

УДК 576.8.06:581.192.7

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Н. Л. Каладжян, член-корреспондент АН Армянской ССР М. Х. Чайлахян

О физиологически активных веществах, выделяемых клубеньковыми бактериями

(Представлено 26/XII 1967)

Микроорганизмы играют большую роль в деле повышения плодородия почвы, так как в течение своей жизнедеятельности продуцируют многочисленные и различные вещества, влияющие на протекание определенных физиологических процессов у высших растений. Изучение физиологически активных веществ, продуцируемых микроорганизмами, позволяет с новой точки зрения приблизиться к изучению проблемы взаимоотношения между микроорганизмами и высшими растениями.

Среди физиологически активных веществ большой интерес представляют гиббереллины и ауксины. Из них в метаболитах микроорганизмов впервые были обнаружены ауксины, которые явились довольно широко распространенными метаболитами для разных групп микроорганизмов (1-4 и др.). Сравнительно меньше распространены в метаболитах различных микроорганизмов гиббереллины.

В работе, проведенной нами (5), было показано, что в культуральных жидкостях клубеньковых бактерий, помимо ауксинов (2, 4, 6), имеются гиббереллиноподобные вещества или природные гиббереллины. При этом ауксины определялись по методу прироста колеоптилей пшеницы (7) и по интенсивности корнеобразования черенков фасоли (8), а гиббереллины по методам прироста отрезков листьев кукурузы и проростков карликового гороха сорта „Пионер“ (9, 10). Таким образом были отобраны 10 штаммов клубеньковых бактерий, в культуральных жидкостях которых были найдены вещества, обладающие ауксиновой и гиббереллиновой активностью.

В настоящей работе было продолжено изучение этих веществ с помощью хроматографического анализа, дающего возможность ближе подойти к их идентификации.

Свежие 3-4 дневные культуры клубеньковых бактерий 10 исследованных ранее штаммов выращивались в средах бобового экстракта с 1% сахарозой и 0,001% триптофаном в течение шести

суток, а затем эти среды подвергались хроматографическому разделению на бумаге. Растворители в хроматографических камерах были взяты щелочные, для гиббереллинов: изопропил спирт—вода (35:14), для ауксинов: бутиловый спирт—аммиак—вода (41,5:1,5:7). Хроматография производилась для гиббереллинов на хроматографической бумаге „Ленинградская средняя“, а для ауксинов на хроматографической бумаге „Ленинградская медленная“ № 2.

Для обнаружения ауксинов полосы хроматографической бумаги обрабатывались раствором Сальковского. После обработки на ультрафиолетовом свете проявлялись пятна в зонах с Rf 0,05, 0,10 и 0,95. Полосы хроматографической бумаги по расстоянию между стартом и фронтом разделяли на 7 зон, элюировали эти зоны 2-процентными растворами сахарозы и в них определялось содержание ауксинов по методу прироста колеоптилей пшеницы сорта „Арташати-42“. Полученные данные приводятся в табл. 1.

Таблица 1

Содержание природных ауксинов в культуральных жидкостях клубеньковых бактерий

Штаммы	Длина колеоптилей пшеницы в м.м по зонам с Rf						
	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

1-ый опыт

Контроль, сахароза	108	—	—	—	—	—	—
Бета-индолилуксусная кислота	—	—	—	133	—	—	—
Конские бобы 141	98	92	106	96	110	110	97
Конские бобы 142	105	89	105	121	105	109	97
Клевер 91	75	77	95	115	110	97	79
Клевер 93	95	91	100	102	98	112	93
Фасоль 11	98	99	105	118	100	95	105
Люцерна 43	90	92	86	86	102	92	81
Люцерна 1	82	80	101	100	100	90	85

2-ой опыт

Контроль, сахароза	74	—	—	—	—	—	—
Бета-индолилуксусная кислота	—	—	—	121	—	—	—
Вика 118	91	85	84	104	83	87	73
Горох 71	89	89	84	93	74	84	73
Горох 69	82	84	69	94	83	82	60

Данные табл. 1 показывают, что в культуральных жидкостях некоторых штаммов: конские бобы 142, клевер 91, фасоль 11, вика 118, горох 69 и горох 71 имеется гетероауксин или бета-индолилуксусная кислота, поскольку именно в зоне с Rf 0,42—0,56, которая совпадает с Rf метчика бета-индолилуксусной кислоты, у этих штаммов получают существенные приросты сравнительно с контролем—чистым раствором сахарозы. Так, при контрольном приросте колеоптилей 108 м.м у этих штаммов на Rf 0,42—0,56 получают прирост

121, 115, 118 м.м, при приросте в контроле 74 получают 104, 94, 93 м.м. В зонах с другими Rf по большей части наблюдается задержка прироста coleoptилей пшеницы, что указывает на наличие в элюатах ингибиторов роста. Исключение составляет культуральная жидкость штамма вика 118, во всех элюатах которой выявляются вещества, стимулирующие рост coleoptилей.

В культуральных жидкостях остальных штаммов: клевер 93, люцерна 1, люцерна 43, бета-индолилуксусная кислота не обнаруживалась и в элюатах всех зон преобладают ингибиторы. На рис. 1 приводятся гистограммы для культуральных жидкостей штаммов: Конские бобы 142, фасоль 11, клевер 91, вика 118 и клевер 93, указывающую на наличие бета-индолилуксусной кислоты и ингибиторов в зонах с разным Rf.

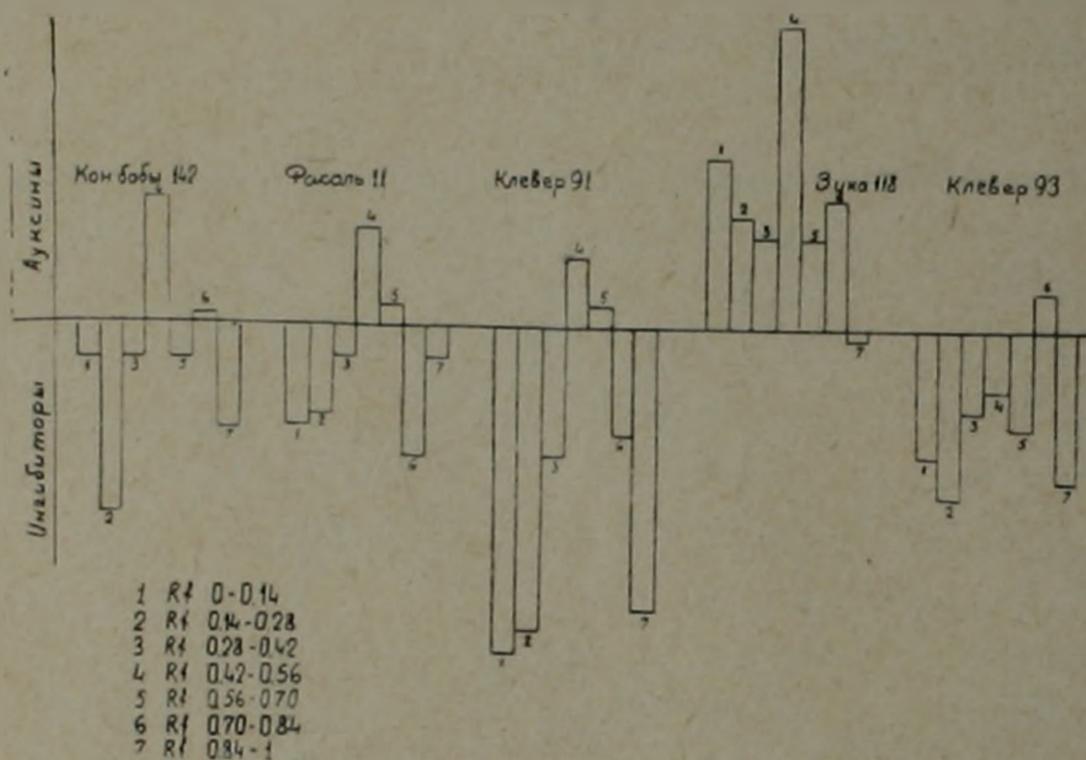


Рис. 1. Гистограммы содержания ауксинов и ингибиторов в культуральных жидкостях клубеньковых бактерий. Гистограммы составлены по приросту coleoptилей пшеницы на элюатах из семи зон хроматограмм. Четвертая зона с Rf 0,42—0,56 соответствует зоне расположения гетероауксина или бета-индолилуксусной кислоты.

Для выявления гиббереллинов полосы хроматографической бумаги обрабатывались 5-процентной H_2SO_4 и на ультрафиолетовом (УФ) свете ясно обнаруживались пятна, их положение и окрашивание в поле хроматограммы. Выяснилось, что из испытуемых 10 штаммов у девяти на хроматографических бумагах на ультрафиолетовом свете видны 4 пятна в зонах с Rf 0,5—0,62, 0,61—0,68, 0,7—0,84, 0,89—0,96, а у штамма вика 118 еще одно пятно с Rf 0,98. Из них наилучшее окрашивание (ярко зеленое) дают пятно с Rf 0,61—0,68 и 0,89—0,96. Пятна на зонах с Rf 0,61—0,68 по своему положению и характеру совпадают с Rf в зоне метчика-гиббереллина A_2 , а пятна в зоне с 0,89—0,96 совпадают с зоной метчика-гиббереллина A_1 .

Зоны хроматограмм, начиная с Rf 0,5—0,6, элюировали и элюаты испытывались по методу прироста карликового гороха (10). В этом методе сделаны некоторые изменения: во-первых, был взят другой

сорт карликового гороха „Сквирский Де Грасс“, во-вторых, семена гороха помещались не в элюат, а в 8-процентный водный агар, с которым смешивался элюат, что предохраняет семена от гниения и обеспечивает нормальный рост проростков гороха. Полученные данные приводятся в табл. 2.

Таблица 2

Содержание природных гиббереллинов в культуральных жидкостях клубеньковых бактерий

Штаммы	Длина проростков гороха в мм по зонам				
	0,5—0,62	0,61—0,68	0,7—0,84	0,89—0,96	0,98—1
Контроль, вода	41				
Гиббереллин А ₃ 0,01%	—	—	—	88	—
Клевер 93	46	56	48	60,5	—
Конские бобы 141	49	56,5	53	62	—
Горох 69	53	60	51,5	59	—
Фасоль 11	54	56	52,5	61	—
Клевер 91	61,5	66	60	62,5	—
Люцерна 43	—	55	52	56	—
Люцерна 1	51	59	60	66	—
Горох 71	—	54	55	61	—
Конские бобы 142	51	59	58	68	—
Вика 118	58	65	59	60	59

Данные табл. 2 показывают, что элюаты всех испытываемых штаммов из всех зон, в которых на ультрафиолетовом свете проявлялись пятна, обладают гиббереллиновой активностью, но наивысшая стимуляция роста проростков гороха была получена в случае элюатов из

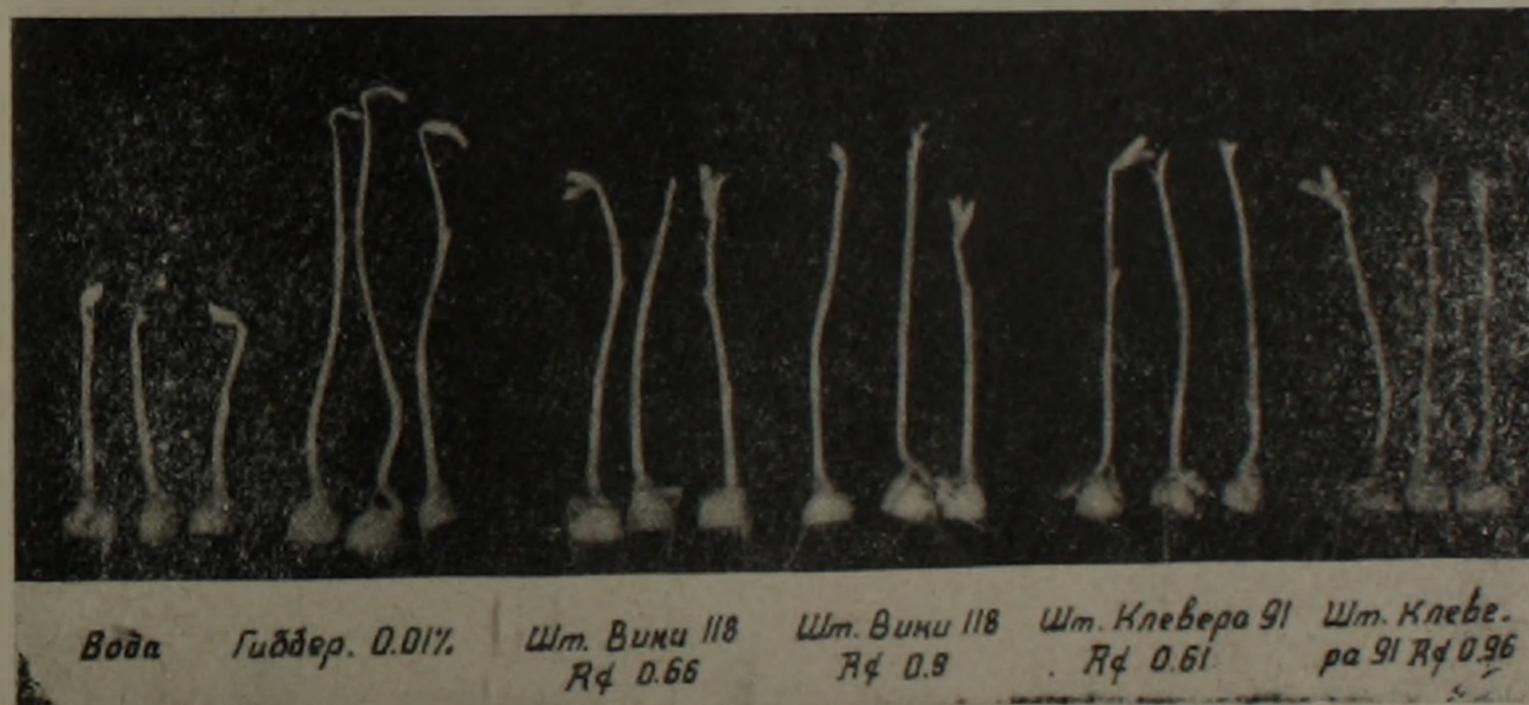


Рис. 2. Рост проростков гороха на элюатах из зон хроматограмм с Rf 0,61, 0,66, 0,90 и 0,96, полученных из культуральных жидкостей клубеньковых бактерий штаммов вика 118 и клевер 91.

зон с Rf 0,61—0,68 совпадавшая с гиббереллином А₂ и 0,89—0,96 совпадавшая с гиббереллином А₃. Это видно также на рис 2, где приводятся результаты опытов по влиянию различных элюатов на прирост проростков гороха.

Պալարարակտերիանների կողմից արտադրվող ֆիզիոլոգիապես ակտիվ նյութերի մասին

Փորձարկման են ենթարկվել պալարարակտերիանների՝ բակլայի, ոլոռի, լոբու, ապուլտի, Լրեքնուկի և վիկայի 10 շտամներ, նրանցում ֆիզիոլոգիապես ակտիվ նյութերի- գիրերեկինները և աուքսինների հայտնաբերման նպատակով: Ֆիզիոլոգիապես ակտիվ այդ նյութերի հայտնաբերումը կատարվել է թղթյա քրոմատոգրաֆիայի միջոցով:

Աուքսինների հայտնաբերման համար քրոմատոգրաֆիական թուղթը բաժանվել է 7 հավասար զոնաների և նրանցից ստացված էլյուատների վրա դրվել է բիոպրոբա ըստ ցորենի կոլեոպտիլների աճման մեթոդի:

Գիրերեկինների հայտնաբերման համար քրոմատոգրաֆիական թղթի վրա ուլտրամանիշակագույն ճառագայթների տակ երևացող բծերի համապատասխան զոնաներից պատրաստվել են էլյուատներ և բիոպրոբա դրվել ըստ ոլոռի ծիլերի աճման մեթոդի:

Աշխատանքից պարզվել է, որ 1. Բակլայի, ոլոռի, լոբու, Լրեքնուկի և վիկայի պալարարակտերիանների որոշ շտամներ արտադրում են գետերոաուքսին կամ բետա-ինդոլիլքացախաթթու: 2. Պալարարակտերիանների փորձարկված բոլոր 10 շտամներն էլ իրենց արտաթորանքներում պարունակում են գիրերեկին:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- 1 *Е. Ф. Березова, А. Н. Наумова, Е. А. Разницына*, ДАН СССР, т. 18, № 6, стр. 357—362 (1938).
- 2 *Н. А. Красильников*, Микроорганизмы почвы и высшие растения, Изд. АН СССР, 1956.
- 3 *Е. А. Разницына* ДАН СССР, т. 18, № 6, стр. 353 (1938).
- 4 *Н. К. Chen* Nature, 142, 753—754 (1938).
- 5 *М. Х. Чайлахян, А. А. Меграбян, Н. А. Карапетян и Н. Л. Каладжян*, ДАН Арм ССР, т. XV, № 5, стр. 307—314 (1965).
- 6 *С. Е. Georgi, А. Е. Beguin*, Nature Lond, 143, 25 (1938).
- 7 *А. Н. Бояркин*, ДАН СССР, 59, № 9, 1651—1652 (1948).
- 8 *Р. Х. Турецкая*, ДАН СССР, 57, № 3, 295—298 (1947).
- 9 *А. Н. Бояркин и М. И. Дмитриева*, Физиология растений 6, вып. 6, 741—747, 1959.
- 10 *В. Н. Ложникова, Л. П. Хлопенкова и М. Х. Чайлахян*, «Агрехимия», № 10, 1967.