

Н. Л. КАЛАДЖЯН, М. Х. ЧАЙЛАХЯН

ОБРАЗОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВЫДЕЛЕНИЯХ АКТИВНЫХ И НЕАКТИВНЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ГОРОХА И СОИ

Интенсивность образования клубеньков на корнях бобовых растений не всегда связана с азотфиксирующей активностью штамма. С этой точки зрения изучение активности клубеньковых бактерий и определение критериев азотфиксирующей активности их имеет большое практическое значение.

Ряд исследователей пытался найти критерии активности штаммов клубеньковых бактерий на основании морфолого-культуральных, физиолого-биохимических, антигенных особенностей и способности фиксировать азот атмосферы в чистых культурах [1, 4—6, 9—13], однако полученные данные носят противоречивый характер. Существуют всего две работы [7, 8], посвященные синтезу бета-индолилуксусной кислоты активными и неактивными штаммами клубеньковых бактерий, но и в них высказаны противоречивые мнения. Данных о синтезе гиббереллинов и ингибиторов активными и неактивными штаммами клубеньковых бактерий не имеется.

Нами было проведено изучение способности активных и неактивных штаммов клубеньковых бактерий синтезировать гиббереллины, ауксины и ингибиторы фенольной природы.

Культуральные жидкости двадцати двух активных и неактивных штаммов клубеньковых бактерий гороха и сои подверглись хроматографическому анализу. Определение и идентификация гиббереллинов и гиббереллиноподобных веществ в выделениях клубеньковых бактерий производились по методу Ложниковой, Хлопечковой и Чайлахяна [3], ауксинов и ингибиторов—по Кефели и Турецкой [2].

Для идентификации гиббереллинов использовался растворитель изопропанол—вода (35:14); для идентификации ауксинов и ингибиторов, при эфирном экстрагировании культуральных жидкостей—изопропанол-аммиак-вода (10:1:1), а при бутанольном экстрагировании—бутанол-уксусная кислота-вода (100:19:35). Распределение веществ на хроматограммах проводилось в восходящем токе.

Биопробы ставились на элюатах, полученных из разных зон хроматограмм культуральных жидкостей клубеньковых бактерий. Обнаружение и идентификация ауксинов и ингибиторов производились также методом цветных реакций. С этой целью хроматограммы просматривались при дневном свете и под ультрафиолетовыми лучами, а также под этими же лучами в парах аммиака. Кроме того, производились реакции с растворами FeCl_3 , AgNO_3 , $\text{AgNO}_3 + \text{NaOH}$, AlCl_3 , $\text{AlCl}_3 + \text{NaHCO}_3$, раствором Сальковского, ванилиновым реактивом и диазотированной сульфаниловой кислотой.

На хроматограммах метаболитов 12 активных и неактивных штаммов гороха под ультрафиолетовыми лучами были видны характерные для гиббереллинов изумрудные свечения в зонах с R_f 0,56—0,70 и 0,84—1,0, что совпадает с R_f и свечением гиббереллинов A_7 и A_3 . Только в случае со штаммом гороха № 68 отсутствовало свечение в зоне, соответствующей гиббереллину A_7 . Кроме того, гиббереллиновые свечения были отмечены в зоне с R_f 0,70—0,84 у двух активных и двух неактивных штаммов гороха (№№ 144, 110, 114, 41). На хроматограммах 9 активных и неактивных штаммов клубеньковых бактерий сои также было обнаружено характерное для гиббереллина A_7 свечение. Лишь у активного штамма № 647 свечение было заметно в зоне, совпадающей с R_f гиббереллина A_3 . Сравнительно слабое свечение было на хроматограммах у всех активных и неактивных штаммов сои в зоне с R_f 0,14—0,28.

Таблица 1

Влияние элюатов из зон хроматограмм (с разными R_f) культуральных жидкостей активных и неактивных штаммов клубеньковых бактерий гороха и сои на рост проростков гороха

Варианты опыта	0—0,14	0,14—0,28	0,28—0,42	0,42—0,56	0,56—0,70	0,70—0,84	0,84—1,0
	$X \pm S_x$	$X \pm S_x$	$X \pm S_x$	$X \pm S_x$	$X \pm S_x$	$X \pm S_x$	$X \pm S_x$
Вода	30,6 \pm 1,1						
Гиббереллин 0,01%	103,2 \pm 1,3						
Клубеньковые бактерии гороха							
Активный							
№ 144	38,7 \pm 1,2	42,1 \pm 1,6	40,8 \pm 1,7	57,1 \pm 1,4	60,3 \pm 0,8	62,5 \pm 1,6	70,6 \pm 1,8
№ 41	38,8 \pm 1,9	38,6 \pm 0,8	54,3 \pm 1,6	40,3 \pm 1,7	60,4 \pm 0,8	62,4 \pm 1,6	70,7 \pm 1,8
Неактивный							
№ 114	36,1 \pm 1,1	47,3 \pm 1,2	66,5 \pm 1,6	40,8 \pm 1,8	78,3 \pm 2,3	79,7 \pm 2,3	83,5 \pm 3,2
№ 46	39,1 \pm 0,9	55,2 \pm 1,6	59,1 \pm 1,8	42,3 \pm 0,7	65,7 \pm 3,2	56,7 \pm 1,6	84,4 \pm 2,1
Вода	27,9 \pm 1,2						
Гиббереллин 0,01%	93,2 \pm 1,2						
Клубеньковые бактерии сои							
Активный							
№ 650	21,1 \pm 0,8	27,4 \pm 0,8	21,2 \pm 1,1	43,3 \pm 1,1	61,3 \pm 1,3	27,9 \pm 1,0	69,5 \pm 1,3
№ 646	32,7 \pm 1,1	36,1 \pm 1,1	30,7 \pm 1,1	39,0 \pm 0,9	53,4 \pm 1,1	34,2 \pm 1,2	57,7 \pm 1,2
Неактивный							
№ 641	19,6 \pm 0,5	38,9 \pm 2,0	38,7 \pm 1,3	39,1 \pm 0,9	50,2 \pm 1,4	25,5 \pm 1,1	67,8 \pm 1,2
№ 640	23,8 \pm 1,1	55,2 \pm 1,6	41,8 \pm 1,8	25,6 \pm 1,1	63,1 \pm 1,9	40,6 \pm 1,8	69,7 \pm 3,5

X — средняя величина проростков гороха, S_x — процент отклонений

Для уточнения данных хроматографических анализов ставились биопробы. Данные биопроб (табл. 1) показывают, что у активных и неактивных штаммов гороха наибольшую гиббереллиновую активность проявили

элюаты из зон с R_f 0,56—0,70 и 0,84—1,0, которые совпадают с зонами гиббереллинов A_7 и A_3 . Исключение составлял штамм № 68. Под действием элюатов из зон хроматограмм культуральной жидкости этого штамма с R_f 0,50—0,70 рост проростков гороха был сравнительно ниже, несмотря на то, что процент достоверности гиббереллиновой активности равнялся 4,7%. Высокий прирост проростков гороха получен под действием элюатов из зон с R_f 0,70—0,84 у штаммов №№ 41, 144, (активных) и №№ 110, 114 (неактивных). Данные о наличии гиббереллинов в выделениях штаммов клубеньковых бактерий сои показывают, что высокая гиббереллиновая активность получается не только в зоне с R_f 0,56—0,70 (совпадающей с R_f гиббереллина A_7), но и в зоне с R_f 0,84—1,0 (совпадающей с R_f гиббереллина A_3). В последнем случае, однако, свечения под ультрафиолетовыми лучами не наблюдалось, что говорит скорее о наличии гиббереллина A_1 .

Таким образом, хроматографические анализы активных и неактивных штаммов гороха и сои и поставленные биопробы показывают, что есть некоторые различия в способности к образованию гиббереллинов у штаммов гороха и сои. Штаммы гороха в своих выделениях образуют гиббереллины A_3 и A_7 , а сои— A_1 и A_7 . Эти же данные одновременно показывают, что нет различий в отношении образования гиббереллинов между активными и неактивными штаммами, что иллюстрирует также гистограмма, составленная по данным биопроб (рис. 1).

Кроме гиббереллинов, в выделениях активных и неактивных штаммов клубеньковых бактерий гороха и сои были обнаружены ауксины и ингибиторы фенольной природы. При просмотре хроматограмм культуральных жидкостей активных и неактивных штаммов клубеньковых бактерий гороха и сои под ультрафиолетовыми лучами были выявлены пятна, которые в основном размещались в зонах с R_f 0—0,3 и 0,8—1,0. Поставленные цветные реакции выявили, что хроматограммы культуральных жидкостей активных и неактивных штаммов одинаково реагируют со всеми реактивами и дают одинаковые цветные реакции в зонах хроматограмм, имеющих один и тот же R_f . Исключение составили штаммы № 41 (активный) и 123 (неактивный). На хроматограммах штамма № 41 в зоне с R_f 0,95 при дневном свете было видно красное пятно, а хроматограмма штамма № 123 (при эфирном экстрагировании) в зоне с R_f 0—0,4 показала сильную реакцию с диазотированной сульфаниловой кислотой. Результаты цветных реакций говорят о том, что различий в способности активных и неактивных штаммов сои и гороха к синтезу ауксинов и ингибиторов нет. В их выделениях в основном содержатся одинаковые вещества: фенолы и фенольные кислоты, которые накапливаются на хроматограммах в зонах с R_f 0—0,3 и 0,8—1,0. Данные биопроб (табл. 2), поставленных на элюатах из хроматограмм, показывают, что в эфирных экстрактах в основном накапливаются стимулирующие рост вещества, принадлежащие к ауксиновой группе, а в бутанольных экстрактах содержатся ингибиторы. Большинство зон хроматограмм культуральных жидкостей клубеньковых бактерий гороха, подвергшихся

Таблица 2

Влияние элюатов из зон хроматограмм (с разными Rf) культуральных жидкостей активных и неактивных штаммов клубеньковых бактерий гороха на рост coleoptiles пшеницы, мм

Варианты опытов	0—0,14	0,14—0,28	0,28—0,42	0,42—0,56	0,56—0,70	0,70—0,84	0,84—1,0
	$\bar{X} \pm S_x$						

Эфирная экстракция

Контроль (2% сахара)	8,9±0,2						
Клубеньковые бактерии гороха							
Активные							
№ 151	10,9±0,3	10,3±0,2	12,0±0,2	11,1±0,2	12,1±0,3	14,5±0,1	14,1±0,2
№ 144	11,4±0,3	11,4±0,3	12,9±0,2	11,8±0,2	12,3±0,4	9,4±0,3	10,3±0,2
Неактивные							
№ 127	13,1±0,3	9,5±0,2	9,9±0,1	10,9±0,2	13,6±0,2	9,2±0,1	11,4±0,3
№ 114	10,2±0,1	11,0±0,2	9,1±0,2	9,9±0,2	11,0±0,3	12,1±0,2	8,5±0,3

Бутанольная экстракция

Контроль (2% сахара)	9,0±0,2						
Активные							
№ 151	11,0±0,2	6,5±0,2	6,0±0,1	8,1±0,2	6,3±0,2	7,6±0,1	7,5±0,3
№ 144	9,9±0,1	6,6±0,2	7,6±0,1	7,0±0,2	9,6±0,2	8,1±0,1	7,3±0,1
Неактивные							
№ 127	9,7±0,2	6,3±0,2	6,6±0,2	8,8±0,2	7,7±0,2	7,6±0,2	8,0±0,2
№ 114	8,0±0,2	7,8±0,1	7,0±0,3	7,1±0,2	8,3±0,2	7,9±0,2	6,6±0,2

X — средняя величина coleoptiles, Sx — процент отклонений.

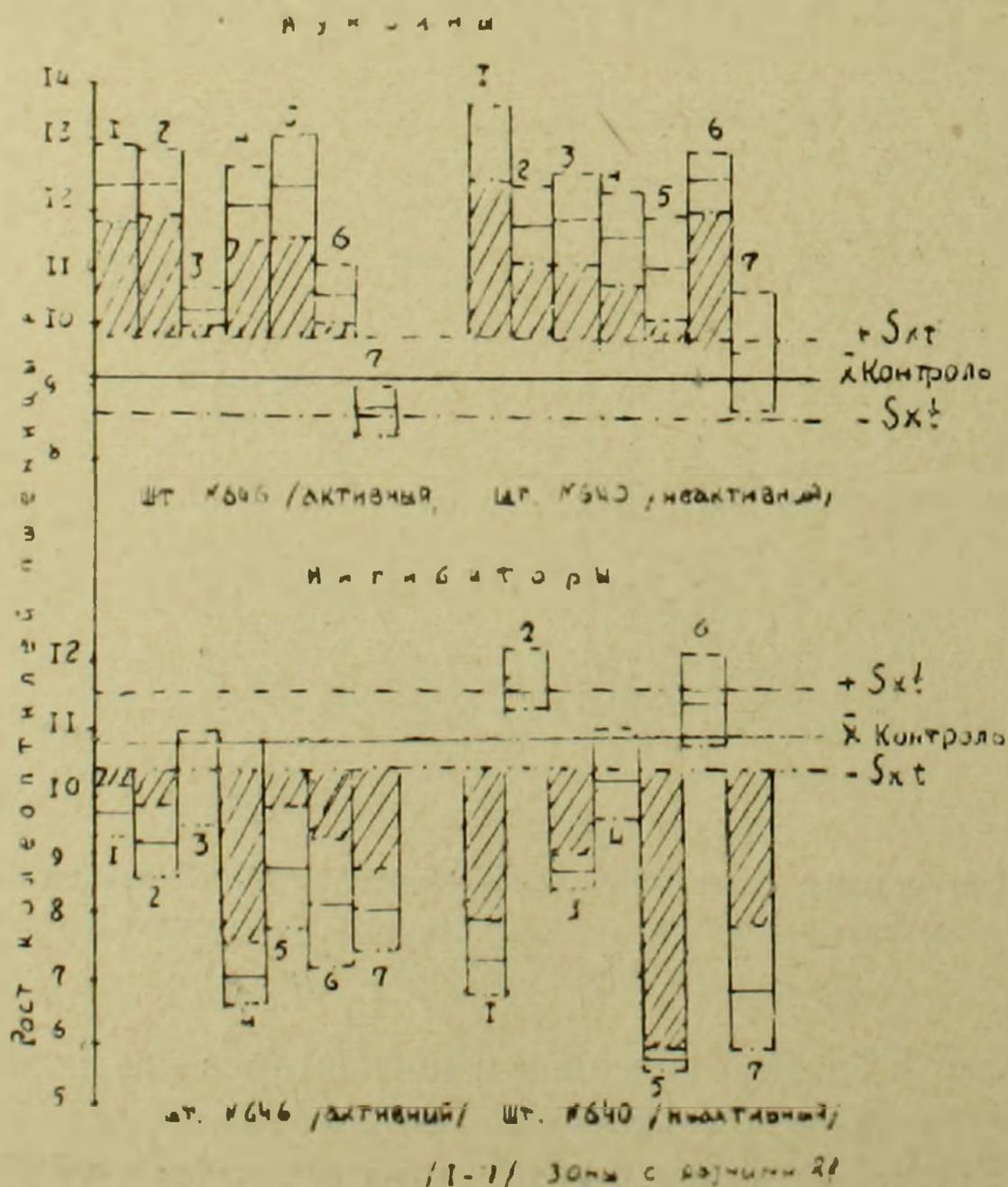


Рис. 2. Гистограммы содержания ауксинов и ингибиторов в выделенных активных и неактивных штаммах клубеньковых бактерий сои.

Обобщая, следует сказать, что клубеньковые бактерии гороха, наряду с другими метаболитами, образуют гиббереллины A_3 и A_7 и другие гиббереллиноподобные вещества; клубеньковые бактерии сои образуют гиббереллины A_1 и A_7 и другие гиббереллиноподобные вещества.

В хроматографических зонах с R_f 0,70—0,84 культуральных жидкостей клубеньковых бактерий гороха штаммов №№ 41, 114, 110, 144 сосредотачиваются какие-то гиббереллиноподобные вещества, которые под ультрафиолетовыми лучами дают характерное для гиббереллинов свечение и стимулируют рост проростков гороха.

Активные и неактивные штаммы клубеньковых бактерий гороха и сои в чистой культуре не различаются между собой по интенсивности образования гиббереллинов, гиббереллиноподобных веществ, ауксинов и ингибиторов.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 20.XII 1971 г.

Ե. Լ. ՔԱԼԱԶՅԱՆ, Մ. Ք. ԶԱՅԼԱԽՅԱՆ

ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՊԵՍ ԱԿՏԻՎ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ԱՌԱՋԱՑՈՒՄԸ ՈԼՈՌԻ ԵՎ ՍՈՅԱՅԻ ՊԱԼԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎ ԵՎ ՈՉ ԱԿՏԻՎ ՇՏԱՄՆԵՐԻ ԿՈՂՄԻՑ

Ա մ փ ո փ ու մ

Քրոմատոգրաֆիական մշակման են ենթարկվել ոլոռի և սոյայի պալարաբակտերիաների 22 ակտիվ և ոչ ակտիվ շտամների կուլտուրալ հեղուկները: Անալիզները կենսամուղների հետ միասին պարզել են, որ կան որոշ տարբերություններ ոլոռի և սոյայի շտամների միջև հիբերելինների սինթեզման ունակության տեսակետից: Ոլոռի շտամները մի շարք հիբերելինանման նյութերի հետ միասին սինթեզում են հիբերելին A_3 և A_7 , իսկ սոյայի շտամները՝ զիբերելին A_1 և A_7 : Նույն այդ տվյալները ցույց են տվել, որ տարբերություն չկա ակտիվ և ոչ ակտիվ շտամների միջև զիբերելինների արտադրման տեսակետից:

Դիտարկումները ուտրամանուշակագույն ճառագայթների տակ և գունավոր ռեակցիաների արդյունքները ցույց են տվել, որ ոլոռի և սոյայի ակտիվ և ոչ ակտիվ շտամների կողմից արտադրվում են միանման նյութեր՝ ֆենոլներ և ֆենոլային թթուներ: Պարզվել է նաև, որ աուքսինների և ինհիբիտորների սինթեզման տեսակետից տարբերություն չկա ոլոռի և սոյայի պալարաբակտերիաների ակտիվ և ոչ ակտիվ շտամների միջև:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Израильский В. П., Рыжкова А. С., Присягина М. Г. Доклады ТСХА, вып. 107, 105—113, 1964.
2. Кефели В. И., Турецкая Р. Х. Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., 1966.

3. Ложникова В. Н., Хлопенкова Л. П., Чайлахян М. Х. *Агрохимия*, 10, 1967.
4. Федоров М. В., Ласло Д. *Известия ТСХА*, 2, 1956.
5. Филиппова К. Ф. *Известия Естественно-научного ин-та при Пермском гос. ун-те*, 14, вып. 2, 1958.
6. Штерн Е. А. *Микробиология*, 22, 1953.
7. Chen H. K. *Nature*, 142, 753—754, 1938.
8. Georghi C. E. and Becuin A. E. *Nature*, 143, 25, 1939.
9. Gupta K. G., Sen A. *Science and Culture*, 30, 7, 348—349, 1964.
10. Kobus I. *Acta microbiol. polon.*, 1, 2, 137—150, 1952.
11. Modrie A., Strunjak R. *Arh. poljopivedne nauke*, 16, 52, 84—93, 1963.
12. Tove S. R., Wilson P. W. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, 69, 184—186, 1948.
13. Vincent I. M. *Austral. J. Sci.*, 15, 4, 133—134, 1953.
14. Wilson P. W. W. *Ruhland (Hrsg)*, Bd. 8, 9—47, Berlin, Springer, 1958.