

УДК 576.851.55

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. Д. Налбандян, Г. С. Бабаян, Т. У. Саркисян

## О внеклеточных полисахаридах клубеньковых бактерий

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 30/III 1973)

Характерной особенностью развития *Rhizobium* в чистой культуре является образование большого количества внеклеточных полисахаридов, образующих слизь. Показано, что полисахариды, выделенные из культуральных жидкостей клубеньковых бактерий клевера и гороха состоят из остатков глюкозы и глюкуроновой кислоты (<sup>1-3</sup>), впрочем некоторые исследователи в полисахаридах клубеньковых бактерий не обнаруживали глюкуроновой кислоты (<sup>4-6</sup>). Во внеклеточных полисахаридах клубеньковых бактерий гороха, фасоли, люцерны и клевера наряду с глюкозой и глюкуроновой кислотой обнаружены также остатки галактозы, маннозы, уксусной и пировиноградной кислоты (<sup>7-11</sup>).

Исследования, проведенные в этой области, более подробно описаны в соответствующих обзорах (<sup>12,13</sup>).

В настоящей работе исследовалось влияние различных источников углерода (глюкоза, сахароза, меласса, арбутин и салицин) на синтез полисахаридов клубеньковыми бактериями эспарцета и люцерны, а также углеводный состав этих полисахаридов.

Клубеньковые бактерии выращивались в жидкой среде следующего состава (в %):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —0,05,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ —0,05,  $\text{NaCl}$ —0,02,  $\text{MgSO}_4$ —0,02, кукурузный экстракт—0,3. Источниками углерода служили (в %): глюкоза—1, сахароза—1, меласса—2, арбутин—2 и салицин—2. pH—среды—7,0—7,2. Культивирование проводилось на качалке 200—240 об./мин при температуре 26°. После 48 час культивирования культуральная жидкость центрифугировалась при 10000 об./мин для осаждения клеток.

Полисахариды из фугата осаждались 80%-ным этанолом или ацетоном. Осадок растворялся в 5%-ном растворе трихлоруксусной кислоты и вторично осаждался. Полисахариды сушились в вакууме и гидролизовались 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  в течение 6—8 часов в водяной бане. Гидролизат нейтрализовался гидроксидом бария. Количество синтезированных полисахаридов определялось в 100 мл культуральной жидкости, а хи-

химический состав определялся методом тонкослойной хроматографии на целлюлозе (растворитель—Бутанол—уксусная кислота—вода 4:1:1). Хроматограммы проявлялись анилин-фталатом при температуре 100—105. Редуцируемые сахара в гидролизате определялись по Хагедорн-Иенсену.

Как видно из данных табл. 1 наибольшее количество внеклеточных полисахаридов синтезировано клубеньковыми бактериями эспарцета и люцерны на среде, содержащей мелассу. Полисахариды сравнительно слабее синтезируются этими видами клубеньковых бактерий на средах, содержащих глюкозу, сахарозу, арбутин и салицин. Активный синтез полисахаридов клубеньковыми бактериями эспарцета и люцерны на мелассе, возможно, связан с наличием некоторых витаминов, особенно биотина, которыми богата меласса.

Из данных таблицы видно также, что на глюкозе, сахарозе, арбутине и салицине клубеньковые бактерии эспарцета синтезируют поли-

Таблица 1

Синтез полисахаридов клубеньковыми бактериями на различных источниках углерода (количество полисахаридов в %)

Вид и №№ штаммов	Использованные источники углерода				
	глюкоза	сахароза	меласса	арбутин	салицин
Клубеньковые бактерии эспарцета 51	1,12	1,72	2,17	1,20	0,52
..... 811	1,18	1,87	2,75	0,74	0,46
..... 93	2,0	1,10	2,64	1,65	0,41
..... 126	0,30	0,52	3,18	—	—
Клубеньковые бактерии люцерны 132	1,21	1,57	1,04	1,0	0,13
..... 422	0,83	1,73	2,37	—	0,38
..... 30	0,29	0,33	3,48	—	0,31
..... 87	0,33	0,35	3,82	—	—

Примечание. (—) означает—не определено.

Таблица 2

Определение сахаров в гидролизатах полисахаридов клубеньковых бактерий методом хроматографии

Вид и № № штаммов	Сахара, обнаруженные в полисахаридах		
	глюкоза	ксилоза	арабиноза
Клубеньковые бактерии эспарцета 51	+	+	+
..... 811	+	+	+
..... 93	+	+	+
Клубеньковые бактерии люцерны 132	±	±	±
..... 422	+	±	±

Примечание (+)—означает значительное количество  
(±)—означает незначительное количество.

сахариды больше, чем клубеньковые бактерии люцерны.

Из данных рис. 1 видно, что активность синтеза полисахаридов в основном зависит от титра клеток клубеньковых бактерий. Однако это

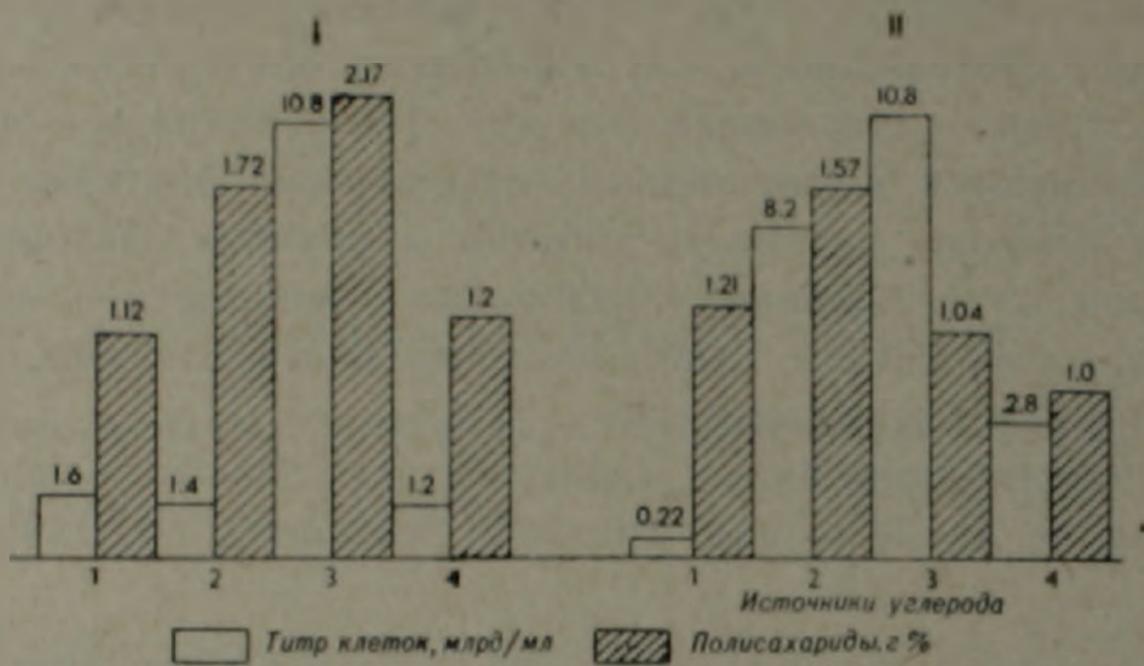


Рис. 1. Титр клеток и синтез полисахаридов клубеньковыми бактериями эспарцета штамм 51 (I) и люцерны штамм 132 (II) на различных источниках углерода; 1—глюкоза; 2—сахароза; 3—меласса; 4—арбутин

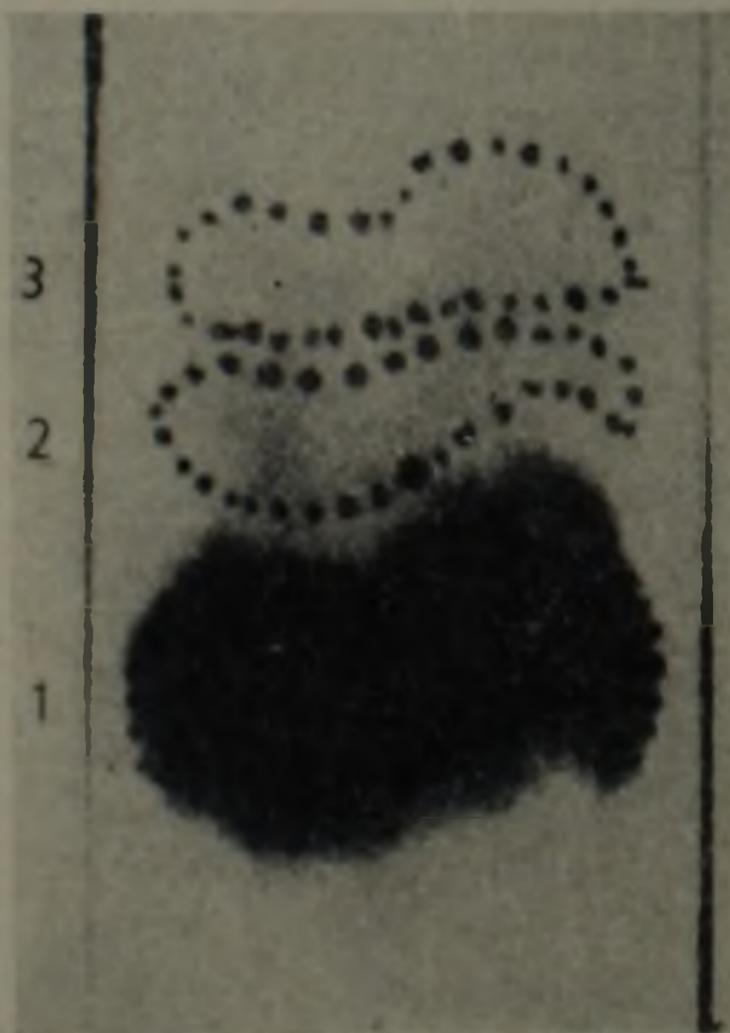


Рис. 2. Состав полисахаридов клубеньковых бактерий; 1—глюкоза; 2—ксилоза; 3—арабиноза

явление не характерно для всех видов и штаммов клубеньковых бактерий. Например, клубеньковые бактерии люцерны (штамм № 132), на среде с сахарозой синтезировали больше полисахаридов, чем на среде с мелассой, где титр клеток клубеньковых бактерий был сравнительно больше, чем в среде с сахарозой.

На основании полученных данных можно заключить, что активность синтеза внеклеточных полисахаридов обусловлена видовой и штаммовой особенностью клубеньковых бактерий.

Результаты опытов по определению углеводного состава полисахаридов (табл. 2) показывают, что в гидролизатах полисахаридов клубеньковых бактерий эспарцета и люцерны в основном обнаружена глюкоза. Ксилоза и арабиноза в гидролизатах обнаружены в незначительном количестве. Наличие ксилозы и арабинозы в гидролизатах, возможно, связано с декарбоксилированием глюкуроновой кислоты при гидролизе полисахаридов (рис. 2).

Видимо (табл. 3), количество глюкозы в гидролизатах полисахаридов зависит от вида и штамма клубеньковых бактерий. Например, если в полисахаридах, синтезированных штаммом 51 клубеньковыми бакте-

Таблица 3

Количество глюкозы в гидролизатах полисахаридов, синтезированных клубеньковыми бактериями на различных источниках углерода (в %)

Вид и № № штаммов	Использованные источники углерода		
	глюкоза	сахароза	меласса
Клубеньковые бактерии эспарцета 51	68.0	63.0	64.0
• • • • • 811	71.0	79.9	61.0
• • • • • 93	67.0	67.0	66.0
Клубеньковые бактерии люцерны 132	70.0	74.0	54.0
• • • • • 422	67.0	67.0	67.0
• • • • • 87	90.0	88.0	64.0

риями эспарцета, количество глюкозы составляет 64—68% (на трех источниках углерода), а у штамма № 811—61—79%, то у штамма № 93—66—67%. Количество глюкозы в полисахаридах, синтезированных клубеньковыми бактериями люцерны больше у штамма № 87.

Изложенные данные позволяют заключить, что синтез полисахаридов зависит от источников углерода, а также видовых и штаммовых особенностей клубеньковых бактерий, а углеводный состав этих полисахаридов не зависит от источника углерода и состоит в основном из глюкозы.

Мы полагаем, что результаты настоящего исследования могут быть полезными для производства сухого нитрагина.

Պալարաբակտերիաների արտաբջջային բազմաշաքարների մասին

Ուսումնասիրվել է ածխածնի տարբեր աղբյուրների (գլյուկոզ, սախարոզ, մելասա, արբուտին և սալիցին) ազդեցությունը կորնզանի և աուվույտի պալարաբակտերիաների արտաբջջային բազմաշաքարների սինթեզի ակտիվության և նրանց ածխաջրային կազմի վրա:

Հայտնաբերված է, որ կորնզանի և աուվույտի պալարաբակտերիաներն ածխածնի տարբեր աղբյուրների վրա սինթեզում են արտաբջջային բազմաշաքարներ, որոնց սինթեզի ակտիվությունը պայմանավորված է ածխածնի աղբյուրով և պալարաբակտերիաների տեսակային և շտամային առանձնահատկություններով: Արտաբջջային բազմաշաքարների ամենամեծ քանակը սինթեզված է մելասայի առկայության դեպքում, իսկ ամենափոքրը՝ արբուտինի և սալիցինի միջավայրում:

Այդ բազմաշաքարների ածխածնային կազմը պայմանավորված չէ ածխածնի աղբյուրի տեսակից, և հիմնականում բաղկացած է գլյուկոզից:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> E. W. Hopkins, W. H. Peterson, E. B. Fred, J. Amer. Chem. Soc., 52, 3659, 1930. <sup>2</sup> J. Kleczkowska, A. Kleczkowski, J. Gen. Microbiol., 21, 477, 1959. <sup>3</sup> E. Schluchterer, M. Stacey, J. Chem. Soc., 149, 776, 1945. <sup>4</sup> B. A. Hymphrey, Nature, 184, 1802, 1959. <sup>5</sup> M. Leizaola, C. r. Acad. sci., 240, 1825, 1955. <sup>6</sup> M. Leizaola-Tripier, C. r. Acad. sci., 250, 407, 1960. <sup>7</sup> N. Amager, M. Obaton, N. Blanchere, Canad. J. Microbiol., 13, 99, 1967. <sup>8</sup> C. E. Clapp, R. J. Davis, Soil Biol. and Biochem., 2, 109, 1970. <sup>9</sup> W. F. Dudman, M. Heldelberger, Science, 164, 954, 1969. <sup>10</sup> P. H. Graham J. Microbiol., and Serol., 31, 349, 1965. <sup>11</sup> B. A. Hymphrey, J. M. Vincent, J. Gen. microbiol., 21, 477, 1959. <sup>12</sup> E. H. Мишустин, В. К. Шильникова, Биологическая фиксация атмосферного азота, Изд. «Наука», М., 1968. <sup>13</sup> В. Л. Кретович, Обмен азота в растениях. Изд. «Наука», М., 1972.