

## МИКРОБИОЛОГИЯ

М. Х. Чайлахян, чл.-корр. АН Армянской ССР, А. А. Меграбян, Н. А. Карапетян  
и Н. Л. Каладжян

## Ростовые вещества в выделениях клубеньковых бактерий

(Представлено 15/IX 1964)

Выделения микроорганизмов богаты различными физиологически активными соединениями, среди которых значительное место занимают вещества, способствующие росту высших растений. Из них сначала были обнаружены ауксины, которые оказались весьма распространенными метаболитами в самых различных группах микроорганизмов (1-4). В числе их оказались и клубеньковые бактерии, в выделениях которых было установлено наличие веществ, сходных по своему действию с ауксинами (5).

Значительно более ограниченное распространение имеют гиббереллины — вещества, обладающие высокой активностью в стимулировании роста высших растений. Вначале они были выявлены лишь в выделениях фузариевого гриба (*Fusarium moniliformum*), где их содержание оказалось весьма высоким (6-8). Впоследствии, однако, было установлено, что гиббереллины содержатся также и в выделениях другого вида фузариевых грибов (*Fusarium species*), снятого с пораженной виноградной лозы (9), а гиббереллиноподобные вещества были найдены в культуральных жидкостях *Fusarium solani* — гриба, паразитирующего на картофеле, и *Fusarium bulbigenum* — возбудителя корневой гнили тыквенных культур (10, 11). Более того, выяснилось, что гиббереллиноподобные вещества содержатся в выделениях некоторых почвенных бактерий (*Bacillus subtilis* и *Bacillus megaterium*) и бактерий фитопатогенных (*Pseudomonas tumefaciens* и *Xanthomonas beticola*), вызывающих рак плодовых деревьев и туберкулез свеклы (12, 13).

Задачей настоящей работы, являлось изучение ростовой активности выделений различных штаммов клубеньковых бактерий с целью обнаружения в них ауксиноподобных и гиббереллиноподобных веществ.

В разные годы (1960—1963) брались вирулентные и активные штаммы различных видов клубеньковых бактерий и выращивались на бобовом экстракте с 1% сахарозой в течение 6 суток. Эта среда и этот срок инкубации оказались наилучшими для образования максимального количества физиологически активных ростовых веществ, сравнительно с другими пятью испытанными средами (бобовые экстракты с глю-

козой, триптофаном, аспарагином, почвенный экстракт с фосфорнокислым калием и маннитом, среда Люиса) и с другими сроками инкубации (3, 8, 10 и 15 суток).

По истечении шести суток культуральные жидкости пропускались через фильтр Зейтца и фильтраты брались непосредственно на определения в них наличия ауксиноподобных и гиббереллиноподобных веществ.

Определение ауксиноподобных веществ производилось по методу, основанному на учете прироста отрезков колеоптилей пшеницы, помещаемых на сутки в испытуемые фильтраты и в контрольные жидкости, — воду, среду (бобовый экстракт с сахарозой) и 0,01% раствор гетероауксина (<sup>14</sup>). Разница в приросте отрезков колеоптилей (10 отрезков в каждом варианте) являлась показателем наличия или отсутствия в фильтратах ауксиноподобных веществ. В опыте 1963 года определение ауксиноподобных веществ проводилось по методу, согласно которому производился учет интенсивности корнеобразования, — числа и длины корней — на черенках фасоли, находившихся в течение 15 дней на фильтратах, воде, среде и 0,01% растворе гетероауксина. По интенсивности корнеобразования на черенках фасоли (по 10 черенков в каждом варианте) судили о наличии ауксиноподобных веществ (<sup>15</sup>).

Определение гиббереллиноподобных веществ производилось двумя способами: 1) по приросту 35 мм отрезков листочков кукурузы после 4-х дней их пребывания на фильтратах и в контрольных жидкостях, куда они погружались нижними концами (<sup>16</sup>); 2) по приросту проростков карликового гороха Пионер, в течение 4-х дней находившихся на фильтратах и в контрольных жидкостях, с которыми они соприкасались через поверхность наполовину срезанной горошины (<sup>17 18</sup>). В 1963 году о наличии гиббереллиноподобных веществ судили по сравнительному действию экстрактов и контрольных жидкостей на рост растений кукурузы, куда они вводились способом нанесения капель в пазуху верхнего листа (<sup>8</sup>).

В выделениях различных штаммов почти всех испытанных видов клубеньковых бактерий — фасоли, клевера, конских бобов, вики, эспарцета, гороха и нута — были обнаружены ауксиноподобные вещества; исключение здесь составили лишь клубеньковые бактерии люцерны. Результаты определений ауксиноподобных веществ приводятся в табл. 1 и на фиг. 1 и 2.

Табл. 1 показывает, что в самой питательной среде, представляющей собой бобовый экстракт или экстракт из семян фасоли с сахарозой, содержится значительное количество ауксиноподобных веществ. В опыте от 10/IV 1960 года среда обладала такой же листовой активностью, как 0,01-процентный раствор гетероауксина, а в опыте от 3/IV 1962 года активность была даже выше; в других опытах активность среды была ниже активности раствора гетероауксина (на 6—12 мм прироста колеоптилей пшеницы). Поэтому о наличии ауксиноподобных веществ можно говорить только в отношении тех фильтратов, активность которых выше активности среды по крайней мере на 5 мм прироста отрезков колеоптилей.

Более высокую активность, чем активность среды, имели фильтраты всех испытанных штаммов фасоли, клевера, конских бобов, одного штамма (из трех) вики и взятых в опыт отдельных штаммов эспарцета, гороха и нута. Ростовая активность многих фильтратов была выше активности 0,01-процентного раствора гетероауксина. Некоторые фильтраты обнаружили особенно высокую ростовую активность: фильтраты клубенько-

Таблица 1

Содержание ауксиноподобных веществ в выделениях клубеньковых бактерий  
(в м.м прироста coleoptилей пшеницы)

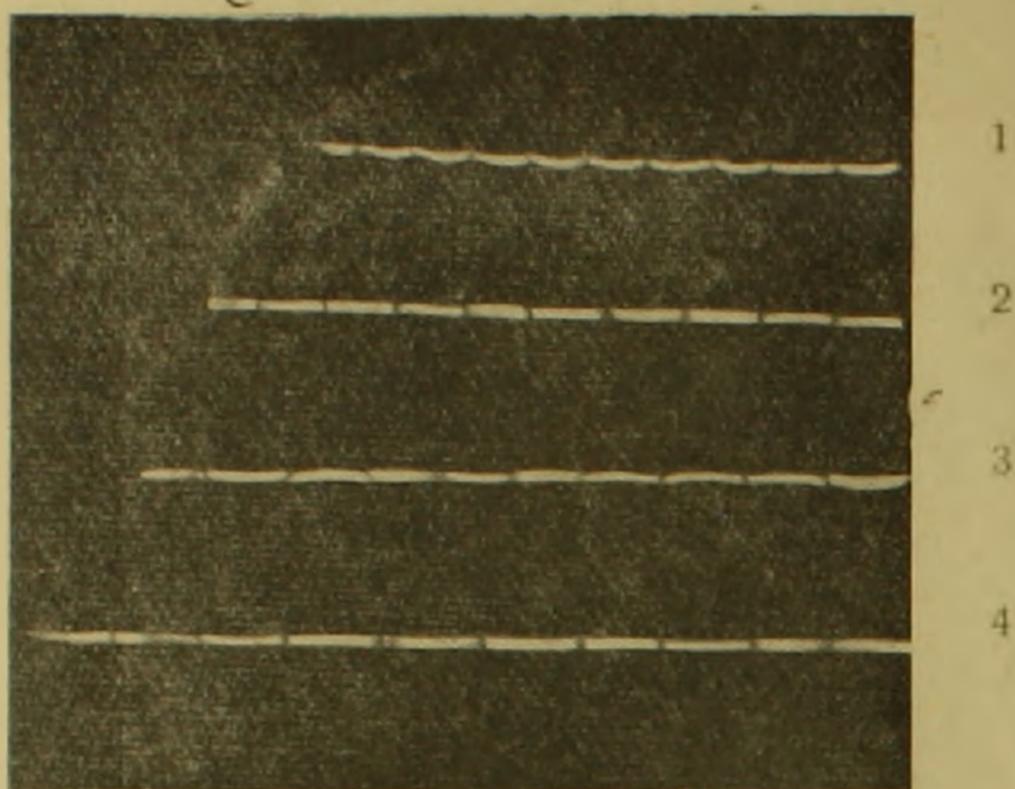
Фильтраты культуральных жидкостей клубеньковых бактерий	Д а т ы о п ы т о в								
	1960 г.			1961 г.		1962 г.			
	23.III	5.IV	10.IV	21.XII	28.XII	23.II	15.III	22.III	3.IV
Контроль, вода . . . . .	92	84	85	80	85	80	80	80	83
"  среда . . . . .	92	95	110	103	102	98	113	112	121
"  0,01% гете- роауксин . . . . .	102	105	110	—	110	102	—	118	105
Фасоль СХИ . . . . .	112	—	—	—	—	—	—	—	—
"  87 . . . . .	—	—	—	101	115	105	120	119	135
"  3 . . . . .	100	—	—	—	—	—	—	—	—
"  674 . . . . .	108	—	—	—	—	—	—	—	—
"  677 . . . . .	112	—	—	—	—	—	—	—	—
Клевер 79 . . . . .	—	96	—	—	103	107	116	125	124
"  301 . . . . .	—	110	—	—	—	—	—	—	—
"  321 . . . . .	—	105	—	103	—	103	135	120	113
Конские бобы 1 . . . . .	—	103	126	—	—	100	120	115	112
"  БС . . . . .	—	—	116	—	—	—	—	—	—
Вика 112 . . . . .	—	—	112	—	—	—	—	—	—
"  134 . . . . .	—	—	99	—	—	—	—	—	—
"  142 . . . . .	—	—	99	—	110	105	115	108	125
Эспарцет 822 . . . . .	—	—	—	117	—	100	116	115	123
Горох 1 . . . . .	—	—	—	120	—	105	117	123	130
Нут 522 . . . . .	—	—	—	—	130	102	106	117	102
Люцерна 1 . . . . .	—	—	—	97	—	100	113	113	115

вых бактерий фасоли (шт. 87 в опыте 3/IV 1962 года), конских бобов (шт. 1 в опыте 10/IV 1960 года), нута (шт. 522 в опыте 28/XII 1961 года) и гороха (шт. 1 в опыте 3/IV 1962 года) по отношению к активности 0,01-процентного раствора гетероауксина показали активность (в м.м прироста coleoptилей овса) соответственно 135 к 105, 126 к 110, 130 к 110 и 130 к 105 (фиг. 1).

В опыте, проведенном в 1963 году, ростовая активность фильтратов культуральных жидкостей клубеньковых бактерий фасоли (шт. 87), конских бобов, гороха (шт. 3) и клевера (шт. 321) испытывалась по интенсивности корнеобразования у черенков фасоли. Во всех случаях она была выше, чем у контрольных жидкостей (вода, бобовый экстракт), и была близка к активности 0,01% раствора гетероауксина (фиг. 2).

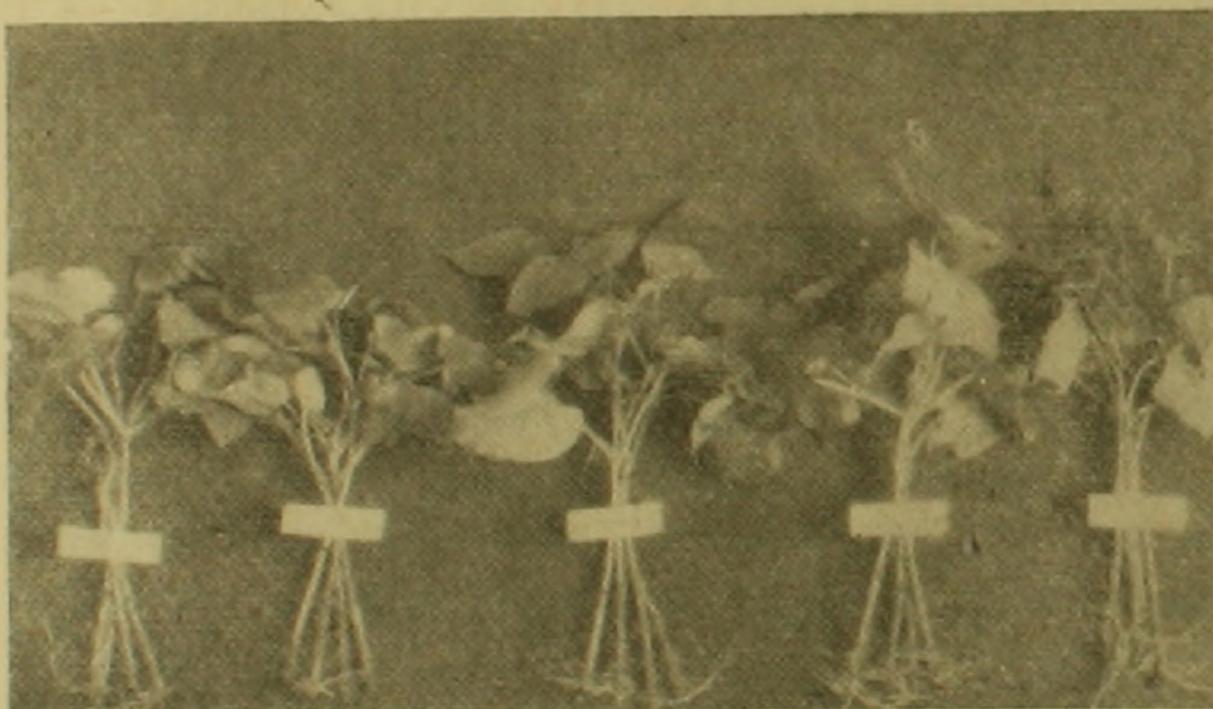
Приведенные данные показывают, что в выделениях клубеньковых бактерий почти всех видов обнаруживаются ауксиноподобные вещества, и подтверждают ранее полученные данные об их наличии среди метаболитов, выделяемых клубеньковыми бактериями.

Гиббереллиноподобные вещества были обнаружены в выделениях лишь у отдельных штаммов клубеньковых бактерий. Результаты определений гиббереллиноподобных веществ приводятся в табл. 2 и на фиг. 3 и 4.



Фиг. 1. Влияние фильтрата культуральной жидкости клубеньковых бактерий гороха (шт. 1) на рост огрезков coleoptилей пшеницы (фото 22/III 1962).

1—вода; 2—среда; 3—гетероауксин 0,01‰;  
4—фильтрат культуральной жидкости клубеньковых бактерий гороха 1.



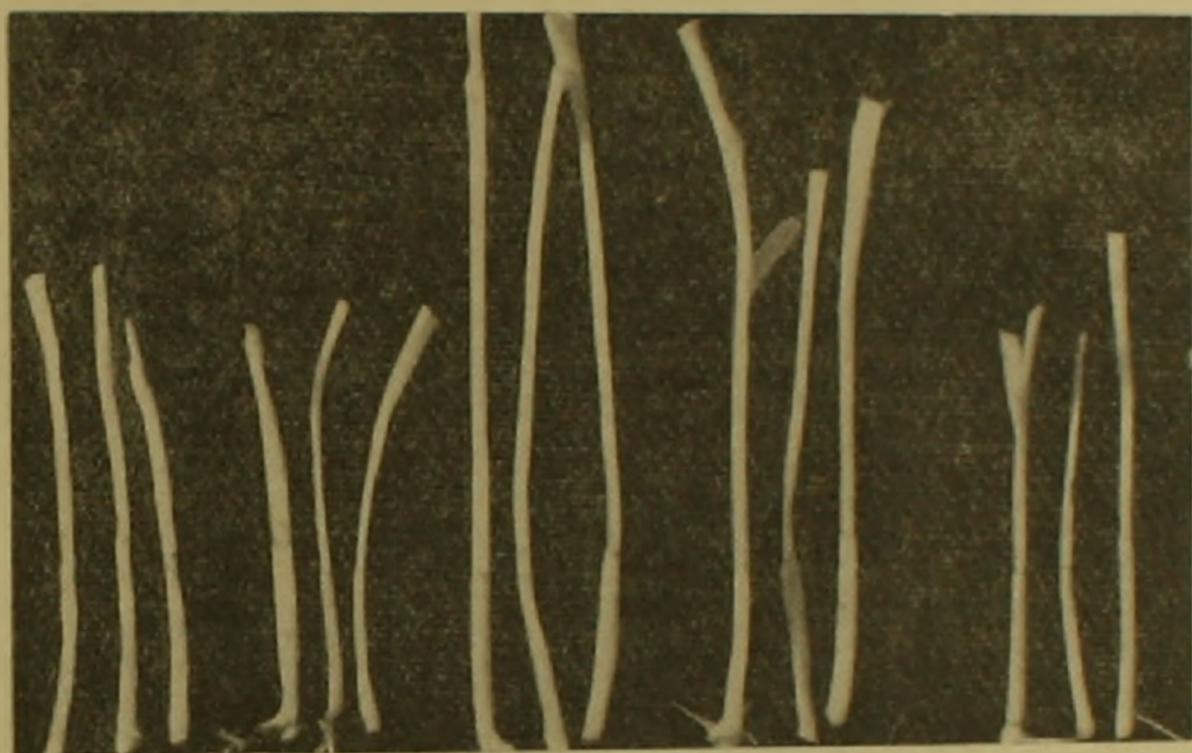
Фиг. 2. Влияние фильтратов культуральных жидкостей клубеньковых бактерий фасоли и гороха на корнеобразование черенков фасоли.

Слева направо: 1—контроль (вода); 2—среда (бобовый экстракт с сахарозой); 3—0,01‰ раствор гетероауксина; 4—фильтрат клубеньковых бактерий фасоли (шт. 87); 5—фильтрат клубеньковых бактерий гороха (шт. 1). (Фото 23/VIII 1963).

Из данных табл. 2 видно, что в питательной среде (экстракт семян фасоли с сахарозой) гиббереллиноподобных веществ нет, так как актив-

ность питательной среды не отличается от воды (колебания не превышают 5 мм прироста листочков кукурузы или проростков гороха). Вместе с тем активность 0,005-процентного раствора гиббереллина весьма высока причем к концу опыта разница в приросте между водным и гиббереллиновым контролями у листочков кукурузы равняется 15—30 мм, тогда как у проростков гороха она достигает 60—95 мм. Это свидетельствует о том, что проростки гороха значительно более чувствительны к действию гиббереллина, чем отрезки листочков кукурузы. В связи с этим при испытании фильтратов на гиббереллиновую активность принимались во внимание различия в приросте листочков кукурузы не менее 5 мм, в приросте проростков гороха не менее 9—10 мм.

Из всех испытанных фильтратов культуральных жидкостей клубеньковых бактерий клевера, люцерны, гороха, вики, конских бобов, фасоли, эспарцета и нута по методу прироста листочков кукурузы гиббереллиновая активность была обнаружена только у пяти штаммов: клевера (шт. Сочи), гороха (шт. 1,3 и ИНМИ) и люцерны (шт. 32; фиг. 3).



1 2 3 4 5

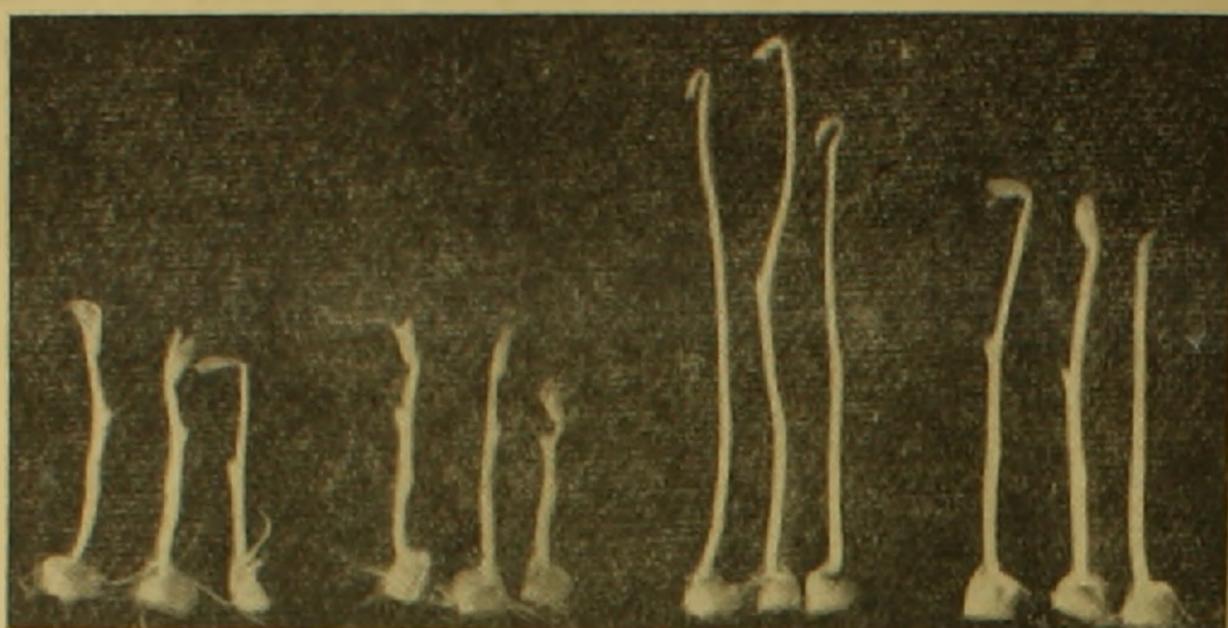
Фиг. 3. Рост отрезков листочков кукурузы под влиянием фильтратов культуральных жидкостей клубеньковых бактерий люцерны (шт. 32 и шт. 1). (Фото 25/IV 1961).

1—вода; 2—среда; 3—гиббереллин 0,005%; 4—фильтрат культуральной жидкости клубеньковых бактерий люцерны 32; 5—фильтрат культуральной жидкости клубеньковых бактерий люцерны 1.

При испытании влияния фильтратов на прирост проростков гороха выявилась гиббереллиновая активность у пяти других штаммов: клевера (шт. 321), люцерны (шт. 1), вики (шт. 142), нута (шт. 522) и конских бобов (шт. 1; фиг. 4).

У всех этих штаммов, однако, гиббереллиновая активность фильтратов была низкая и очень сильно отличалась от активности 0,005% раствора гиббереллина. Лишь у фильтрата культуральной жидкости клубеньковых бактерий конских бобов (шт. 1) активность была достаточно высокой — в мм прироста проростков гороха она равнялась 80 мм при контролях: водном — 45 мм и гиббереллиновом — 120 мм.

В вегетационном опыте 1963 года действие фильтратов культуральных жидкостей наиболее активных штаммов клубеньковых бактерий: клевера (шт. 321), гороха (шт. 3) и конских бобов (шт. 1), а также фа-



Фиг. 4. Рост проростков гороха под влиянием фильтрата культуральной жидкости клубеньковых бактерий конских бобов (шт. 1). (Фото 15/V 1961).

1—вода; 2—среда; 3—гиббереллин 0,005‰; 4—фильтрат культуральной жидкости клубеньковых бактерий конских бобов.

Таблица 2

Содержание гиббереллиноподобных веществ в выделениях клубеньковых бактерий (в мм прироста листочков кукурузы и проростков гороха)

Фильтраты культуральных жидкостей клубеньковых бактерий	В мм прироста листочков кукурузы			В мм прироста проростков гороха			
	1961 г.			1961 г.		1962 г.	
	29/III	25/IV	15/V	5/IV	15/V	15/V	7/III
Контроль, вода . . . . .	79	85	86	54	45	57	49
"  среда . . . . .	76	80	82	50	45	56	53
"  0,005‰ раст- вор гиббереллина . . . . .	107	99	106	130	120	120	145
Клевер 79 . . . . .	—	—	84	48	41	43	59
"  301 . . . . .	—	—	85	60	46	—	—
"  321 . . . . .	—	—	85	43	50	48	63
"  Сочи . . . . .	—	—	95	—	48	—	—
Люцерна 1 . . . . .	—	85	—	—	47	66	62
"  3? . . . . .	—	92	85	—	45	—	—
"  407 . . . . .	—	84	84	—	42	—	—
"  441 . . . . .	—	84	86	—	45	—	—
Горох 1 . . . . .	85	—	89	—	—	—	—
"  3 . . . . .	86	—	87	—	—	—	—
"  248 . . . . .	83	—	79	—	—	—	—
"  ИНМИ . . . . .	87	—	88	—	—	—	—
Вика 112 . . . . .	—	—	90	—	36	—	—
"  134 . . . . .	—	—	84	—	45	—	—
"  142 . . . . .	—	—	84	—	36	59	64
Конские бобы 1 . . . . .	—	—	90	46	80	50	—
"  БС . . . . .	—	—	82	—	43	—	—
Фасоль 1 . . . . .	—	—	79	—	51	—	—
"  677 . . . . .	—	—	84	—	46	—	—
Эспарцет 816 . . . . .	—	—	81	—	48	—	—
"  822 . . . . .	—	—	78	—	51	57	60
Нут 522 . . . . .	—	—	83	—	—	—	65

соли (шт. 87) испытывалось на растениях кукурузы. Растения кукурузы выращивались в сосудах на песке, содержащем питательную смесь Прянишникова, и по сформировании достаточно хорошо развитых первых листьев подвергались обработке: в основание верхнего листа ежедневно вводилась капля одного из испытуемых фильтратов, 0,005% гиббереллина, среды (бобового экстракта с сахарозой) и воды. Учет состояния опытных и контрольных растений показал, что под влиянием всех испытуемых фильтратов усилился рост и увеличился вес растений. По росту и развитию вегетативных органов опытные растения были похожи на растения, обработанные гиббереллином, и отличались от контрольных растений (фиг. 5).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что гиббереллиноподобные вещества имеются в выделениях лишь у отдельных штаммов клубеньковых бактерий и притом в весьма небольших количествах.

Подытоживая полученные данные по выявлению ростовых веществ в целом, можно прийти к общему выводу о том, что выделения клубеньковых бактерий богаты ауксиноподобными и бедны гиббереллиноподобными веществами.

Такое соотношение ростовых веществ в выделениях клубеньковых бактерий становится понятным в свете тех данных, которые ранее были получены нами<sup>(19)</sup> и подтверждены в работе индийских физиологов<sup>(20)</sup>, — при искусственном введении ауксинов, в частности гетероауксина, образование клубеньков на корнях бобовых растений усиливается; введение же гиббереллинов приводит к задержке образования клубеньков.

Ростовые вещества, как и другие физиологически активные соединения, встречающиеся в выделениях микроорганизмов, за последнее время привлекают все большее внимание и их дальнейшее выявление и изучение должно идти по пути очистки фильтратов культуральных жидкостей, хроматографирования экстрактов и биологической и химической идентификации веществ.

Институт микробиологии  
Академии наук Армянской ССР



1 2 3 4

Фиг. 5. Влияние фильтрата культуральной жидкости клубеньковых бактерий конских бобов на рост растений кукурузы.

Слева направо: 1—контроль (вода); 2—среда (бобовый экстракт с сахарозой); 3—0,005% раствор гиббереллина; 4—фильтрат клубеньковых бактерий конских бобов (шт. 1).

(Фото 25/VII 1963).

## Աճման նյութերի առկայությունը պալարաբակտերիաների առադրանքներում

Հեղինակները ուսումնասիրել են ֆիլտրատների աճմանը նպաստող նյութերի ակտիվությունը, որոնք պարունակվում են պալարաբակտերիաների տարրեր շտամների արտադրանքներում, նրանցում աուքսինանման և գիրերելինանման նյութեր հայտնաբերելու նպատակով:

Աուքսինանման նյութերի որոշումը կատարվել է ֆիլտրատների և կոնտրոլ հեղուկների վրա ցորենի կոլեսպտիլների կտրվածքների աճման և լորու կտրոնների արմատակալման ինտենսիվության հաշվառման միջոցով:

Գիրերելինանման նյութերի որոշումը կատարվել է եգիպտացորենի տերևների կտրվածքների և գաճաճ ոլոռ պիոնների ծիլերի աճման հաշվառմամբ:

Որոշումները ցույց են տվել, որ պալարաբակտերիաների արտադրանքները հարուստ են աուքսինանման նյութերով և ազդատ են գիրերելինանման նյութերից:

Աճման նյութերի այդպիսի հարաբերակցությունը պալարաբակտերիաների արտադրանքներում ըստ Լրենույթին կապված է այն բանի հետ, որ աուքսինների ազդեցության տակ թիթեոնաժաղկավոր բույսերի արմատների վրա պալարիկների առաջացումը խթանվում է, իսկ գիրերելինների ազդեցության տակ՝ կասեցվում:

## ЛИТЕРАТУРА -- ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> П. Бойсен-Менсен, Boysen-lensen P. Biochem. Zeitschr. Bd. 236, s. 205 (1931).  
<sup>2</sup> Е. А. Разницына, ДАН СССР, т. 18, № 6, стр. 253—256 (1938). <sup>3</sup> И. Робертс и Е. Робертс, Roberts I. and Roberts E. Soil Sci. v. 48, p. 135 (1939). <sup>4</sup> В. Т. Смалый и С. И. Берщова, „Микробиология“, т. 25, в. 5, стр. 526—532 (1957). <sup>5</sup> Н. А. Красильников, Микроорганизмы почвы и высшие растения, Изд. АН СССР, 1958. <sup>6</sup> Т. Ябута и Ю. И. Сумики, Yabuta T. and Sumiki Y. I. Agric. Chem. Soc. Japan, v. 14, p. 1526 (1938). <sup>7</sup> Т. Ябута, Т. Хаяши, Yabuta T. and Hayashi T. Agric. Chem. Soc. Japan, v. 15, pp. 257—266 (1939). <sup>8</sup> М. Х. Чайлахян, „Ботанический журнал“, т. 43, № 7, стр. 927—952, 1958. <sup>9</sup> Н. А. Красильников, М. Х. Чайлахян, Г. К. Скрыбин, Ю. М. Хохлова, И. В. Улезло и Т. Н. Константинова, ДАН СССР, т. 121, № 4, стр. 755—758, 1958. <sup>10</sup> С. Хирата, Hirata S. Bull. Fac. Agric. Univ. Miyazaki, 3, p. 46 (1958). <sup>11</sup> С. А. Авакян, „Известия АН АрмССР“, биол. науки, т. 15, № 4, стр. 37—48 (1962). <sup>12</sup> А. К. Паносян, З. В. Маршавина и Р. Ш. Арутюнян, Тез. докл. сов. роли микроорг. и прод. жизнед. в пит. раст. Изд. АН СССР, стр. 36—37, 1959. <sup>13</sup> Р. М. Галачян, „Известия АН АрмССР“, биол. науки, т. 15, № 1, стр. 15—24 (1962). <sup>14</sup> А. Бояркин, ДАН СССР, т. 57, № 2, стр. 197—200 (1957); т. 59, № 9, стр. 1951—1952 (1958). <sup>15</sup> Р. Х. Турецкая, ДАН СССР, т. 57, № 3, стр. 295—297, (1947). <sup>16</sup> А. Н. Бояркин и М. И. Дмитриева, Физиология растений, т. 6, в. 6, стр. 741—743 (1959). <sup>17</sup> Р. В. Брайен и Г. Х. Лемминг, Brian P. W. and Hemming G. H., Physiol. plantarum, v. 8, pp. 669—681 (1955). <sup>18</sup> Г. С. Муромцев и Л. А. Пеньков, Гиббереллины, Сельхозиздат, 1962. <sup>19</sup> М. Х. Чайлахян, А. А. Меграбян, Н. А. Карапетян и Н. Л. Каладжян, „Известия АН АрмССР“, биол. науки, т. 14, в. 12, стр. 25—38 (1961). <sup>20</sup> К. Кумар и С. Д. Дубе, K. Kumar and S. D. Dube, J. Scient. Res. Benaras Hindu Univ., v. 13, № 1, pp. 20.—211 (1962).