителей *Xanthomonas beticola* и *Pseudomonas tumefaciens* в виде фильтратов культуральных жидкостей сильно стимулируют рост coleoptилей пшеницы и в меньшей мере рост листочков кукурузы. Это значит, что в фильтратах имеется много ауксиноподобных и гиббереллиноподобных веществ.

4. Наилучшим возрастом, максимально продуцирующим гиббереллиноподобные вещества, является пятидневный возраст культур, для ауксиноподобных веществ десятидневная инкубация культур в средах.

5. Метаболиты возбудителей бактериальных болезней, вызывающих опухоли или наросты на растениях, при обработке растений сырцами и фильтраатами культуральных жидкостей стимулируют рост и развитие высших растений кукурузы и табака, значительно увеличивая длину, вес и воздушно сухой вес надземных и подземных частей растений.

Институт микробиологии
Академии наук АрмССР

Поступило 27.VII 1961 г.

Թ. Մ. ՂԱԿԱԶՅԱՆ

ՈՒՌՈՒՑՔՆԵՐ ԱՌԱՋԱՑՆՈՂ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՄԵՏԱԲՈԼԻՏՆԵՐԸ,
ՈՐՊԵՍ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԱՃՄԱՆ ՍՏԻՄՈՒԼՅԱՏՈՐՆԵՐ

Ա մ փ ո փ ու մ

Միկրոբիոլոգիայի կարևոր խնդիրներից մեկը բակտերիաների կողմից պատարվող աճման նյութերի սինթեզն է: Դեռևս անցյալում այս հարցով հետաքրքրվել են շատ հետազոտողներ:

Վերջին ժամանակները ՀՍՍՌ ԳԱ-ի Միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտը զբաղվում էր բույսերի վրա ուռուցքներ կամ հավելվածքներ առաջացնող բակտերիաների մետաբոլիտներով՝ նպատակադրվելով երևան հանել նրանց մեջ աճման նյութերի գոյությունը:

Ինստիտուտի ուսումնասիրությունները տարվում էին բազուկի թոքախտ — *Xanthomonas beticola* և բույսերի քաղցկեղ առաջացնող *Pseudomonas tumefaciens* հարուցիչների, կուլտուրաներում գիրերելանման և աուքսինանման նյութեր հայտնաբերելու ուղղությամբ:

Գիրերելանման նյութերի ուսումնասիրությունները կատարվել են լաբորատոր պայմաններում, Ա. Ն. Բոյարկինի և Ն. Ի. Դիմիտրիևայի (1959) մեթոդով՝ և գիպտացորենի տերևների վրա և աուքսիններին՝ Ա. Ն. Բոյարկինի (1947, 1948) մեթոդով՝ ցորենի կոլեոպտիլների վրա:

Աշխատանքը կատարվում էր նշված հիվանդություններ առաջացնող 13 տարբեր հարուցիչների շտամների վրա:

Լաբորատոր պայմաններում փորձարկվում էին տարբեր սննդամիջավայրեր և կուլտուրաների աճման տարբեր ժամանակամիջոցներ:

Աշխատանքներից պարզվեց, որ բույսերի վրա ուռուցքներ կամ հավելվածքներ և բազուկի վրա թոքախտ առաջացնող բակտերիաների հարուցիչները (*Xanth. beticola* և *Pseudom. tumefaciens*) հանդիսանում են աճման նյութեր առաջացնող պրոդուցենտներ:

Այն սննդամիջավայրերը, որոնց վրա աճում էին *Xanth. beticola* և *Pseudom. tumefaciens*, հարուցիչները, նույնպես պարունակում են աուքսիններ և գիրերելանման նյութեր, սակայն ավելի փոքր քանակով, քան բակտերիաների էնտաբոլիտները:

Xanth. beticola և *Pseudom. tumefaciens* հարուցիչների մետաբոլիտների ուսումնասիրության հեղուկների ֆիլտրատները ուժեղ ստիմուլյացիայի են ենթարկում ցորենի կոլեոպտիլները և թույլ կերպով՝ և գիպտացորենի տերևները: Դա նշանակում է, որ ֆիլտրատներում գտնվում են աուքսինանման և գիրերելանման

նյութերու Աճման նյութերի մաքսիմալ արտադրման ամենալավ տարիքը հանդիսանում է գիրերելանման նյութերի արտադրման համար՝ 5-օրյա և աուքսինների համար 10-օրյա կուլտուրաների աճման ժամանակամիջոցը:

Բույսերի հումքով և կուլտուրալ հեղուկների ֆիլտրատներով մշակելիս պարզվեց, որ ուռուցքներ կամ հավելվածքներ առաջացնող բակտերիալ հարուցիչների մետարոլիտները ստիմուլացնում են եգիպտացորենի և ծխախոտի աճն ու զարգացումը՝ զգալիորեն ավելացնելով վերերկրյա մասերի և արմատների երկարությունը, նրանց կշիռն ու չոր նյութերի կուտակումը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бояркин А. Н. Доклады АН СССР, т. 57, 2, стр. 137—200, 1947.
2. Бояркин А. Н. Доклады АН СССР, т. 59, стр. 1951—1952, 1948.
3. Бояркин А. Н. и Дмитриева М. Н. Журн. Физиология растений, т. 6, вып. 6, стр. 741—743, 1959.
4. Березова Е. Ф., Наумова А. Н., Разницина Е. А. Доклады АН СССР, т. 18, 6, стр. 357—361, 1938.
5. Иерусалимский А. Д. Журн. Микробиология, т. 9, вып. 7—8, стр. 740—778, 1940.
6. Иерусалимский А. Д. Журн. Микробиология, т. 16, вып. 3, стр. 255—271, 1947.
7. Израильский В. П. Журн. Успехи современной биологии, т. 23, вып. 1, стр. 109—126, 1947.
8. Нахимовская М. И. Журн. Микробиология, т. 10, в. 6, стр. 688—700, 1941.
9. Разницина Е. А. Доклады АН СССР, т. 17, стр. 253—256, 1938.
10. Смалый В. Т., Березова О. И. Журн. Микробиология, т. 26, вып. 5, стр. 526—532, 1957.
11. Филев Д. С., Логачев Н. И. Журн. Кукуруза, 2, стр. 42—44, 1960.
12. Чайлахян М. А. Журн. Физиология растений, т. 5, вып. 6, стр. 541—561, 1958.
13. Чайлахян М. Х. Ботанический журнал, т. 43, 7, стр. 927—952, 1958.
14. Чайлахян М. Х., Кочанков В. Г. и Замота В. П. Журнал Физиология растений, т. 7, вып. 3, стр. 340—343, 1960.