

А. И. МИНАСЯН, Э. О. САРДАРЯН

К ВОПРОСУ ИЗУЧЕНИЯ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА ИНДОЛЬНОЙ ГРУППЫ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ *AZOTOBACTER AGILE*

Многочисленными исследованиями установлено, что азотобактер относится к микроорганизмам, образующим значительные количества биогенных веществ из группы ауксинов, чем и обусловливается значительная часть благоприятного действия данного микроорганизма на растения [1, 3—8, 10—14]. Основным объектом подобных исследований был *Azotobacter chroococcum*. Остальные виды азотобактера как продуценты физиологически активных веществ до настоящего времени недостаточно изучены.

В связи с этим мы попытались изыскать новые продуценты стимуляторов роста индольной группы среди разных штаммов *Azotobacter agile*, полученных из музейных культур ВНИИ с/х микробиологии.

Выращивание микроорганизмов проводилось как на твердой, так и на жидкой в конических колбах питательной среде Эшби, со встряхиванием на качалке при 120 об/мин. После 15-суточной инкубации культуральная жидкость, освобожденная от клеток центрифугированием, высушивалась на водяной бане при 40°C.

В ходе работы выяснилось, что наиболее эффективным продуцентом физиологически активных веществ оказался *Azotobacter agile*, штамм 21.

Не ограничиваясь существующим в литературе методом экстракции свободных ауксинов [2], нами в качестве растворителей использовались, кроме эфира, также 96% этиловый спирт и ацетон. Экстракция проводилась трехкратно последовательным извлечением веществ вышеуказанными растворителями в течение двух часов. При этом наиболее эффективным растворителем оказался ацетон, подкисленный соляной кислотой до pH 2, используемый нами в дальнейших опытах. Ацетоновый и спиртовой экстракты после удаления растворителей вторично экстрагировали очищенным петролевым эфиром с целью избавления от всевозможных нежелательных примесей. После удаления эфира холодным током воздуха сухой остаток растворялся в спирте и наносился на старт хроматографической полоски. Разделение веществ проводилось нисходящим током в системе растворителей п-бутанол—ледяная уксусная кислота—вода (40:12:28). Затем хроматографическая бумага высушивалась и определялись физико-химические и биологические свойства разделенных веществ. При дневном свете на полоске хроматографической бумаги об-

наруживалось только одно пятно желтого цвета, соответствующее $Rf=0,67$. При обнаружении веществ ультрафиолетовым освещением нами отмечены четыре пятна, расположенные соответственно с $Rf=0,27$; $0,57$; $0,67$ и $0,85$. В парах аммиака не отмечалось возникновения новых пятен, а только наблюдалось усиление свечения старых.

Выявление биологической активности обнаруженных на хроматографической бумаге пятен проводилось нами методом Кефели и Турецкой [2]. В качестве биопроб служили колеоптилы пшеницы сорта Арташати 42. Повторность опытов трехкратная, результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1
Выявление биологической активности обнаруженных пятен на колеоптилях пшеницы, мм

Способ выращивания продуцента	Rf	Окраска пятен в видимом свете	Свечение в УФ свете	Средняя длина колеоптилей	Стимуляция или ингибирование, %
На жидкой среде Эшби	Контроль 2% сахараза	—	—	116,0	100,0
	0,27	нет	слабовато-фиолетовое	142,0	122,4
	0,57	нет	светло-голубое	123,0	106,0
	0,67	желтая	желтовато-фиолетовое	95,0	81,9
На твердой среде Эшби	Контроль 2% сахараза	—	—	105,0	100,0
	0,27	нет	слабовато-фиолетовое	128,0	120,7
	0,41	нет	слабо-фиолетовое	110,0	103,8
	0,67	желтая	сильно желто-фиолетовое	81,0	76,1
	0,85	нет	светло-голубое	146,0	139,0

Проверка биологической активности пятен показала, что *Azotobacter agile*, штамм 21, при выращивании на искусственной питательной среде продуцирует физиологически активные соединения, два из которых стимулируют действующие вещества на колеоптилы пшеницы с $Rf=0,27$ и $0,85$, а другое соединение—ингибиторной природы с $Rf=0,67$.

Из табл. 1 видно также, что способ выращивания не оказывает влияния на количественный состав синтезируемых продуцентом веществ. Единственное преимущество состоит в том, что при инкубации на твердой среде Эшби увеличивается исходный материал (биомасса). При этом продуцированные вещества диффундируют в агар в незначительном количестве, основная часть остается в биомассе продуцента; это подтвердилось нами с помощью специальных опытов с целлофаном.

Следующим этапом нашей работы явилась идентификация обнаруженных веществ, проявивших себя как физиологически активные соединения. С этой целью нами применялись как общие, так и специализированные реактивы, рекомендуемые Хайсом и Мацеком, Кефели и Турецкой [2, 9]

Результаты, полученные при применении вышеуказанных проявителей цветных реакций, приведены в табл. 2.

Таблица 2

Цветные реакции обнаруженных пятен на хроматографической бумаге

Rf	Азотнокислое серебро		Хлорное железо	Диазотированная сульфаниловая кислота	Реактив Эрлиха	Реактив Сальковского
	без NaOH	с NaOH				
0,27	нет	нет	нет	слабо-синее	слабо-розовое	нет
0,41—0,57	нет	нет	нет	нет	нет	нет
0,67	слабо-коричневое	нет	синее	нет	нет	нет
0,85	светло-коричневое	коричневое	слабо-серое	розовое	слабовато-коричневое	коричневое

Обобщая полученные биологические, физические, химические показатели и сопоставляя их с литературными данными, следует предположить, что идентифицированное нами вещество с $Rf=0,85$ относится к группе индольных соединений и идентично с 5-оксиндолом-3 уксусной кислотой. Вещество, расположенное в $Rf=0,27$, обладающее биологической активностью, по существующим признакам нам не удалось идентифицировать. Соединение ингибиторной природы с $Rf=0,67$, по всей вероятности, относится к группе полифенолов.

Институт ботаники
АН АрмССР

Поступило 14.X 1970 г.

У. Б. ԿՐԵԱՍՅԱՆ, է. Շ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ

AZOTOBACTER AGILE-ի ԿՈՂՄԻՑ ԱՐՏԱԳՐՎՈՂ ԽՆԴՈՂ ԽՄԲԻ ԱՃՄԱՆ ԽՔԱՆԻԶՆԵՐԻ ՌԻՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋՐ

Ա մ փ ո փ ո ս մ

Azotobacter agile 21 շտամից լուծազատման եղանակով անջատվել են ֆիզիոլոգիական ակտիվությամբ օժտված նյութեր, նախընտրելի լուծիչը մեր փորձերում համարվում է մինչև $pH2$ թթվեցրած ացետոնը:

Արձևատական սննդամիջավայրում աճեցման եղանակը որևէ ազդեցություն չի գործում միկրոօրգանիզմի կողմից ակտիվ նյութերի սինթեզման վրա:

Թղթի բրոմատոգրաֆիայի եղանակով անջատվել են այդ նյութերը, որոնք և փորձարկվել են ցորենի ծլիկերի վրա՝ նրանց կենսաբանական ակտիվությունը բացահայտելու նպատակով: Որոշվել են նրանց ֆիզիկական, քիմիական և կենսաբանական հատկությունները: Հիմք ընդունելով այդ ցուցանիշները, պարզվել է, որ նրանցից մեկը՝ $Rf=0,85$, համարժեք է 5-օքսի-ինդոլի 3 բացախաթթվին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунько И. П. Вестн. АН БССР «Себя сельскагападарчых», Минск, 1965.
2. Кефели В. И. п Турецкыч Р. Х. Сб. «Методы определения регуляторов роста и гербицидов», 1966.
3. Крупина Л. И. Бюлл. научно-технической информации по с/х микробиологии, 8 (11), 1960.
4. Мишустин Е. Н., Наумова А. И., Мариенко В. Г. Изв. Тимирязевской с/х Академии, вып. 3, 1964.
5. Новикова А. Г., Иртуганова Л. Д. Микробиология, т. 35, вып. 4, 1966.
6. Пономарева А. В. Изв. АН БССР, 2, 1951.
7. Пономарева А. В. Рост сеянцев некоторых древесных пород при бактеризации семян. Автореферат канд. дисс., Минск, 1957.
8. Смалый В. Т., Бершова О. И. Микробиология, т. 26, вып. 5, 1957.
9. Хайс И. М., Мацек К. Хроматография на бумаге, М., 1962.
10. Burger K. und Bucatach F. Sbl. bacteriel parasitenkunde infekties ons Krokh und Hyq 2, 3, 1958.
11. Johns J. W. and Graves J. K. Soil Sci. 55, 1943.
12. Hennequin R. R. et Blachere H. Annales de Institut Pasteur. Supplement su n. 3 t. 111, 1966.}
13. Lee S. B. and Burriss R. H. Industrial an England. Chen 35, 1943.
14. Vancura and Macura K. Folin Microbiologia, 5, 1960.