

Р. М. ГАЛАЧЬЯН

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ И ВОЗРАСТА КУЛЬТУР НА СИНТЕЗ РОСТОВЫХ ВЕЩЕСТВ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОПУХОЛЕЙ

В настоящее время физиологически активным веществам, гиббереллинам и ауксином, стало уделяться большее внимание [7, 15, 10 и др.]. Рядом исследователей (В. П. Израильский [5], Н. Д. Иерусалимский [6], Н. А. Красильников, М. Х. Чайлахян и др. [7], М. И. Нахимовская [11], Е. А. Разницина [12], В. Т. Смалый [13], М. Х. Чайлахян [14] и др.) было доказано, что физиологически активные вещества продуцируются самыми разнообразными микроорганизмами.

Лаборатория фитопатогенных микроорганизмов Института микробиологии АН АрмССР за последнее время сосредоточила свое внимание на возбудителей бактериальных болезней, вызывающих опухоли или наросты на растениях, как продуцентов физиологически активных веществ. Наши исследования показали, что возбудители раковых опухолей на корнях плодовых культур—*Pseudomonas tumefaciens* и туберкулез свеклы—*Xanthomonas beticola* способны синтезировать гиббереллиноподобные и ауксиноподобные вещества (Р. М. Галачьян [4], М. Х. Чайлахян, Р. М. Галачьян, М. М. Саркисова [14]).

С целью получения культур продуцируемых ростовых вещества, нами производились поисковые работы и сбор пораженных образцов растений раковыми опухолями и туберкулезом свеклы для выделения возбудителей в чистую культуру и дальнейшей проверки их активности на синтез ростовых веществ.

Ранней весной в питомниках Басаргечарского и Мартунинского районов (сел. Цовинар), а также Ноемберянского района в совхозе Ламбалу при выкопке саженцев плодовых культур были отобраны образцы яблонь, груш и миндаля пораженные корневым раком. Затем эти образцы были доставлены в лабораторию и подвергнуты бактериологическим анализам. За 1961 год было произведено более 20 бактериологических анализов и выделено 12 штаммов чистых культур возбудителя *Pseudomonas tumefaciens*. За 1962 г. было проанализировано более 76 образцов корневых наростов плодовых культур и выделено 44 штамма возбудителя *Pseudomonas tumefaciens*.

Одновременно с этими работами в сел. Аревшат Эчмиадзинского района в течение вегетационного периода, и особенно осенью, периодически производились обследования посевов свеклы и собраны образцы кормовой и столовой свеклы, пораженные туберкулезом. Образцы пораженной туберкулезом свеклы были доставлены в лабораторию и под-

вергнуты бактериологическим анализам для выделения возбудителя инфекции в чистую культуру.

За 1961 г. всего проанализировано 34 образца столовой и кормовой свеклы и выделено 33 штамма чистых культур возбудителя *Xanthomonas beticola*. За 1962 г. всего проанализировано 80 образцов, пораженной туберкулезом свеклы, выделено 77 штаммов чистых культур возбудителя.

Свежевыделенные штаммы чистых культур возбудителей опухолей—*Pseudomonas tumefaciens* и *Xanthomonas beticola* изучались в лаборатории на способность синтезировать ими физиологически активные вещества биологическим методом, основанным на учете ростовой реакции растений.

В лабораторных условиях способность наших штаммов продуцировать гиббереллиноподобные вещества определялось методом Бояркина и Дмитриевой на проростках кукурузы (А. Н. Бояркин и М. И. Дмитриева [3]) и на проростках карликового гороха сорта Пионер методом Муромцева (Г. С. Муромцев [2]). Ауксиноподобные вещества определялись методом Бояркина (А. Н. Бояркин [1]) на колеоптилях пшеницы.

Работа, проведенная в лабораторных условиях по проверке выделенных нами культур возбудителей опухолей на синтез ростовых веществ, показала, что штаммы *Pseudom. tumefaciens* и *Xanthomonas beticola* являются активными продуцентами гиббереллиноподобных и в особенности ауксиноподобных веществ.

Кроме того, нами в лаборатории изучался ряд питательных сред с целью выявления максимального выхода ростовых веществ, в результате чего было установлено, что наилучшей из испытанных нами сред с наибольшим выходом ростовых веществ и с наиболее константными показателями, являются 2% бобовый экстракт с 2% глюкозой.

Далее мы задались целью проверить синтез ростовых веществ, в частности ауксиноподобных веществ возбудителями опухолей в зависимости от наличия в средах различных аминокислот. С этой целью была приготовлена обычная питательная среда (2% бобовый экстракт с 2% глюкозой) для выращивания штаммов возбудителей опухолей с 0,01 и 0,001 процентным содержанием аспарагина, альфааланина и триптофана. После десятидневного выращивания различных штаммов *Pseud. tumefaciens*, *Xanth. beticola* в указанных средах и получения из них метаболитов-фильтратов нативных культур, они были использованы в опыте с колеоптилями пшеницы на ростовую ответную их реакцию в присутствии ауксиноподобных веществ. Результаты образования ауксиноподобных веществ штаммами возбудителей опухолей на средах с различным содержанием аминокислот приводятся в табл. 1.

Данные, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о том, что наличие аминокислот в средах способствует образованию, т. е. выходу ауксиноподобных веществ. Причем наибольший выход ауксиноподобных веществ отмечается в средах при наличии аспарагина, затем триптофана. Третье место по эффективности аминокислот занимает альфааланин. Необходимо отметить, что наилучшие показатели получаются при меньшей кон-

Т а б л и ц а 1

Образование ауксиноподобных веществ возбудителями опухолей
на средах с различными аминокислотами

Название возбудителя и № штамма	Концентрация метаболитов	Длина coleoptилей в мм в различных концентрациях аминокислот						Бобовый экстракт без аминокислот
		аспарагин		аланин		триптофан		
		0,01	0,001	0,01	0,001	0,01	0,001	
Xanthomonas beticola 34	1:2	78	83	76	89	97	115	82
	1:10	154	156	155	148	132	134	101
" " 39	1:2	81	95	105	74	96	132	75
	1:10	124	127	129	126	123	134	120
" " 41	1:2	90	111	133	70	140	122	104
	1:10	124	134	109	124	152	134	114
" " 47	1:2	77	104	85	90	110	111	88
	1:10	128	133	143	141	108	123	89
" " 48	1:2	80	85	84	71	94	89	75
	1:10	135	133	137	95	115	106	110
" " 50	1:2	99	97	100	101	131	110	92
	1:10	140	143	120	120	96	106	111
" " 51	1:2	67	110	110	89	126	128	100
	1:10	155	149	139	150	131	136	114
" " 56	1:2	104	97	87	79	111	127	90
	1:10	132	132	120	136	138	150	113
Pseudomonas tumefaciens 55	1:2	147	122	122	123	95	76	107
	1:10	121	120	123	116	81	134	93
" " 1	1:2	140	133	130	127	65	97	118
	1:10	120	105	114	110	134	140	103
Контроль среды	1:2	83	81	103	99	102	106	91
	1:10	105	112	122	105	104	105	102
Гетероауксин	0,01	110						112
	0,005	117						113
Вода		83						86

концентрации аминокислот—0,001 %. Так например, культура Xanth. beticola, штамм 34 при концентрации аспарагина 0,001% показал наибольший выход ростовых веществ, при котором длина coleoptиля составляла 156 мм, тогда как в контроле 101 мм. Аналогичные показатели получились и у других номеров культур № 51, 56 и др. Таким образом, проведенные нами опыты привели нас к тому, что наличие в питательных средах, для выращивания возбудителей, аминокислот способствует выходу ростовых веществ.

Кроме вышеизложенных работ нами были проведены сравнительные исследования на выход ауксиноподобных веществ свежевыделенными культурами возбудителей опухолей по сравнению со старыми музейными штаммами, имеющими трехлетнюю давность. С этой целью проведены исследования метаболитов культур Xanthomonas beticola, свежих штаммов № 33 и 36 со старыми музейными № 27 и 28, выращенными на бобовом экстракте с различным содержанием аминокислот. Результаты обмеров coleoptилей пшеницы, выросших под влиянием метаболитов указанных штаммов культур на различных средах, приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2

Образование ауксиноподобных веществ культурами возбудителей
опухолей различного возраста

Название возбудителя и № штамма	Возраст культур	Концентрация метаболитов	Длина coleoptилей в мм в различных концентрациях аминокислот					
			аспарагин		альфааланин		триптофан	
			0,01	0,001	0,01	0,001	0,01	0,001
<i>Xanthomonas beticola</i> 33	менее года	1:2	103	116	95	86	119	128
		1:10	145	123	128	123	138	144
		1:2	94	115	134	135	105	100
		1:10	120	125	110	126	115	112
<i>Xanthomonas beticola</i> 27	три го- да	1:2	97	91	111	103	110	109
		1:10	111	109	110	104	104	102
		1:2	100	89	95	90	99	108
		1:10	109	100	105	104	109	109
Контроль среды		1:2	85	91	87	85	112	97
		1:10	105	114	103	112	86	83
Гетероауксин		0,01	116					
		0,005	139					
Вода			85					

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что свежевыделенные штаммы обладают более интенсивной способностью синтезировать ауксиноподобные вещества, чем старые штаммы, имеющие трехлетнюю давность.

По-видимому, свежевыделенные молодые культуры, имея повышенную жизнеспособность, а следовательно более интенсивный обмен веществ, способны продуцировать больше ростовых веществ, чем старые музейные культуры. Если у музейных культур была способность синтезировать ауксиноподобные вещества, то со временем она постепенно утрачивается.

В ы в о д ы

1. Возбудители бактериальных болезней, вызывающих опухоли или наросты на растениях, рака плодовых культур *Pseudomonas tumefaciens* и туберкулеза свеклы *Xanthomonas beticola* являются продуцентами физиологически активных веществ.

2. Наличие в средах аминокислот—аспарагина, триптофана и альфааланина увеличивают синтез ростовых веществ возбудителями опухолей.

3. Свежевыделенные культуры возбудителей опухолей способны больше синтезировать физиологически активные вещества, чем старые штаммы, имеющие трехлетнюю давность.

Ռ. Մ. ՂԱԼԱԶՅԱՆ

ՄԻ ՔԱՆԻ ԱՄԻՆՈԹԹՈՒՆԵՐԻ ԵՎ ԿՈՒԼՏՈՒՐԱՅԻ ՊԱՀՊԱՆՄԱՆ
ՏԵՎՈՂՈՒԹՅԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՃՄԱՆ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հայկական ՍՍՌ Գիտությունների ակադեմիայի Միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտի ֆիտոպաթոգեն միկրոօրգանիզմների լաբորատորիան վերջին ժամանակները իր ուշադրությունը կենտրոնացրել է բույսերի վրա ուռուցքներ կամ ելուստներ առաջացնող բակտերիալ հարուցիչների՝ որպես ֆիզիոլոգիապես ակտիվ նյութերի արտադրողների ուսումնասիրության վրա:

Այդ ուղղությամբ կատարված փորձերը ցույց են տվել, որ պտղատու կուլտուրաների արմատների վրա գտնվող քաղցկեղային ուռուցքները՝ *Pseudomonas tumefaciens* և *Xanthomonas beticola*, ընդունակ են սինթեզելու գիբերելինանման և աուքսինանման նյութեր: Նպատակ ունենալով ցտանալու աճման նյութեր արտադրող կուլտուրաներ, կատարվել են որոնման աշխատանքներ քաղցկեղային ուռուցքների և ճակնդեղի արմատախտի նմուշներ հավաքելու ուղղությամբ՝ նրանցից հարուցիչների մաքուր կուլտուրաներ մեկուսացնելու և հետազայում աուքսինանման նյութերի սինթեզի որոշման համար: Վաղ դարնանը Բասարգեչարի, Մարտունու շրջանների, ինչպես նաև Նոյեմբերյանի շրջանի կամբալու սովխոզի տնկարաններից ընտրվել են խնձորենու, տանձենու և նշենու քաղցկեղով վարակված տնկիների նմուշներ, որոնք բերվել են լաբորատորիա և ենթարկվել բակտերիոլոգիական անալիզների:

1961 թվականի ընթացքում կատարվել են 20-ից ավելի բակտերիոլոգիական անալիզներ և մեկուսացվել են *Pseudomonas tumefaciens* հարուցիչի 12 մաքուր կուլտուրաներ:

1962 թվականի ընթացքում անալիզի են ենթարկվել քաղցկեղային ուռուցքներ կրող 76 պտղատու կուլտուրաների նմուշներ, որոնցից մեկուսացվել են *Pseudomonas tumefaciens* հարուցիչի 44 շտամներ:

Վերը նկարագրված աշխատանքներին զուգահեռ՝ էջմիածնի շրջանի Արևշատ գյուղում ուսումնասիրվել են ճակնդեղի ցանքերը և հավաքվել են կերի ու սեղանի ճակնդեղի արմատախտով վարակված նմուշներ: Արմատախտով վարակված նմուշները լաբորատորիա բերվելուց հետո ենթարկվել են բակտերիոլոգիական անալիզի՝ ինֆեկցիայի հարուցիչի մաքուր կուլտուրաներ մեկուսացնելու համար: 1961 թվականի ընթացքում անալիզի են ենթարկվել սեղանի և կերի ճակնդեղի 34 նմուշներ և դրանցից մեկուսացվել են *Xanthomonas beticola* հարուցիչի մաքուր կուլտուրաների 33 շտամ:

1962 թվականին անալիզի են ենթարկվել ճակնդեղի 80 վարակված նմուշներ և նրանցից մեկուսացվել են տվյալ հարուցիչի մաքուր կուլտուրաների 77 շտամ:

Այսպիսով, քաղցկեղի ուռուցքներ առաջացնող հարուցիչի մաքուր և թարմ կուլտուրաները՝ *Pseudomonas tumefaciens* և *Xanthomonas beticola* լաբորատոր պայմաններում ուսումնասիրվել են ֆիզիոլոգիապես ակտիվ նյութերի սինթեզման ունակությունը պարզելու ուղղությամբ:

Ուսումնասիրությունները կատարվել են բիոլոգիական մեթոդով, հիմնվե-

լով բույսերի աճման ուսկցիաների հաշվառման վրա, բացի այդ, ուսումնասիրվել և փորձարկվել են ամինոթթուներ պարունակող մի շարք միջավայրեր, որպեսզի ընտրվի նրանցից լավագույնը՝ աճման նյութերի մաքսիմալ սինթեզումը ապահովելու համար: Կատարվել են նաև համեմատական աշխատանքներ, ուսումնասիրության հիմքում ընդունելով թարմ մեկուսացված և 3 տարվա հին շտամները: Ուսումնասիրությունները հիմք են տալիս անելու հետևյալ եզրակացությունները՝

1. Բակտերիալ հիվանդությունների հարուցիչները, որոնք բույսերի վրա առաջացնում են ուռուցքներ կամ ելուստներ, պտղատու կուլտուրաների քաղցկեղ *Pseudomonas tumefaciens* և ճակնդեղի արմատախտ *Xanthomonas beticola* հանդիսանում են ակտիվ նյութեր արտադրողներ:

2. Ամինոթթուների առկայությամբ (ասպարազին, տրիպտոֆան և ալֆա ալանին) աճման նյութերի սինթեզումը ուռուցքներ առաջացնող հարուցիչների կողմից ավելի ինտենսիվ է տեղի ունենում:

3. Ուռուցքներ առաջացնող հարուցիչների թարմ կուլտուրաներն ընդունակ են ավելի շատ սինթեզելու ֆիզիոլոգիապես ակտիվ նյութեր, քան նույն հարուցիչի 3 տարվա հին շտամները:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бояркин А. Н. Доклады АН СССР, т. 57, 2, стр. 197—200, 1947.
2. Бояркин А. Н. Доклады АН СССР, т. 59, 9, стр. 1651—1652, 1948.
3. Бояркин А. Н. и Дмитриева М. И. Физиол. раст. т. 6, вып. 6, стр. 741—747, 1959.
4. Галачьян Р. М. Известия АН АрмССР (биол. науки), XV, I, стр. 15—24, 1962.
5. Израильский В. Н. Успехи современ. биологии, т. XXIII, вып. I, стр. 109—126, 1947.
6. Иерусалимский Н. Д. Журн. Микробиология, т. XVI, вып. 3, стр. 255—271, 1957.
7. Красильников Н. А., Чайлахян М. Х., Скрыбин Г. К., Хохлова Ю. М., Улезло И. В., Константинова Т. Н. Доклады АН СССР, т. 121, 4, стр. 755—758, 1958.
8. Красильников Н. А., Чайлахян М. Х., Асеева И. В., Хлопенкова Л. П. Доклады АН СССР, т. 123, 6, стр. 1124—1127, 1958.
9. Муромцев Г. С. Труды ВИУА, вып. 63, стр. 183—189, 1960.
10. Муромцев Г. С. и Пеньков Л. А. Гиббереллины, 1962.
11. Нахимовская М. И. Журн. микробиология, 10, вып. 6, стр. 688—700, 1941.
12. Разницина Е. А. Доклады АН СССР, т. 18, 6, стр. 253—256, 1938.
13. Смалый В. Т. и Березова А. И. Журн. Микробиология, т. 36, вып. 5, стр. 526—532, 1957.
14. Чайлахян М. Х., Галачьян Р. М., Саркисова М. М. Доклады АН СССР, т. 164, 5, 1227—1230, 1962.
15. Чайлахян М. Х., Красильников Н. А., Кучаева А. Г., Иванов К. И., Хлопикова Л. П., Асеева А. В. и Краишеко Б. Ф. Журн. физиол. раст. т. 7, вып. 1, 113—120, 1960.