

Г. М. ШАВЛОВСКИЙ

УЧАСТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ РИЗОСФЕРЫ В СНАБЖЕНИИ РАСТЕНИЙ ВИТАМИНАМИ

(Представлено академиком В. Н. Шапошниковым 13 II 1954)

В настоящее время имеется ряд доказательств благоприятного влияния микроорганизмов ризосферы на жизнедеятельность высших растений (стимуляция прорастания семян под влиянием заражения различными видами бактерий и грибов, увеличение урожая, усиление иммунитета против некоторых заболеваний). Для объяснения механизма этого влияния рядом исследователей было высказано предположение об участии микроорганизмов в снабжении растений витаминами, аминокислотами и веществами типа ауксинов (¹⁻³). Однако прямых доказательств того, что витамины, образуемые в результате жизнедеятельности микробов ризосферы, могут поглощаться растениями, получено не было.

В наших предыдущих опытах (⁴) при помощи метода радиоактивных индикаторов было экспериментально показано, что бактерии ризосферы участвуют в корневом питании растений, снабжая последние органическими соединениями серы — аминокислотами и, возможно, другими веществами. В настоящем сообщении приводятся данные, свидетельствующие об участии ризосферной микрофлоры в снабжении растений витаминами.

Многочисленными исследованиями было показано, что витамины группы В присутствуют в почвах (⁶). В 1 г серой лесной вторично-карбонатной почвы нами было найдено: витамина В₁ (тиамина) 0,01 γ, биотина 0,5 мγ, никотиновой кислоты 0,25 γ, витамина В₆ (пиридоксина) 6,0 мγ.

В ризосфере 3-недельных сеянцев гречихи, выросших на той же почве, было обнаружено никотиновой кислоты 0,6 γ, а биотина 2,0 мγ на 1 г почвы, что указывает на более значительное содержание витаминов в прикорневом слое, чем в почве вне зоны корней. Для ризосферы других растений в литературе приводятся данные о еще более высоком содержании витаминов (¹). Что касается происхождения этих витаминов в ризосфере, то можно полагать, что некоторое их количество могло освободиться при отмирании и автолизе клеток корней, однако гораздо более богатым источником накопления витаминов в прикорневой зоне является микрофлора ризосферы.

Если учесть процентное содержание бактерий, не нуждающихся в получении витаминов извне (ауксоавтотрофов), то окажется, что в ризосфере таких форм значительно больше, чем в почве вне корневой зоны. Так, в наших опытах бактерий, растущих на сахарно-минеральной среде, было в почве 4—8% от общего их количества, а в прикорневом слое сеянцев гречихи 35—50%. Изучение продуктов обмена нескольких типичных представителей ризосферной флоры, таких, как *Ps. fluorescens*, *Ps. aurantiaca*, *Achromobacter radiobacter*, *B. herbicola*, показало, что эти бактерии синтезируют и выделяют в окружающую среду витамин В₁, био-

тин, витамин В₆, никотиновую кислоту. Интересно отметить, что особенно большое количество витаминов синтезируются *Ps. aurantiaca* — микро-организмом, отнесенным Н. А. Красильниковым к числу бактерий-активаторов (6).

Чтобы ответить на вопрос о том, могут ли растения поглощать и усваивать витамины, синтезируемые микрофлорой ризосферы, необходимо было прежде всего изучить поглощение растениями химически чистых витаминов из субстрата при стерильных условиях их выращивания.

Уже исследование стерильных культур изолированных корней показало, что некоторые витамины группы В могут поступать из окружающей среды в корневую систему и усваиваться ее тканями (7). При орошении растений растворами витаминов наблюдалось повышение их содержания в этих растениях, по сравнению с контрольными, не получившими витаминов извне (5, 8, 9). Однако оставалось неясным, вызвано ли увеличение концентрации витамина в растениях поступлением его извне, или более интенсивным синтезом этого соединения самим растительным организмом под активирующим влиянием экзогенного витамина. Чтобы устранить эту неясность, мы поставили опыты по усвоению сеянцами гречихи, гороха и кукурузы витамина В₁, меченного радиоактивным изотопом серы S³⁵. Витамин вводился в агаризованную среду Кнопа (0,1 γ/мл) при выращивании растений в стерильных условиях в конических колбах и больших пробирках. Для предотвращения фотоллиза витамина под влиянием солнечных лучей на поверхность среды накладывались стерильные кружки фильтровальной бумаги с отверстиями для семян; стенки колб и пробирок в местах, соприкасающихся со средой, покрывались с наружной стороны тушью. После снятия урожая органы растений испытывались на содержание S³⁵ под торцовым счетчиком. Результаты опыта (табл. 1) показали, что растения поглощали различные количества витамина, радиоактивная сера которого обнаруживалась как в корнях, так и в стеблях и в листьях.

Таблица 1

Поглощение меченого витамина В₁ растениями
(активность 2 мг сух. вещ. в имп/мин)

Орган растения	Гречиха		Горох		Кукуруза
	11-дн.	38-дн.	11-дн.	26-дн.	11 дн.
Листья	777	492	72	67	
Стебли	591	1207	108	112	209
Корни	421	955	51	360	58
Средн. проба из целого растения	662	872	80	142	166

Обращают на себя внимание неодинаковое распределение радиоактивной серы по органам растений, отличия в количестве поглощенного витамина у разных растений, а также изменение характера распределения S³⁵ по органам у более взрослых растений. Если у 11-дневных сеянцев наибольшей удельной активностью обладали листья, то у более взрослых растений радиоактивная сера начинала накапливаться в большей степени в корнях (наиболее отчетливо у гороха) и стеблях (гречиха). Такое изменение в локализации S³⁵ может быть объяснено начавшимся интенсивным синтезом тиамин в листьях растений и оттоком витамина в стебли и корни, вследствие чего основная часть поступающего из корневой системы радиотиамин задерживается органами, больше в нем нуждающимися (как известно, корень не обладает способностью синтезировать тиамин).

Несмотря на синтетическую деятельность листьев, растения продолжали постепенно накапливать витамин В₁ из среды. Об этом свидетель-

ствуется сравнение средних величин активностей для целых растений различных возрастов.

В дальнейших опытах была сделана попытка выяснить возможность передачи растению витамина B_1 культурами микроорганизмов. Чтобы получить живые микробные клетки, содержащие меченый витамин B_1 , была использована способность как аукоавтотрофных, так и аукогетеротрофных организмов аккумулировать из среды готовые молекулы витаминов. В этом отношении лучше всего изучены дрожжи, которые в условиях брожения накапливают из среды значительное количество витамина B_1 ⁽¹⁰⁾. Для бактерий аккумуляция витаминов из среды изучена на примере витамина B_{12} ⁽¹¹⁾; в отношении тиаминa имеются косвенные указания ⁽¹²⁾.

В наших опытах были взяты из числа форм, не нуждающихся в получении извне витаминов, почвенная бактерия *Ps. aurantiaca* и дрожжи *Torulopsis utilis* и *T. latvica*, а также *Rhodotorulopsis rubra* — аукогетеротроф в отношении витамина B_1 .

Меченый витамин B_1 вводился в микробные клетки или при выращивании микроорганизмов на синтетических средах с витамином (опыты с *Ps. aurantiaca*, *T. latvica* и *Rh. rubra*) или в процессе брожения культуры (опыт с *T. utilis*). Отделенные от питательной среды микроорганизмы, содержащие меченый витамин B_1 , тщательно промывались трехкратным центрифугированием, а затем наносились в виде суспензии на простерилизованные семена гречихи (4,3 млрд. клеток *Ps. aurantiaca* или 240 млн. клеток дрожжей на 1 семя), которые проращивались в песчаных культурах в конических колбах.

Растения выращивались в течение 11 дней, после чего их органы испытывались на содержание радиоактивной серы. Как видно из приводимых данных (табл. 2), растения гречихи содержали в корнях, стеблях и семядолях вполне измеримые количества S^{35} .

Таблица 2

Снабжение сеянцев гречихи витамином B_1
посредством культур микроорганизмов
(активность 2 мг сух. вещ. в имп/мин)

Орган растения	Инокуляция семян суспензиями				
	<i>Ps. aurantiaca</i> с активн. 8100 имп/мин	<i>T. latvica</i> с активн. 45000 имп/мин	<i>Rh. rubra</i> с активн. 9180 имп/мин	<i>T. utilis</i> с активн. 10230 имп/мин	<i>T. utilis</i> ризосфер. бактерии
Семядоли	84	55	36	40	30
Стебли	61	45	32	37	28
Корни	90	65	52	43	42
% S^{35} , переданной микроорганизмами растению	8,53	1,21	4,0	3,2	2,8

Наибольшее количество витамина, определяемого по радиоактивной сере, было передано растениям культурой *Ps. aurantiaca* (8,53% от общей активности клеток), которая, как нами было установлено в специальных опытах, отличается способностью выделять витамин B_1 в больших количествах в окружающую среду (203 γ /г сухого вещества клеток в 8-дневной культуре). При заражении семян дрожжами *T. utilis*, обогащенными меченым витамином, и смесью ризосферных бактерий *Ps. fluorescens*, *A. radiobacter*, *B. herbicola* — аукоавтотрофов, не содержащих радиоактивной серы, поглощенное проростками количество последней было несколько меньше, чем в опыте, где растения заражались только дрожжами. Возможно, что бактерии уменьшали контакт дрожжей с корневой системой и тем затрудняли передачу витамина. Следует отметить, что вычисленный

процент передачи микроорганизмами радиоактивной серы растению является, очевидно, заниженным, так как при инокуляции не вся масса микробных клеток (особенно дрожжевых, не обладающих активной подвижностью) имела возможность встретиться впоследствии с корневой системой. Тем не менее, передача меченого витамина В₁, входившего в состав микробных тел, происходила во всех случаях опыта.

Настоящая работа выполнена под руководством М. Н. Мейселя, которому автор приносит глубокую благодарность.

Институт микробиологии
Академии наук СССР

Поступило
13 II 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. А. Красильников, Усп. совр. биол., **33**, 321 (1952). ² А. А. Исакова, Изв. АН СССР, сер. биол., **5**, 838 (1939). ³ Е. Ф. Березова, А. Н. Наумова, Е. А. Разницина, ДАН, **18**, 357 (1938). ⁴ Г. М. Шавловский, ДАН, **91**, 1213 (1953). ⁵ В. Х. Шопфер, Сборн. Биохимия и физиология витаминов, **1**, 9 (1950). ⁶ Н. А. Красильников, ДАН, **45**, 87 (1944). ⁷ J. Bonner, H. Bonner, Vitamins and Hormones, **6**, 225 (1948). ⁸ C. Carpenter, Science, **98**, 109 (1943). ⁹ H. Hurni, Zs. f. Vitaminforsch., **15**, 198 (1944). ¹⁰ Е. Н. Одицова, ДАН, **42**, 134 (1944). ¹¹ R. L. Davis, L. L. Layton, B. F. Chow, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **70**, 2 (1952). ¹² S. B. Lee, B. H. Burris, Ind. Eng. Chem., **35**, 354 (1943).