

УДК 547.466:631.46+633.11.15

Дж. А. АГАДЖАНИ

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ НЕКОТОРЫХ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ РИЗОСФЕРЫ

Сравнительное изучение свободных аминокислот почвенных микроорганизмов показывает, что отдельные виды, принадлежащие к разным физиологическим группам, характеризуются неодинаковым набором и количественным содержанием свободных аминокислот, которые, проникая из почвы через корневую систему в растение, могут способствовать росту и развитию растений, и, следовательно, повышению их урожайности.

Микроорганизмы почвы в процессе своей жизнедеятельности синтезируют и выделяют в среду физиологически важные соединения, в том числе аминокислоты [1, 4, 6, 7, 11, 12].

Активные продуценты аминокислот обнаружены среди различных групп микроорганизмов—актиномицетов, бактерий, дрожжей и др. Кроме связанных аминокислот, которые входят в белковый комплекс клеток микроорганизмов, в последних имеется и обменный фонд, содержащий свободные аминокислоты.

Нами изучался состав свободных внутриклеточных аминокислот и состав аминокислот культуральной жидкости микроорганизмов, принадлежащих к разным физиологическим группам—аммонификаторам, актиномицетам, азотобактерам.

Материал и методика. Для определения свободных аминокислот микроорганизмы выращивались на жидкой синтетической среде Асан [8] следующего состава: на 1 л водопроводной воды NH_4Cl —9,0, K_2HPO_4 —0,5, MgSO_4 —0,5, CaCO_3 —3,0, глюкозы—50,0 г. рН среды—7. Питательная среда разливалась в колбы Эрленмейера емкостью 150 мл по 50 мл в каждую и заражалась двухдневными культурами бактерий, азотобактеров и пятидневными культурами актиномицетов. Инкубация велась при 28°C. Аммонификаторы и азотобактеры культивировались 7—10 дней, а актиномицеты—10—15 дней. Колбы время от времени встряхивались для равномерного роста. Затем культуральная жидкость центрифугировалась (5000 об/сек) для разделения биомассы и фильтрата. Полученная биомасса дважды промывалась стерильной водой и высушивалась при 80°C.

Определение свободных аминокислот в клетках и фильтрате культуральных жидкостей проводилось методом хроматографии на бумаге. Для определения спирторастворимых аминокислот биомасса экстрагировалась в 80%-ом этиловом спирте (гидромодуль 30) при 75—80°C в течение 1 часа. Экстракты биомассы и фильтрата наносились на бумагу (№ 2043, Зап. Герм.) в равных по объему количествах (0,15 мл). Распределение аминокислот проводилось нисходящим способом в растворителе бутанол-уксусная кислота-вода в соотношении 4:1:1 путем его шестикратного пропускания. Аминокислоты проявлялись 0,2% раствором нингидрина в ацетоне. Идентификация аминокислот проводилась при помощи свидетелей, количественное определение их—колориметрическим методом на ФЭК—56 по методу Лисицкого и Лорана [10].

Результаты и обсуждение. Как показывают данные таблиц, максимальное количество аминокислот изучаемые нами микроорганизмы в процессе своего развития синтезируют и выделяют в среду на десятый день роста, а актиномицеты—на пятнадцатый. Виды и штаммы микроорганизмов различаются как по качественному составу синтезированных аминокислот (от 13 до 20), так и по их количеству (табл. 1, 2). Так, например, в клетках *Az. chroococcum* 440 содержится 13 аминокислот, а у *Az. chroococcum* 516—16 аминокислот. У *Az. chroococcum*-440 отсутствовали валин, лейцин + изолейцин, фенилаланин. Гораздо чаще наблюдаются количественные расхождения. Например, если в клетках *Vac. megaterium* 515 синтезируется 704 мкг (34,7% от суммы аминокислот) аргинина, а *Vac. mesentericus* 57—266,0 мкг (31,7%), то у *Az. chroococcum* 516—876 мкг (68,6%).

По данным табл. 1 видно, что расхождения в качественном и количественном составе накопленных в клетке аминокислот могут наблюдаться между разными видами микроорганизмов даже в пределах одной и той же группы. Это является, по-видимому, следствием того, что каждый организм, независимо от своей видовой принадлежности, синтезирует в соответствующей среде необходимые для себя аминокислоты. Наибольшее количество аминокислот из исследованных групп микроорганизмов синтезируется актиномицетами, наименьшее—азотобактером шт. 440. Независимо от принадлежности к той или иной физиологической группе в клетках микроорганизмов в значительных количествах обнаруживаются аланин, аргинин, треонин, орнитин, гистидин, сравнительно меньше—лизин, валин, лейцин + изолейцин, серин и ГАМК. В виде следов встречаются глютаминовая кислота, фенилаланин, аспарагиновая кислота и ряд неидентифицированных аминокислот. Из изучаемых микроорганизмов пролин обнаруживается в виде следов только у *Vac. megaterium* 515.

Иная картина наблюдается в составе свободных аминокислот в фильтратах культуральных жидкостей этих же микроорганизмов (табл. 2). В культуральных жидкостях испытываемых штаммов в основном обнаруживаются аланин, орнитин, лизин, тирозин, лейцин + изолейцин, глютаминовая кислота, аспарагин, глутамин, треонин, валин, γ -аминомасляная кислота. Из приведенного списка видно, что микроорганизмы выделяют в среду в небольшом количестве ряд незаменимых аминокислот.

Качественные и количественные расхождения между различными видами микроорганизмов обнаружены и в составе аминокислот культуральной жидкости. Для изучаемых микроорганизмов характерно накопление и выделение в среду в большом количестве аргинина, аланина, независимо от видовой и групповой принадлежности. В отношении аланина полученные данные совпадают с литературными [2, 3, 5, 13]. Из приведенных таблиц видно, что наибольшая общая сумма свободных аминокислот в культуральной жидкости, как и в случае внутриклеточных аминокислот, обнаруживалась у актиномицетов.

Таблица 1

Содержание свободных аминокислот в клетках почвенных микроорганизмов (мкг на 100 мг высушенных бактерий и %-ое соотношение от общей суммы аминокислот)

Аминокислоты	Bac. megaterium, шт. 515		Bac. mesentericus, шт. 57		Az. chroococcum, шт. 516		Az. chroococcum, шт. 440		Act. griseus, шт. 239		Act. cretaceus, шт. 76	
	мкг	%	мкг	%	мкг	%	мкг	%	мкг	%	мкг	%
Цистин	172,0	8,4	—	—	—	—	—	—	—	—	286,0	10,1
Орнитин	100,0	4,9	50,0	5,9	56,0	4,3	114,0	8,64	200,0	9,61	218,0	8,06
Гистидин	200,0	9,8	100,0	12,0	50,0	3,9	224,0	17,0	350,0	16,8	20,0	0,71
Неидентифицированная	—	—	—	—	сл.	сл.	—	—	—	—	—	—
Лизин	42,0	2,07	10,4	1,2	10,4	0,81	20,0	1,5	316,0	15,2	84,0	2,95
Аспарагин	180,0	8,8	сл.	сл.	22,0	1,7	110,0	8,33	88,0	4,23	310,0	10,95
Аргинин	704,0	34,7	266,0	31,7	876,0	68,6	600,0	43,03	500,0	24,1	507,0	17,9
Неидентифицированная	—	—	—	—	—	—	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.
Глютамин	250,0	12,3	сл.	сл.	сл.	сл.	100,0	7,54	200,0	9,61	300,0	10,6
Аспарагиновая кислота	108,0	5,3	сл.	сл.	сл.	сл.	18,0	1,36	90,0	4,3	36,0	1,27
Глицин — серин	53,2	2,6	6,6	0,8	сл.	сл.	13,2	1,0	26,0	1,25	40,0	1,4
Глютаминовая кислота	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	20,0	0,96	30,0	1,06
Треонин	62,0	3,05	50,0	5,9	62,0	4,9	100,0	7,5	38,0	1,3	250,0	8,8
Аланин	114,0	5,6	71,4	8,5	172,0	13,4	20,0	1,5	300,0	14,4	328,0	11,6
Пролин	сл.	сл.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ГАМК	—	—	—	—	—	—	—	—	72,0	3,5	72,0	2,5
Неидентифицированная	—	—	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.
Валин	24,0	1,2	26,0	3,1	сл.	сл.	—	—	50,0	2,4	26,0	0,9
Фала	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	—	—	30,0	1,4	300,0	10,6
Лейцин + изолейцин	20,0	0,9	258,0	30,7	28,0	2,2	—	—	сл.	сл.	12,0	0,4
Общая сумма	2029,2		838,4		1276,4		1319,2		2080,0		2829,0	

Примечание: В табл. 1 и 2 знак — означает отсутствие аминокислот.

Таблица 2

Содержание свободных аминокислот в культуральных жидкостях почвенных микроорганизмов (мкг на 100 мл культуральной жидкости и %-ое соотношение от общей суммы аминокислот)

Аминокислоты	Bac. megaterium, шт. 515		Bac. mesentericus, шт. 57		Az. chroococcum, шт. 516		Az. chroococcum, шт. 440		Act. griseus, шт. 239		Act. cretaceus, шт. 76	
	мкг	%	мкг	%	мкг	%	мкг	%	мкг	%	мкг	%
Орнитин	сл.	сл.	сл.	сл.	66,6	5,9	41,0	5,1	41,0	3,4	22,0	1,8
Лизин	47,2	4,1	22,2	2,3	62,3	5,5	94,0	10,9	82,0	6,3	60,0	4,9
Аспарагин	38,1	39,0	38,1	45,7	200,0	17,8	109,0	12,7	310,0	23,7	326,0	26,4
Неидентифицированная	—	—	—	—	—	—	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.
Аргинин	20,0	2,05	20,0	2,2	30,0	2,7	10,0	1,2	16,0	1,2	20,0	1,6
Глютамин	144,0	14,8	136,0	14,7	160,0	14,3	240,0	27,9	240,0	18,3	160,0	13,0
Глютаминовая кислота	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	15,0	1,2	20,0	1,6
Треонин	37,4	3,8	87,4	9,5	50,0	4,5	48,0	5,6	62,0	4,7	75,0	6,1
Аланин	342,0	30,5	232,0	25,2	514,0	45,8	314,0	36,5	442,0	33,8	471,0	38,2
Тирозин	—	—	—	—	—	—	—	—	38,0	2,9	38,0	3,1
ГАМК	сл.	сл.	сл.	сл.	—	—	—	—	сл.	сл.	сл.	сл.
Валин	—	—	40,0	4,3	40,0	3,6	сл.	сл.	30,0	2,3	20,0	1,6
Лейцин + изолейцин	—	—	—	—	—	—	—	—	28,6	2,2	20,0	1,6
Общая сумма	971,6		918,6		1122,9		859,0		1307,0		1232,0	

Результаты исследований показывают, что количественный и качественный состав свободных внутриклеточных аминокислот богаче, чем состав аминокислот, выделяемых в культуральную жидкость, что согласуется с данными Ханкока и других [9]. Однако в отношении некоторых аминокислот наблюдается обратная закономерность. Так в биомассе микроорганизмов накопилось меньше аланина, чем выделилось в среду (табл. 1, 2). Следовательно, коррелятивная связь между накоплением аминокислот внутри клетки и их выделением в среду наблюдается не во всех случаях.

Итак, сравнительное изучение свободных аминокислот почвенных микроорганизмов показывает, что отдельные виды, принадлежащие к разным физиологическим группам, характеризуется неодинаковым составом и количественным содержанием аминокислот, которые, проникая из почвы через корневую систему в растение, могут способствовать росту и развитию растений, и, следовательно, повышению их урожайности.

Ереванский государственный университет,
кафедра физиологии и анатомии растений

Поступило 27.XI 1974 г.

Ջ. Ա. ԱՂԱԶԱՆՅԱՆ

ՌԻԶՈՍՖԵՐԱՅԻՑ ԱՌԱՆՁՆԱՑՎԱԾ ՄԻ ՔԱՆԻ ՀՈՂԱՅԻՆ
ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ԱՂԱՏ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԸ

Ա մ փ ո ւ մ

ՀՍՍՀ-ի հողերից անջատվել են տարբեր խմբերի պատկանող միկրոօրգանիզմներ՝ բակտերիաներ, ազոտաբակտերիաներ, ճառագայթասնկեր:

Բակտերիաները և ազոտաբակտերիաներն իրենց կենսագործունեության ընթացքում ավելի շատ ամինաթթուներ են կուտակել և միջավայր արտազատել ամձան 10-րդ օրը, իսկ ճառագայթասնկերը՝ 15-րդ օրը: Նրանք իրենց բջիջներում և կուլտուրալ հեղուկներում սինթեզել են տարբեր որակի և քանակի ազատ ամինաթթուներ: Միկրոօրգանիզմների բջիջներում ազատ ամինաթթուներից նշանակալի քանակությամբ սինթեզվել են արգինին, ալանին, թրեոնին, ցիստեին, օրնիթին, իսկ կուլտուրալ հեղուկներում գերակշռել են ալանինը, ասպարազինը և համեմատաբար թրեոնինը:

Հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ ազատ ներբջջային ամինաթթուների քանակական և որակական կազմը ավելի հարուստ է քան կուլտուրալ հեղուկին:

Սակայն որոշ ամինաթթուների տեսակետից նկատվել է հակառակ օրինաչափություն: Այսպես, հետազոտվող միկրոօրգանիզմների կենսազանգվածում կուտակվել է քիչ քանակությամբ ալանին, քան արտազատվել է միջավայր: Հետևաբար, կոռելյատիվ կապ ներբջջային ամինաթթուների կուտակման և միջավայր արտազատման միջև դիտվում է ոչ բոլոր դեպքերում:

Այսպիսով, հողի միկրոօրգանիզմների ազատ ամինաթթուների համեմատական ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս, որ տարբեր ֆիզիոլոգիական խմբերի պատկանող առանձին տեսակները բնորոշվում են ամինաթթուների ոչ

միանման կաղմով և բանակական պարունակությամբ, որոնք արմատային սիստեմի միջոցով հողից թափանցելով բույսերի մեջ, կարող են նպաստել բույսերի աճին և զարգացմանը, հետևաբար և նրանց բերքատվության բարձրացմանը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Асеева И. В., Бутенко С. А. Сб. Микроорганизмы в с/х. МГУ, 1963.
2. Асеева И. В., Дзбровольская Т. Г. Научн. докл. высш. школы (биол. науки), 2, 1965.
3. Двали Г. Ш. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1973.
4. Красильников Н. А., Асеева И. В., Бабьева И. П. ДАН СССР, 141, 6, 1961.
5. Красильников Н. А. Гиббереллины и их действие на растения. М., 1963.
6. Пучинян Л. А. Тез. док. второго республ. совещ., посвященного применению хроматографии в исследовательских работах, Ереван, 1971.
7. Рубан Е. Л. Изв. АНССР, 3, 1962.
8. Asai F., Aida K. a. Olsht K. Bull. agric. chem. Soc., 21, 2, 1957.
9. Hancock R. Biochim. Biophys. Acta, 28, 2, 402, 1956.
10. Lissitsky S. a. Lourent G. Bull. Soc. biol. 37, 1177, 1955.
11. Kinoshita S. Appl. Microbiol. 1, 201, 1959.
12. Sugtsaki Z. J. Gen. Appl. Microbiol., 6, 1, 1959.
13. Tempest D. W., Meers J. L. and Brown C. M. J. Gen. Microbiol. 64, 2, 1970.