ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ԶԵԿՈՒՅՑԵՐ
ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

LII 1971 2

УДК 631.427.2; 631.46

МИКРОБИОЛОГИЯ

Р. Е. Хачикян, О. А. Карапетян

К вопросу о способности синтезировать аминокислоты целлюлозоразлагающими микроорганизмами

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. К. Паносяном 21/VIII 1970)

Микроорганизмы почвы в ходе своей жизнедеятельности выделяют различные органические вещества, многие из которых являются физиологически активными соединениями, некоторые из них находят широкое применение, среди указанных соединений большое внимание уделяется синтезу аминокислот микроорганизмами.

В этом аспекте мы располагаем значительным числом литературной информации, посвященной вопросам биосинтеза аминокислот главным образом у следующих групп микроорганизмов: бактерий, актиномицетов и грибов ([1–8]). Однако сведений о продуцировании аминокислот целлюлозоразлагающими микроорганизмами в литературе нет. В настоящей работе приводятся результаты изучения синтезирующей способности аминокислот целлюлозоразлагающими микроорганизмами, выделенными из ризосферы бобовых растений, культивируемых на обнаженных почвогрунтах озера Севан.

Для выделения целлюлозоразлагающих микроорганизмов были взяты прикорневые почвы из-под люцерны и эспарцета второго года роста, возделываемые на опытных участках обнаженных почв оз. Севан. Количественный учет и выделение целлюлозоразлагающих микроорганизмов проводились на среде Гетчинсона, покрытой фильтровальной бумагой. Видовой состав целлюлозоразлагающих микроорганизмов определялся по Н. А. Красильникову ([9]), Г. Ф. Гаузе ([10]) и Н. М. Пидопличко ([11]), К. Рапер и Х. Том ([12]), Х. Том и К. Рапер ([13]).

Для определения способности целлюлозоразлагающих микроорганизмов синтезировать и выделять в среду аминокислоты изучаемые культуры выращивались на жидких питательных средах Гетчинсона с целлюлозой (фильтровальная бумага) в 0.5-литровых колбах со 100 мл среды в течение 12 дней при 26—27°С.

Полученную культуральную жидкость центрифугировали 10 минут при 6000 об./мин., затем в жидкой массе определялся количественный и качественный состав аминокислот с применением хроматографии на бу-

маге (14). Использовали растворитель: н-бутанол, уксусная кислота и вода (4:1:1). Аминокислоты на хроматографической бумаге проявлялись 0,5%-ным раствором нингидрина в ацетоне.

Для количественного определения свободных аминокислот цветные пятна обрабатывались в 5 мл 0,5%-ного раствора $CdCl_2$ в 40%-ном этиловом спирте (предварительно перегнанном). Интенсивность окраски измерялась спектрофотометром (СФ—5) при 510 mμ. Количество аминокислот определяли при помощи предварительно составленной стандартной кривой.

Целлюлозоразлагающие аэробные микроорганизмы в обнаженных почвогрунтах представлены очень бедно. Их количество в 1 г почвы не превышает нескольких тысяч. Однако при наличии бобовых растений в почвогрунтах их количество резко возрастает (табл. 1).

Как в ризосфере бобовых растений, так и в почвогрунте без посева трав, количество целлюлозоразлагающих грибов больше, чем бактерий. Среди бактерий чаще обнаруживаются вибрионы, которые на среде Гетчинсона образуют слизистые блестящие колонии желтого цвета. Изолированные нами культуры близки к виду Vibrio ochraceus Winogradsky.

Видовой состав целлюлозоразлагающих грибов более разнообразен. В ризосфере растений и в почвогрунте их видовой состав не одинаковый. В почвогрунте грибы в основном представлены родом Penicillium и видом Aspergillus flavus. В ризосфере люцерны и эспарцета широко распространены также виды Cephalosporium, acremonium, Aspergillus fumigatus, Stachybotrys alternans, Stachybotrys lobulata, а из актиномицетов — Actinomyces olivochromogenes и Act. griseus.

Таблица 1

Распространение целлюлозоразлагающих аэробных микроорганизмов по почвенным горизонтам в ризосфере люцерны и эспарцета за вегетационный период (в тыс. на 1г абсолютно сухой почвы)

Объект исследования	Глубина, см	Бактерии			Грибы		
		21 VI	21 VII	21 VIII	21 VI	21/VII	20 VIII
Контроль (почвогрунт без травосеяния)	0—10	—	—	—	—	—	1,5
	10—20	0,2	0,2	0,4	6,0	8,6	10,3
	20—30	—	—	0,1	1,0	3,1	5,3
	30—40	—	—	—	—	—	0,8
	40—50	—	—	—	—	—	—
Ризосфера люцерны	0—10	—	—	—	0,4	0,9	10,1
	10—20	0,4	1,0	1,0	5,0	17,2	19,2
	20—30	0,8	0,7	1,4	10,5	21,2	33,4
	30—40	—	0,4	0,9	9,8	22,5	35,6
	40—50	—	0,3	0,6	6,7	21,7	31,1
Ризосфера эспарцета	0—10	—	—	—	0,6	0,7	12,9
	10—20	0,2	0,4	0,5	4,6	16,6	20,3
	20—30	0,2	0,5	1,1	3,6	20,1	30,8
	30—40	—	0,3	0,7	2,9	19,4	26,9
	40—50	—	—	0,3	1,8	17,7	26,0

Условное обозначение: отсутствует —

Таблица 2

Содержание аминокислот в культуральной жидкости ризосферных целлюлозоразлагающих микроорганизмов (в *мкг* на 100 *мл* среды)

№№ пп	Названия аминокислот	Микроорганизмы										
		Stachybotrys alternans шт. 127	Vibrio ochraceus шт. 17	Vibrio sp. шт. 6	Aspergillus fumigatus шт. 367	Cephalosporium acremonium шт. 363	Vibrio sp. шт. 23	Aspergillus flavus шт. 118	Vibrio ochraceus шт. 16	Stachybotrys lobulata шт. 79	Act. olivochromogenes шт. 8	Act. griseus шт. 4
1	Цистин+цистеин	—	—	20,4	—	12,6	2,1	—	—	—	30,0	—
2	Лизин	следы	—	—	—	53,0	—	следы	36,8	—	—	—
3	Гистидин	62,1	—	—	—	79,0	23,0	—	—	—	—	—
4	Аргинин	72,0	1,6	—	—	48,0	6,4	—	16,0	48,0	35,2	—
5	Аспарагин	—	6,7	—	—	—	—	—	—	312,0	—	—
6	Глютамин	156,2	—	—	—	540,0	802,0	96,0	375,0	179,9	225,0	—
7	Аспарагиновая кислота	—	—	87,0	—	64,0	299,1	—	487,0	—	194,1	29,0
8	Серин	670,0	—	—	—	208,0	42,7	—	84,5	107,0	44,7	—
9	Глицин	540,0	—	—	—	—	—	28,6	168,0	100,5	—	—
10	Глютаминовая кислота	520,0	80,0	150,0	18,0	31,0	160,0	475,0	134,0	170,0	210,0	600,0
11	Трионин	354,0	85,5	94,5	—	27,0	24,3	—	—	90,0	—	—
12	а-аланин	865,0	—	135,0	40,0	57,0	106,0	30,0	186,0	—	—	6,0
13	б-аланин	—	25,0	47,0	—	—	—	—	38,0	500,0	—	—
14	Тирозин	17,1	111,2	159,0	49,0	—	—	25,0	306,0	144,0	—	—
15	Метионин	163,0	следы	16,0	—	—	—	12,4	72,0	—	—	—
16	Валин	112,0	—	—	—	13,5	—	—	—	304,0	27,0	—
17	Фенил-аланин	1700,0	363,0	66,0	43,0	16,5	105,5	—	—	627,0	—	—
18	Лейцин	177,2	159,0	28,5	—	1,9	47,5	—	—	—	—	—
19	Триптофан	—	1320,0	—	—	—	—	—	—	149,0	—	—
20	Аминомасляная кислота	—	143,6	—	—	—	—	—	следы	13,8	—	—
21	Изолейцин	1085,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	Пролин	—	—	—	—	—	—	—	++	—	+	—
	Итого:	7078,6	2265,6	802,9	150,0	1151,5	1618,4	664,6	1903,3	2745,2	766,0	635,0

Условные обозначения: отсутствует —, малое количество +, оптимальное количество ++

В культуральных жидкостях микроорганизмов обнаружено около 22 аминокислот, причем наиболее часто глютаминовая кислота, α-аланин, аспарагин, аспарагиновая кислота, аргинин и фенил-аланин. Общее содержание аминокислот в 100 *мл* культуральной жидкости колеблется от 150,0 до 7078,6 *мкг* (табл. 2). Данные, приведенные в табл. 2 относятся к 12-дневным культурам.

Нами также выяснено, что в содержании свободных аминокислот у разных видов целлюлозоразлагающих микроорганизмов в процессе развития происходят некоторые изменения. Наибольшее количество аминокислот обнаружено у бактерий в 10-суточных культурах, тогда как у грибов—в 15-ти, а у актиномицетов—в 22-суточных культурах. Следовательно, исследуемые нами целлюлозоразлагающие микроорганизмы характеризуются неодинаковым содержанием свободных аминокислот (рис. 1). Глютаминовая кислота синтезируется и выделяется в среду

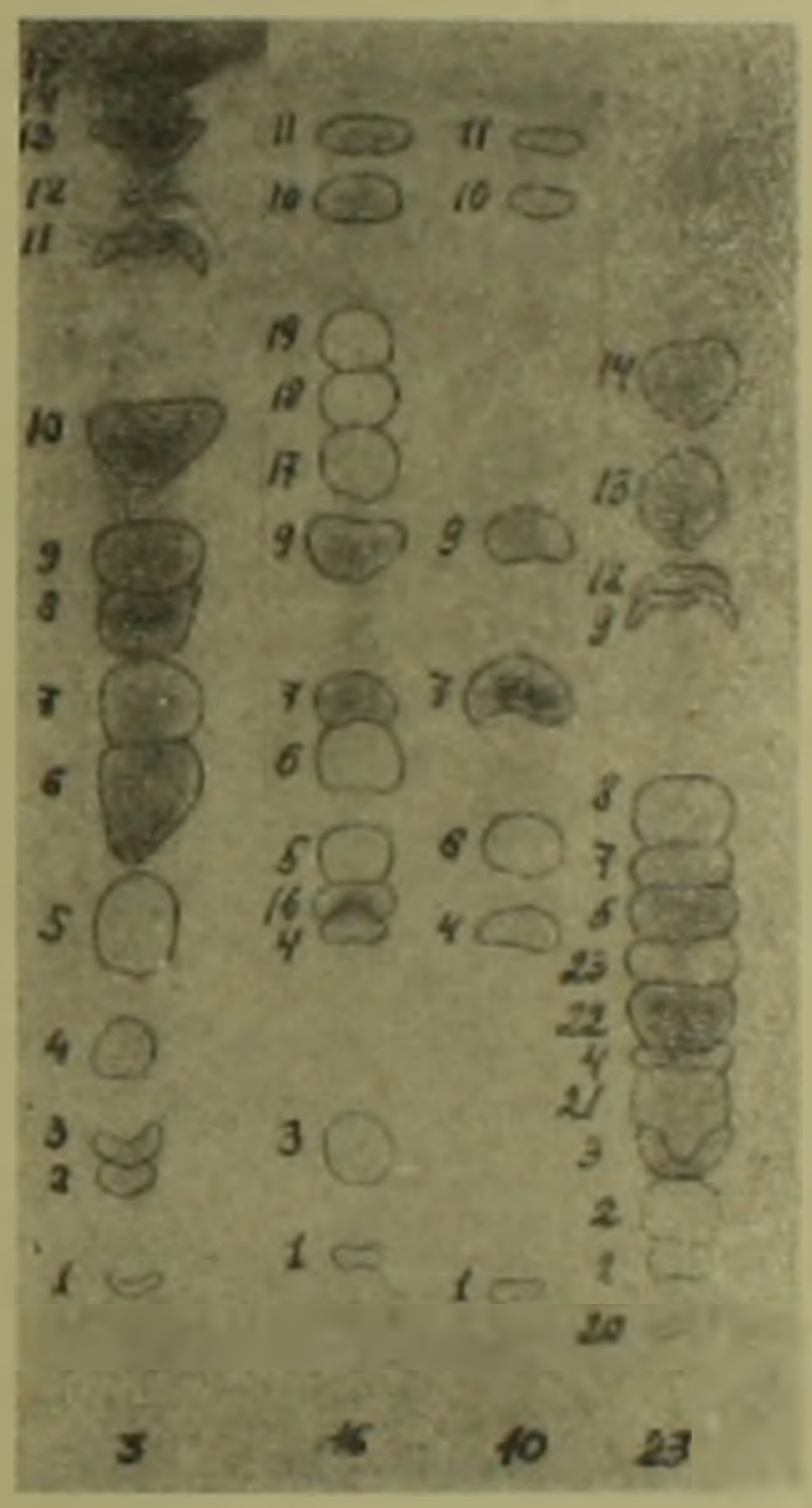

Рис. 1. Синтез аминокислот целлюлозоразлагающими микроорганизмами. № 16 *Vibrio ochraceus* штамы 16; № 23 *Vibrio ochraceus* шт. 23; № 10 *Aspergillus flavus* шт. 118; № 3 *Stachybotrys alternans* шт. 127.

1—лизин; *2*—гистидин; *3*—аргинин; *4*—глютамин; *5*—серин, *6*—глицин; *7*—глютаминовая кислота; *8*—треонин; *9*—α-аланин; *10*—тирозин; *11*—метионин; *12*—валин, *13*—фенил—аланин; *14*—лейцин; *15*—изолейцин; *16*—аспарагиновая кислота; *17*—β-аланин; *18*—пролин; *19*—аминомасляная кислота; *20*—цистин+цистеин; *21*—х-аминокислота; *22*—аспарагин; *23*—х-аминокислота

всеми изучаемыми микроорганизмами. Цистеин, лизин, гистидин, аспарагин, метионин, пролин, триптофан, аминомасляная кислота и изолейцин выделяются только некоторыми микроорганизмами и в самых незначи-

тельных количествах. Наибольшее количество аминокислот обнаружено в культуральной жидкости бактерий *Vibrio ochraceus* штамм 16 и шт. 23, актиномицетов *Actinomyces olivochromogenes* шт. 8 и грибов *Stachybotrys alternans* шт. 127.

Исходя из вышеизложенного, мы вправе констатировать, что рост и жизнедеятельность целлюлозоразлагающих микроорганизмов на обнаженных почвогрунтах озера весьма слабый. При возделывании бобовых растений, жизнедеятельность указанных микроорганизмов улучшается.

Исследуемые нами целлюлозоразлагающие микроорганизмы характеризуются неодинаковым синтезом аминокислот. Наибольшее количество аминокислот синтезируют грибы и бактерии.

Из выявленных аминокислот встречаются наиболее часто глютаминовая кислота, α-аланин, аспарагин, аспарагиновая кислота, аргинин и фенил-аланин.

Наибольшее количество аминокислот обнаружено в культуральной жидкости бактерий *Vibrio ochraceus* штамм 16 и шт. 23, актиномицетов *Actinomyces olivochromogenes* шт. 8 и грибов *Stachybotrys alternans* шт. 127.

Ботанический институт
Академии наук Армянской ССР

Ռ. Ն. ԽԱՉԻԿՅԱՆ, Օ. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

Թաղանթանյութ քայքայող միկրոօրգանիզմների ամինաթթուների սինթեզման ունակությունը

Սևանա լճի ջրերից մերկացած մերձափնյա ավազային հողագրունտներում թաղանթանյութ քայքայող միկրոօրգանիզմների աճը և նրանց կենսագործունեությունը ընթանում է շատ թույլ։

Հողագրունտներում մշակվող թիթեռնածաղկավոր խոտաբույսերը դրական ազդեցություն են թողնում թաղանթանյութ քայքայող միկրոօրգանիզմների աճման ու զարգացման վրա։

Թաղանթանյութ քայքայող միկրոօրգանիզմները ամինաթթուների սինթեզման նկատմամբ միանման ընդունակություն հանդես չեն բերում։ Ավելի մեծ քանակով ամինաթթուներ սինթեզում են սնկերը և բակտերիաները։

Հայտնաբերված ամինաթթուներից ավելի հաճախ հանդես են գալիս գլուտամինային թթուն, α-ալանին, ասպարագին, ասպարագինային թթուն, արգին և ֆենիլ-ալանին։ Ամինաթթուների մեծ քանակություն հայտնաբերվել են թաղանթանյութ քայքայող բակտերիաներից Vibrio ochraceus *16 և 23 շտամներ, ճառագայթասնկերից* Actinomyces olivochromogenes *8 շտամի և սնկերից* Stachybotrys alternans *127 շտամի կուլտուրալ հեղուկներում։*

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1 *В. Л. Кретович, В. И. Яковлева*, «Изв. АН СССР», серия биол. № 2, 1960 2. *А. А. Образцова, М. Б. Петренко*, Микробиол. журн. XXVIII, 1, 1966 3 *Р. К. Озолинь*, Микробиол. процессы и производство, изд. АН Латв. ССР, Рига, 1964. 4 *Е. Л. Рубан*, Тезисы докл. конф. Биосинтез аминокислот, витаминов и микробной массы, изд. «Зинатне», XIX, Рига. 1964 5 *Е. Л. Рубан, Н. Вербина, Р. К. Бутенко, Р. Озолинь, Д. Г. Заринь*. Биосинтез аминокислот микроорганизмами. Изд. «Наука», М. 1968 6 *T. Asai*, Panel. Disc., 2. 1963. 7 *H. Huang*, Industr Microbiol, № 5, 1964. 8 *E. Umbarger, B. Davis*, In: „The Bacteria", 3. Acad. Press. London, 1962. 9 *Н. А. Красильников*. Определитель бактерий и актиномицетов, Изд. АН СССР, М—Л, 1949. 10 *Г. Ф. Гаузе*, Вопросы классификации актиномицетов-антагонистов. М., 1957. 11 *Н. М. Пидопличко*, Грибная флора грубых кормов. Изд. УССР, Киев, 1953. 12 *K. Raper* a *Ch Thom*, A manual of the Penicillia, 1949. 13 *Ch. Thom* a. *K. Raper*, A manual of the Aspergillus, 1945 14 *Ж. В. Успенская, В. Л. Кретович*, Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений, Изд. АН СССР, 1962,