

МИКРОБИОЛОГИЯ

Г. М. ШАВЛОВСКИЙ

**УЧАСТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ РИЗОСФЕРЫ В СНАБЖЕНИИ  
РАСТЕНИЙ ОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ СЕРЫ**

*(Представлено академиком А. И. Опариным 13 VI 1953)*

Рядом исследователей было обращено внимание на возможное использование высшими растениями витаминов, аминокислот и веществ типа ауксинов, образуемых почвенными микроорганизмами (<sup>1-4</sup>). Однако до сих пор не было получено достаточно убедительных данных об усвоении растениями этих веществ. Большая часть опытов с питанием растений химически чистыми витаминами проводилась в нестерильных условиях, что в значительной мере обесценивает полученные результаты. Более тщательно ставились опыты с аминокислотами. Но стерильные культуры растений на средах с чистыми аминокислотами в качестве единственных источников азота или серы в среде показали, что разные растения различно реагируют на те или иные аминокислоты. Некоторые из этих соединений, заведомо участвующие в строении растительных белков, будучи добавлены к питательной смеси, подавляли развитие растений. Однако в этих опытах не учитывалось то обстоятельство, что растения в природе встречают лишь небольшие количества аминокислот в определенных сочетаниях, наряду с минеральными соединениями биогенных элементов, и, повидимому, приспособлены именно к таким условиям питания. Результаты анализов различных почв, проведенные Б. А. Фидлером и И. В. Якушкиным, показали, что азот аминокислот составляет лишь небольшой процент (3,57—6,45%) от общего содержания азота в почве (<sup>5</sup>).

В специально поставленных нами опытах было найдено, что сеянцы гречихи, кукурузы и гороха, культивируемые в стерильных условиях на полной минеральной среде с небольшими концентрациями серусодержащей аминокислоты — метионина (меченной по сере S<sup>35</sup>), поглощают эту аминокислоту; последняя накапливалась в большей степени (на единицу сухого веса ткани) в корнях, чем в других органах, частично удовлетворяя, очевидно, потребность корневой системы в сере. Постоянное присутствие метионина в микробных телах указывало на вероятность использования растениями метионина микробного происхождения в естественных условиях их питания.

Однако для прямого обнаружения возможности использования растениями питательных веществ микробного происхождения казалось более целесообразным применять не химически чистые соединения, а автолизаты микробных клеток и живые культуры микроорганизмов ризосферы. Мы пошли именно таким путем, используя метод радиоактивных индикаторов.

Уже предварительные опыты с ризосферной бактерией *Pseudomonas aurantiaca* показали, что в результате жизнедеятельности этого микроорга-

низма в среде накапливаются как органические, так и минеральные соединения серы. Культура *Ps. aurantiaca* выращивалась на агаризованной синтетической среде, в которой единственным источником серы был радиосульфат натрия ( $\text{Na}_2\text{S}^{35}\text{O}_4$ ), с высокой удельной активностью, что давало возможность получить бактериальные клетки с мечеными  $\text{S}^{35}$  белками. Выросшие бактерии многократно промывались центрифугированием и помещались в сахарно-минеральную среду без радиоактивных соединений. После 4 и 7 суток культивирования измерялась активность свободной от клеток среды до и после осаждения сульфатов хлористым барием; одновременно учитывалось размножение клеток.

Из табл. 1, в которой приведены полученные нами данные, видно, что в 4-суточной культуре основная масса выделенной в среду серы (75,9%) состоит из органических соединений; в 7-суточной культуре, хотя и в меньшей степени, также преобладали органические соединения  $\text{S}^{35}$  (55%).

Таблица 1

Накопление серусодержащих соединений микробного происхождения в культуральной жидкости *Ps. aurantiaca*

	4-суточная культура		7-суточная культура	
	в имп/мин.	в % к первонач. активн. клеток	в имп/мин.	в % к первонач. активн. клеток
Активность общей серы в среде . . . . .	59000	6,8	137750	15,9
Активность органических соединений серы в среде . . . . .	44750	5,2	75750	8,7

Так как в процессе накопления серы в среде большое значение принадлежало автолизу бактериальных клеток (уже в 4-суточной культуре наступало отмирание части бактерий, а в 7-суточной культуре оставалось относительно немного живых клеток), были исследованы более детально автолизаты меченных серой микробов.

Автолизаты клеток *Ps. aurantiaca* и *Sacch. cerevisiae* XII расы были исследованы при помощи метода бумажной хроматографии (в качестве растворителя применялась смесь *n*-бутанол — вода — уксусная кислота); отдельно определялось содержание сульфатов в автолизатах. Проявленные нингидрином полоски одномерной хроматограммы протягивались под торцовым счетчиком, который регистрировал распределение радиоактивности вдоль хроматограммы.

При этом обнаружено, что основная масса  $\text{S}^{35}$  концентрировалась в трех участках: в месте нанесения капли, пятнах цистина — цистина и метионина, идентифицированных по свидетелям. Большая активность места нанесения капли (приблизительно половина всей активности) свидетельствовала о наличии в автолизатах, наряду со свободными аминокислотами, продуктов неполного разложения белка. Неорганическая сера составляла небольшой процент общей активности (в случае *Sacch. cerevisiae* 9,1%, *Ps. aurantiaca* 11,8%).

Приготовленные автолизаты были использованы в качестве органических соединений серы для культуры сеянцев гречихи. Растения выращивались в литровых колбах на агаризованной среде Кнопа (0,75% агар-агара) с 0,1% микробного автолизата в стерильных условиях. После снятия опыта корни растений многократно промывались горячей и холодной водой для отмывки адсорбированных на поверхности радиоактивных соединений. Активность высушенных до постоянного веса порошков отдельных органов 11-дневных растений измерялась под торцовым счетчиком.

В табл. 2 приведены данные этих опытов, из которых видно, что сеянцы поглощали из среды серусодержащие вещества автолизатов; последние накапливались в большем количестве в корневой системе сеянцев, чем в наземных органах. Такое избирательное накопление корнями соединений радиоактивной серы было нами обнаружено в случае использования сеянцами радиометионина, в то время как исследование поглощения радиосульфатов показало их быстрое передвижение в наземные органы (в последнем случае семядоли и стебли содержали больше  $S^{35}$  на единицу веса, чем корни). Поэтому по характеру локализации  $S^{35}$  в растениях, выросших на среде с автолизатами, можно было сделать заключение, что сеянцы поглощали из среды радиоактивные соединения серы главным образом в виде аминокислот.

Не исключена также возможность поглощения растениями несложных серусодержащих пептидов, присутствующих в автолизате, но этот вопрос требует отдельного исследования. На такую возможность указывают, в частности, данные ряда авторов о способности растений поглощать антибиотики пептидной природы (пенициллин, грамицидин С) (2).

Так, при помощи меченых соединений серы удалось установить непосредственное поглощение растениями продуктов распада микробных клеток. Однако метод радиоактивных индикаторов позволил не только сравнительно просто решить этот вопрос на искусственно полученных автолизатах, но также показать участие веществ микробного происхождения в питании растений, применив живые культуры ризосферных бактерий.

Для данной цели были получены живые культуры бактерий *Ps. aurantiaca* с мечеными  $S^{35}$  белками. Суспензиями этих бактерий заражались простерилизованные семена гречихи. Растения выращивались в литровых колбах на стерилизованных песчаных средах с питательной смесью Гельригеля. Изучение размножения *Ps. aurantiaca* в ризосфере гречихи 4- и 11-дневных сеянцев показало, что бактерии хорошо приживались, локализуясь главным образом в ризосферном слое.

Микроскопия корневых волосков в фазовом контрасте позволила обнаружить бактериальные клетки внутри многих волосков. Результаты измерения активности органов 4- и 11-дневных сеянцев (каждое семя заражалось 700 млн. бактерий), приведенные в табл. 3, показали поглощение растениями вполне измеримого количества радиоактивной серы, входившей первоначально в состав микробных клеток.

Сравнивая первоначальную активность бактерий, взятых для инокуляции одного семени, с активностью одного растения, можно было вы-

Таблица 2

Поглощение сеянцами гречихи серы из автолизатов *Ps. aurantiaca* и *Sacch. cerevisiae* (активность в имп/мин.)

Орган растения	2 мг сух. веш. растений на среде с автолизатом		Вся масса из 14 растений на среде с автолизатом	
	<i>Ps. aurant.</i>	<i>Sacch. cerev.</i>	<i>Ps. aurant.</i>	<i>Sacch. cerev.</i>
Семядоли . . . .	38	15	1919	600
Стебли . . . . .	75	53	4988	2783
Корни . . . . .	720	613	10080	7969

Таблица 3

Снабжение сеянцев гречихи соединениями  $S^{35}$  посредством живой культуры *Ps. aurantiaca* (активность в имп/мин.)

Орган растения	4-дневные сеянцы		11-дневные сеянцы	
	2 мг сух. вещества	вся масса из 14 раст.	2 мг сух. вещества	вся масса из 14 раст.
Семядоли . . . .	9	360	71	3495
Стебли . . . . .	17	527	40	2528
Корни . . . . .	175	1925	137	1849

считать, что 4-дневные сеянцы получили 0,16%  $S^{35}$  клеток *Ps. aurantiaca*, а 11-дневные — 0,4%. Однако при инокуляции более густыми суспензиями (3,45 млрд. клеток на 1 семя) это количество возрастало до 1% в 7-дневных сеянцах. Последнее обстоятельство говорило в пользу предположения о поглощении сеянцами продуктов автолиза микробных тел, так как при густых инокуляциях часть клеток, очевидно, погибала. Тем не менее, характер распределения радиоактивной серы по органам сеянцев несколько отличался от распределения  $S^{35}$  в растениях, выросших на среде с автолизатом *Ps. aurantiaca*: в присутствии живых бактерий относительно большее количество радиоактивных серусодержащих соединений перемещалось в наземные органы; правда, и здесь корни содержали больше  $S^{35}$  на единицу сухого веса, чем другие части. Возможно, что в этих условиях в растения, наряду с серусодержащими аминокислотами, поступали и другие соединения  $S^{35}$ , быстрее передвигающиеся по растительным тканям, хотя сами условия культуры (песок вместо агаризованной среды и наличие живых бактерий, присутствовавших даже в некоторых корневых волосках) могли оказать определенное влияние на физиологическое состояние растения.

Совершенно очевидно, что, поглощая соединения  $S^{35}$  из автолизатов или из продуктов обмена живой культуры *Ps. aurantiaca*, сеянцы гречихи усваивали и другие продукты микробного происхождения и таким образом общая масса питательных веществ, которую получило растение от микробов, была гораздо больше, чем это учитывалось нашим методом. Выяснить значение этих веществ в питании высших растений — задача дальнейших исследований.

В заключение выражаю глубокую благодарность проф. М. Н. Мейсе-лю за руководство работой и проф. Л. С. Литвинову за советы.

Поступило  
8 VI 1953

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. А. Красильников, *Микробиология*, **13**, 144 (1944). <sup>2</sup> Н. А. Красильников, *Усп. совр. биол.*, **33**, 321 (1952). <sup>3</sup> А. А. Исакова, *Изв. АН СССР, сер. биол.*, **5**, 838 (1939). <sup>4</sup> Е. Ф. Березова, А. Н. Наумова, Е. А. Разницына, *ДАН*, **18**, 357 (1938). <sup>5</sup> Б. А. Фидлер, И. В. Якушкин, *Изв. Моск. с.-х. ин-та*, **18**, 275 (1912).