

СИНТЕЗ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
МИКРООРГАНИЗМАМИ РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ
И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ

Р. Е. ХАЧИКЯН, З. Г. ГЕВОРКЯН

При изучении микрофлоры из ризосферы различных растений выяснилось, что микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности способны синтезировать как одинаковые, так и разные по своим физико-химическим и биологическим особенностям индолные и гиббереллиноподобные производные.

Взаимоотношение микроорганизмов с высшими растениями и влияние микроорганизмов на рост и развитие растений являются важнейшими задачами современной микробиологии.

Изучение синтеза физиологически активных (ростовых) веществ микроорганизмами и выяснение их роли в механизме роста и развития растений имеет большое значение.

Имеющиеся в литературе данные [1—6] свидетельствуют о том, что микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности способны синтезировать ауксиноподобные вещества. Однако физико-химические, биологические особенности этих веществ и их влияние на рост и развитие растений изучены недостаточно из-за отсутствия полноценных методов.

Материал и методика. Работа проводилась в три этапа: выделение и изучение микроорганизмов из ризосферы разных растений, произрастающих в различных экологических условиях Армянской ССР; модификация имеющихся методов исследования для селекции микроорганизмов—продуцентов ростовых веществ и их идентификация; изучение влияния ростовых веществ микробного происхождения на рост и развитие растений.

На первом этапе в лабораторных условиях изучалась микрофлора почвенных образцов, взятых из ризосферы табака, пшеницы, эспарцета, люцерны, томата, сосны, липы и розы, произрастающих в различных зонах Армянской ССР, проводился микробиологический анализ на различных питательных средах (Чапек, МПА, крахмал-аммиачной, МПА+сусло, сусло и Гетчинсона).

Выделено около 114 штаммов микроорганизмов (споровых и неспоровых бактерий—65, актиномицетов—41, грибов—6 и целлюлозоразлагающих микроорганизмов—3), путем последовательных пересевов которых на различные питательные среды получены монокультуры.

С целью обнаружения микроорганизмов—продуцентов физиологически активных веществ (ауксинов, гиббереллинов и ингибиторов) был проведен отбор ризосферных микроорганизмов.

Для определения способности микроорганизмов к выделению и синтезированию ростовых веществ изучаемые культуры выращивали на жидких (неорганических и органических) питательных средах на качалке (180 об/мин при 26—27°). Полученную культуральную жидкость микроорганизмов центрифугировали 10—15 мин при 6000 об/мин. В присутствии растворителя (вода+бутиловый спирт 1:0,5+эфир+этилацетат в равных объемах) культуральную жидкость экстрагировали в разделительной воронке, затем во фракции нормальный бутиловый спирт—эфир—этилацетат определяли индольные производные гиббереллина и ингибиторов типа фенольных соединений по хроматографическим методам Ложниковой, Хлопенковой, Чайлахяна [7], а также Кефели и Турецкой [8]. Система растворителя для ауксинов и ингибиторов—нормальный бутиловый спирт—аммиак—вода (41,5:1,5:7), нормальный бутиловый спирт—ледяная уксусная кислота—вода (40:12:28), (100:35:19), 15%-ная уксусная кислота.

Для хроматографического разделения эндогенных гиббереллиноподобных веществ использовали систему растворителя изопропиловый спирт—вода (5:2).

При экстрагировании гиббереллиноподобных веществ, ауксинов и ингибиторов, содержащихся в культуральной жидкости, применяли смесь этилового эфира с уксусной кислотой в объеме 1:1, а также серный эфир, нормальный бутиловый спирт и ацетон.

Из испытуемых растворителей-экстрагентов при различных системах исследования ауксинов и ингибиторов наиболее эффективными оказались нормальный бутиловый спирт и серный эфир, а для гиббереллиноподобных веществ—этилацетат и в некоторых случаях—ацетон с 15%-ной уксусной кислотой.

Для определения биологической активности веществ, обнаруженных на разных зонах хроматографической бумаги, применялась проба на растяжение отрезков колотилей пшеницы сорта Арташати-42 по методике, разработанной Бояркиным [9].

В качестве контроля для сравнения с биотестом служили 0,01%-ный раствор химически чистой индолилуксусной кислоты и 2%-ный раствор сахарозы.

При определении активности гиббереллиноподобных веществ, синтезируемых микроорганизмами, применялась ростовая реакция проростков карликового гороха сорта Пионер и салата сорта Берлинский. Контролем служили водопроводная вода и 0,01%-ный раствор гиббереллина A_3 [10].

С целью выяснения идентификации индольных и фенольных производных микробного происхождения применялись цветные реакции, дающие возможность определить их физико-химические свойства.

Результаты и обсуждение. При определении способности к синтезу ростовых веществ у 114 штаммов микроорганизмов, развивающихся в ризосфере растений, выяснилось, что большинство из них в процессе своей жизнедеятельности синтезирует ауксины, гиббереллины и ингибиторы. Наиболее высокую способность к синтезу ауксина проявили следующие штаммы микроорганизмов: из споровых и неспоровых бактерий штаммы №№ 66, 78, 84, 70, а из актиномицетов—№№ 31, 108, из гиббереллиноподобных веществ—№№ 66, 78, 68, 71, 44, 45, 88, 79 из споровых и неспоровых бактерий, из актиномицетов штаммы—№№ 31, 108.

Среди испытуемых микроорганизмов обнаружены штаммы, которые активно синтезируют не только ауксины, гиббереллины и ингибиторы, но и ряд их производных (рис. 1, 2, 3, 4 и табл. 1, 2).

Согласно данным табл. 1, микроорганизмы способны синтезировать как одинаковые, так и разные по своим физико-химическим и биологическим особенностям индольные производные. Так, например, индолил-3-уксусную кислоту синтезировали штаммы №№ 78 и 66. Штамм

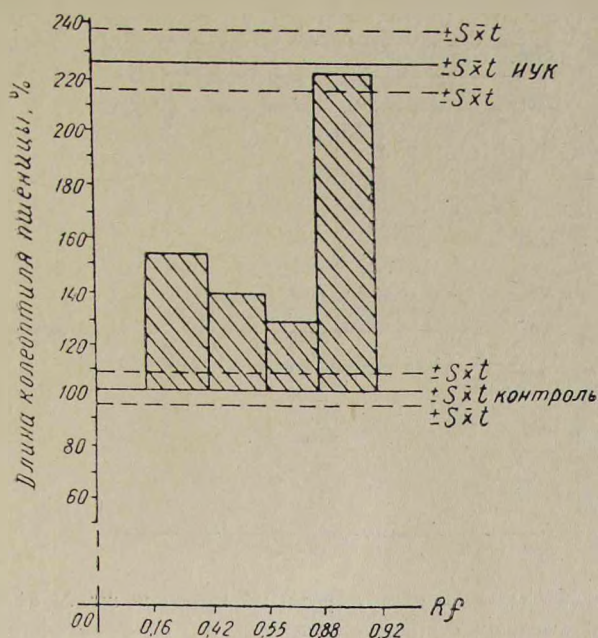


Рис. 1. Влияние элюатов из культуральной жидкости шт. № 78 на длину coleoptилей пшеницы, взятых из различных зон хроматографической бумаги. (Гистограмма).

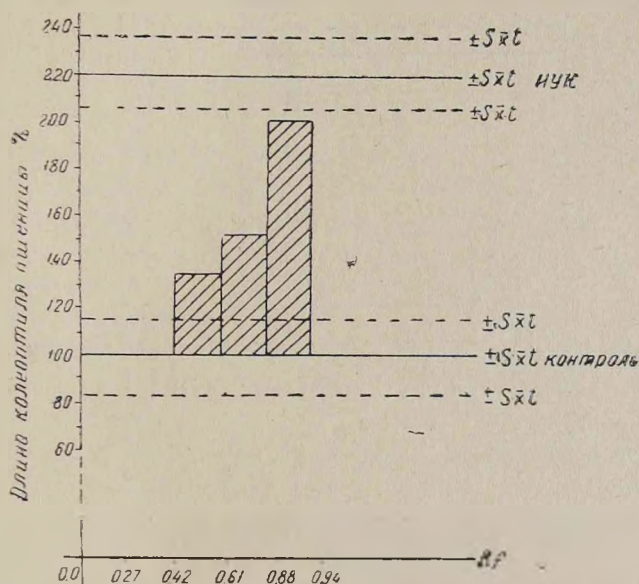


Рис. 2. Влияние элюатов из культуральной жидкости шт. № 70. на длину coleoptилей пшеницы, взятых из различных зон хроматографической бумаги. (Гистограмма).

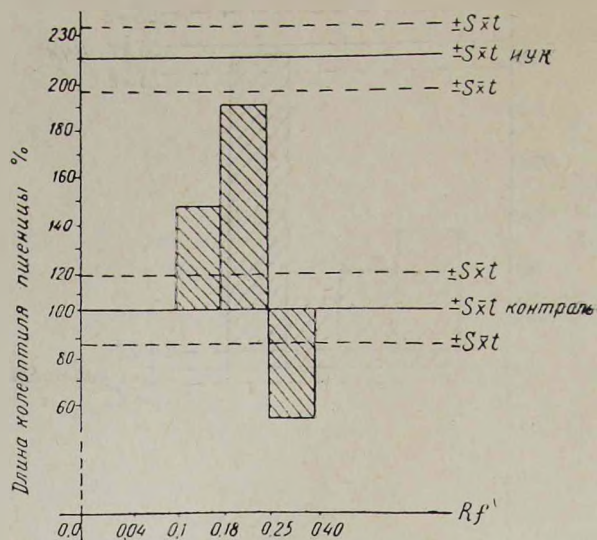


Рис. 3. Влияние элюатов из культуральной жидкости шт. № 84 на длину coleoptилей пшеницы, взятых из различных зон хроматографической бумаги. (Гистограмма).

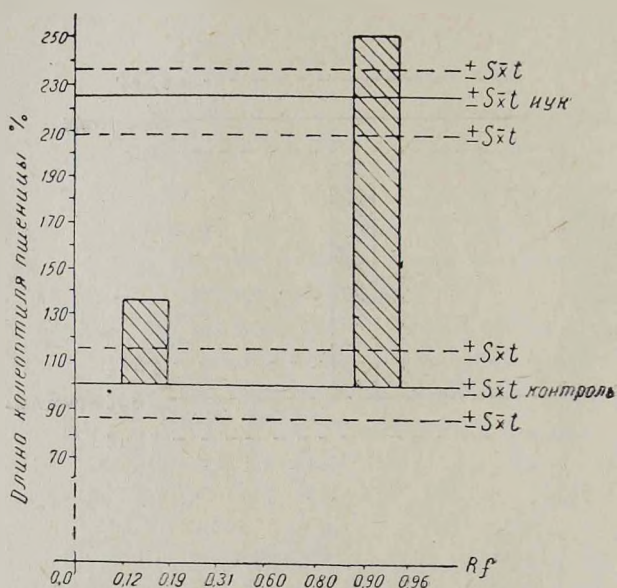


Рис. 4. Влияние элюатов из культуральной жидкости шт. № 66 на длину coleoptилей пшеницы, взятых из различных зон хроматографической бумаги. (Гистограмма).

Таблица 1

Влияние индольных производных, синтезируемых микроорганизмами,
на рост coleoptилей пшеницы

№ штамма	Rf—веществ в раствори- теле Н-бу- танол-уксу- сная кисло- та — вода (45,5:1,5:7)	Синтезируемые вещества	Длина coleoptи- лей в конце опы- та, мм	Прирост coleoptи- тей пшеницы, мм	% прироста по отношению к кон- тролю
Контроль	2%-ный ра- створ саха- розы 0,01%-ный раствор ИУК	—	7,0	2,0	100
	0,71—0,86	—	9,5	4,5	224
78	0,16—0,42 0,42—0,55 0,55—0,88 0,88—0,92	индолил-3-пировиноградная кислота этиловый эфир индолил-ацетамид индолил-3-уксусная к-та	8,3 7,7 7,5 9,4	3,3 2,7 2,5 4,4	150 135 125 220
70	0,42—0,61 0,61—0,88 0,88—94	этиловый эфир индолил-3-масляная к-та индолил-ацетонитрил	7,7 8,0 9,0	2,7 3,0 4,0	135 150 200
66	0,12—0,19 0,90—0,96	индол индолил-3-уксусная к-та	7,7 10,1	2,7 5,1	135 255
84	0,1—0,18 0,18—0,25 0,25—0,40	индол 5-окси-индолил-3-уксусная кислота фториданн	7,9 8,8 6,0	2,9 3,8 1,0	145 190 50
108	0,62—0,89	индолил-3-масляная к-та	8,2	3,1	155
31	0,50—0,87 0,88—0,91	индолил-ацетамид индолил-3-уксусная к-та	8,0 8,6	3,0 3,6	151 180

№ 70 синтезировал этиловый эфир, индолил-3-масляную кислоту и индолилацетонитрил, а штамм № 84—5-оксииндолил-3-уксусную кислоту.

Выяснилось также, что активность разных индольных соединений, синтезируемых микроорганизмами-активаторами, различно отражается на росте coleoptилей пшеницы (табл. 1 и рис. 1, 2, 3, 4). Так, например, под воздействием индолил-3-уксусной кислоты, синтезируемой штаммом № 78, рост coleoptилей пшеницы увеличился от 50 до 94 мм, а при той же кислоте, синтезируемой штаммом № 66, рост coleoptилей пшеницы достиг 101 мм.

Из выявленных нами индольных производных наибольшей активностью обладали индолил-3-уксусная кислота, индолилацетонитрил и 5-оксииндолил-3-уксусная кислота, которые по характеру воздействия на рост coleoptилей пшеницы приравниваются и даже превосходят 0,01%-ный раствор химически чистой индолил-уксусной кислоты (ИУК).

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что микроорганизмы-активаторы способны синтезировать гиббереллиноподобные вещества. Так, на рост и развитие проростков салата и гороха, по сравнению с контролем (вода), большое влияние оказывают как 0,01%-ный раствор

Таблица 2

Влияние гиббереллиноподобных веществ, синтезируемых микроорганизмами ризосферы, на рост проростков салата и гороха

№ штамма		Rf гиббереллиноподобных веществ	Развитие проростков			
			салата		гороха	
			X	$\bar{x}$	X	$\bar{x}$
Контроль	Вода	—	17,0	0,39	34,0	2,09
	0,01%-ный раствор гиббереллина A ₃	0,90	28,6	0,51	57,2	2,03
66		0,18	21,7	0,41	41,0	1,45
		0,70	25,9	0,50	43,7	1,50
		0,90	27,7	0,55	50,8	1,45
78		0,55	19,1	0,48	30,3	2,04
		0,80	22,5	0,41	41,6	1,48
		0,89	26,0	0,44	46,9	1,11
68		0,64	18,8	0,58	40,0	1,72
		0,84	26,5	0,44	49,5	1,47
71		0,72	20,6	0,56	46,4	1,61
		0,90	27,0	0,52	54,1	1,78
44		0,44	18,4	0,50	34,1	2,10
		0,65	17,6	0,55	37,7	1,98
		0,86	26,8	0,52	53,6	1,69
45		0,53	20,4	0,56	40,2	1,71
		0,78	25,3	0,51	49,8	1,44
88		0,25	20,1	0,50	39,3	1,51
		0,70	18,7	0,48	50,9	1,36
		0,85	24,9	0,51	52,5	1,54
79		0,42	18,4	0,60	39,2	1,64
		0,87	26,3	0,58	53,7	1,56
108		0,86	26,0	0,52	51,2	1,53
31		0,57	19,1	0,50	40,6	1,41
		0,89	25,5	0,49	48,4	1,46

химически чистого гиббереллина A₃, так и гиббереллиноподобные вещества, синтезированные микроорганизмами. Эти вещества по своему Rf близки к гиббереллину A₃. Гиббереллиноподобные вещества с более низким Rf оказывают сравнительно слабое влияние на рост и развитие проростков.

Сравнительно высокие показатели синтеза гиббереллиноподобных веществ имеют штаммы микроорганизмов №№ 66, 71, 44, 88 и 79, которые по характеру воздействия сходны с химически чистым гиббереллином A₃.

Из приведенных данных следует, что микроорганизмы ризосферы различных растений в процессе своей жизнедеятельности способны синтезировать как одинаковые, так и разные по физико-химическим и био-

логическим особенностям индольные и гиббереллиноподобные производные.

Среди испытуемых микроорганизмов ризосферы обнаружены штаммы, которые активно синтезируют кроме ауксинов, гиббереллинов и ингибиторов их производные.

Различные индольные и гиббереллиноподобные соединения, синтезируемые микроорганизмами, проявляют различную биологическую активность.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 22.V 1978 г.

**ՏԱՐԲԵՐ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՌԻԶՈՍՖԵՐԱՅԻՆ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ
ԿՈՂՄԻՑ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՊԵՍ ԱՎՏԻՎ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ՄԻՆԹԵԶԸ ԵՎ ՆՐԱՆՑ
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԱՃՄԱՆ ԵՎ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ՎՐԱ**

Ռ. Ե. ԽԱՉԻԿՅԱՆ, Զ. Գ. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ

Ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ բույսերի ռիզոսֆերային միկրոօրգանիզմները, իրենց կենսագործունեության ընթացքում, սինթեզում են ոչ միայն մեկ, այլև մի շարք աուկսինանման, գիբերելինանման և արգելակիչ նյութերի միացություններ:

Հետազոտվող ռիզոսֆերային միկրոօրգանիզմներից № 44, 66, 71, 79, 88 շտամները հանդես են բերել գիբերելինանման նյութերի համեմատաբար ավելի բարձր սինթեզման ունակություն, որոնք իրենց ազդման բնույթով նմանվում են քիմիապես մաքուր գիբերելին Ա₃-ին:

Պարզվել է, որ տարբեր բույսերի ռիզոսֆերային միկրոօրգանիզմներն ընդունակ են սինթեզելու ինչպես միանման, այնպես էլ տարբեր ֆիզիկաքիմիական և կենսաբանական հատկանիշներով օժտված ինդոլային և գիբերելինային նյութերի ածանցյալներ, որոնք ունեն տարբեր կենսաբանական ակտիվություն:

**ON THE SYNTHESIS OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE
SUBSTANCES BY MICROORGANISMS IN RHIZOSPHERE OF
VARIOUS PLANTS AND THEIR EFFECT ON THE PLANT GROWTH**

R. Y. KHACHIKIAN, Z. G. GEVORKIAN

The specificity of biosynthesis by plant rhizosphere microflora of various indole-derivative and gibberellinlike substances during different stages of plant growth has been investigated.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Андреев Е. И., Владимирова О. В. Микробиология, 25, 5, 1962.
2. Галачян Р. М. Изв. АН АрмССР (Биол. науки), 16, 5, 1963.
3. Каладжян Н. Л. Канд. дисс., Ереван, 1970.
4. Красильников Н. А. с сотр. ДАН СССР, 121, 4, 1958.

5. Карапетян О. А., Хачикян Р. Е., Закарян С. Г. Изв. мин. с/х наук АрмССР, 2, 1970.
6. Хачикян Р. Е., Минасян А. И., Карапетян О. А. Биологический журнал Армении, 24, 8, 1971.
7. Ложникова В. Н., Хлопенкова Л. П., Чайлахян М. Х. Агрохимия, 10, 1967.
8. Кефели В. И., Турецкая Р. Х. Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., 1966.
9. Бояркин А. Н. ДАН СССР, 57, 2, 1947.
10. Кефели В. И., Турецкая Р. Х. Физиол. раст., 15, 3, 1968.
11. Boysen-Yensen P. Bioch. Zschr. B. d. 236, 1931.