

А. В. Киракосян

Влияние влажности на фиксацию азота экологическими формами азотобактера

В работе, публикуемой в настоящем сборнике (Киракосян и Ананян, 1959), изложен результат исследований по вопросу влияния влажности на рост и размножение экологических форм азотобактера.

Целью же настоящей работы являлось изучение интенсивности связывания молекулярного азота экологическими формами *Az. chroococcum* под влиянием различной влажности среды.

По данным работы Липмана и Шарпа (1915), при добавлении в светлую песчаную почву 2% маннита фиксация азота почвой становилась заметной при 4% влажности, сильно увеличивалась при 8% и достигала максимума при 20—24% от сухого веса почвы.

Береснева (1930) исследовала влияние влажности на ассимилирующую способность азотобактера, вносимого в прокаленный песок в виде 2 г естественной почвы, богатой азотобактером. Одновременно в песок вносились маннит и мел. В этой среде связывание азота начиналось при 12% влажности от полной влагоемкости (0,7 мг на 0,5 г маннита). С увеличением влажности постепенно увеличивалось количество связанного азота, доходя до 7,7 мг при 100% влажности. В опытах с естественной почвой установлено, что при 2,5% влажности от веса почвы с добавлением маннита количество связанного азота составляет 4,17 мг, а при 45% — 9,96 мг. Значительно меньше связывается азот в почве без маннита. На основании проведенных исследований автор приходит к выводу, что фиксация азота естественной микрофлорой почвы может быть активной при низком содержании влажности, и что минимум влажности, необходимый для проявления азотоусвояющей способности, у различных почв различен.

Зиновьева и Бершова (1956) находят, что наилучшей влажностью для связывания молекулярного азота азотобактером является 60% от полной влагоемкости, а при понижении влажности связывание азота ослабевает.

Таблица 1

№ почв	Район выделения культуры	Время выделения	Высота местности, м	Тип почвы	Зона по увлажненности
15	Склон горы Арагац	1956	2350	Горно-луговая	Избыточно влажная
3в ₁	Сисианский район	1953	2600	"	Умеренно влажная
19д	Гукасянский р-он, с. Гукасян	1956	2000	Горный выщелоченный чернозем, высокостоящие грунтовые воды	Избыточно влажная
19а	"	1956	1850	Горный выщелоченный чернозем, дернина, болотистая местность	"
18а	"	1956	1850	Горный выщелоченный чернозем	"
20	Артикский р-он, г. Артик	1956	1780	Типичный горный чернозем	Умеренно влажная
7	Агинский р-он, с. Маралик	1956	1825	"	Недостаточно увлажненная
11 ₂	Аштаракский р-он, с. Аштарак	1956	1300	Каштановая	Сухая степь
5	Талинский р-он, с. Талин	1956	1600	"	"
6 ₁	Ленкорань, АзССР	1958	Берег моря	Желто-бурная	Влажные субтропики
8 ₁	"	1958	"	Темно-коричневая, сильно вымытая	"

Для настоящих исследований азотобактеры выделены из разных почвенно-климатических условий и зон разной увлажненности, подробные сведения об изученных культурах азотобактера приведены в табл. 1.

Опыты по фиксации молекулярного азота проводились с промытым и прокаленным кварцевым песком в чашках Петри. Отвешенный по 25 г песок стерилизовался в автоклаве при 2 атм. В каждую чашку к песку в сухом виде добавлялось по 1 г сахарозы, 0,12 CaCO_3 и 0,5 мл питательной среды Виноградского в следующей пропорции: воды—10 мл, K_2HPO_4 —0,2 г, MgSO_4 —0,2 г, CaSO_4 —0,1 г, NaCl —0,2 г, FeSO_4 —следы, MnSO_4 —следы. После добавления сред песок увлажнялся по схеме: 10—15—20—25—30—40—50—60—70—80—90—100% от полной влагоемкости песка и стерилизовался при 1 атм. 15 минут. Азотобактер вносился в количестве 500 000 клеток на 1 г песка в виде суспензии полуторасуточной культуры. В каждом варианте повторность двукратная. Влажность в течение опыта поддерживалась на должном уровне. Продолжительность опыта 12 дней. Азот определялся Макро-Кьельдалем.

Результаты исследований приведены в табл. 2, 3, 4, 5 и 6. По данным приведенных таблиц можно отметить следующее. Почти все культуры азотобактера, выделенные из разных зон, от 10 до 50% влажности фиксировали незначительное количество азота. Но, как видно, у культур из влажных зон связывание азота при низких процентах влажности не доходило до 1 мг, тогда как культуры из засушливых зон при тех же малых влажностях связывали азот до 1 мг и выше. Однако эти ничтожные количества связанного азота трудно отнести к специфичности азотобактера с разным происхождением.

В работе Бересневой азотофиксация в песке начиналась уже при 12% влажности. По всей вероятности это объясняется тем, что она заражала песок „почвенным“ азотобактером, естественной почвой, а не агаровой чистой культурой.

Начиная от 60 до 100% влажности почти все культуры азотобактера интенсивно фиксировали азот атмосферы. Лишь

Таблица 2

Фиксация азота азотобактерами, выделенными из горно-луговых почв
(избыточно и умеренно влажная зона)

Азотобактер Арагац 15					Азотобактер Сис-Баз 3в ₁				
Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влаж- ность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влаж- ность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Азот в мг на 1 г сахара
	в парал- лях	в среднем		в парал- лях	в среднем		в парал- лях	в среднем	
Контроль	0,28 0,28	0,28	50	0,28 0	0,14	Контроль	0,28 0,28	0,28	4,90 —
10	0,56 0,14	0,35	60	6,86 7,56	7,21	10	0,42 0,56	0,49	9,66 9,66
15	0,28 0,56	0,42	70	8,54 9,24	8,89	15	0,98 0,70	0,84	9,52 9,52
20	0,70 0,42	0,56	80	— 9,38	9,38	20	0,42 0,42	0,42	8,54 9,80
25	0,28 0,56	0,42	90	8,96 9,94	9,45	25	0,56 0,28	0,42	8,26 9,10
30	0,28 0,28	0,28	100	9,24 9,38	9,31	30	0,70 0,56	0,63	9,24 9,10
40	— 0,84	0,84				40	0,56 0,56	0,56	

Фиксация азота азотобактерами, выделенными из выщелоченных черноземов
(избыточно влажная зона)

Азотобактер Гукаси 19д					Азотобактер Гукаси 19а					Азотобактер Гукаси 18а				
Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара	
	в парал- лях	в сред- нем		в парал- лях	в сред- нем		в парал- лях	в сред- нем		в парал- лях	в сред- нем		в парал- лях	в сред- нем
Контроль	0,28 0,28	0,28	50	3,08 4,20	3,64	Контроль	0,28 0,28	0,28	50	0,28 0,56	0,42	Контроль	0,28 0,28	0,28
10	0,70 1,26	0,98	60	6,44 7,98	7,21	10	0,28 0,28	0,28	60	1,12 0,42	0,77	10	0,42 0,28	0,35
15	1,96 0,56	1,26	70	6,02 6,30	6,16	15	0,28 0,56	0,42	70	4,76 4,34	4,55	15	0,42 0,56	0,49
20	1,26 1,82	1,54	80	6,30 —	6,30	20	0,56 0,28	0,42	80	5,04 5,32	5,18	20	0,70 0,70	0,70
25	1,68 0,98	1,33	90	5,46 4,62	5,04	25	1,12 0,84	0,98	90	4,62 5,32	4,97	25	0,14 0,56	0,35
30	0,84 1,12	0,98	100	4,06 3,50	3,78	30	0,70 0,84	0,77	100	3,92 3,78	3,85	30	0,42 0,42	0,42
40	1,96 1,82	1,89				40	0,56 0,42	0,49				40	0,28 0	0,14

Таблица 4

Фиксация азота азотобактерами, выделенными из почв влажных субтропиков

Азотобактер Ленкорань 6 ₁			Азотобактер Ленкорань 8 ₁		
Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара	
	в параллелях	в среднем		в параллелях	в среднем
Контроль	0,28 0,28	0,28	Контроль	0,28 0,28	0,28
20	0,14 0,28	0,21	20	1,26 0,42	0,84
30	0,42 0,42	0,42	30	0,42 0,56	0,49
50	0,28 0,42	0,35	50	5,74 5,60	5,67
60	0,56 0,42	0,49	60	6,30 6,30	6,30
80	7,00 7,98	7,49	80	7,56 7,56	7,56
100	7,00 7,42	7,21	100	8,54 8,54	8,54

Таблица 5

Фиксация азота азотобактерами, выделенными из черноземов
(умеренно и недостаточно увлажненная зона)

Азотобактер				Азотобактер				Маралик 7			
Влажность, в %	Азот в мг на 1 г		Влаж- ность, в %	Азот в мг на 1 г		Влаж- ность, в %	Влаж- ность, в %	Азот в мг на 1 г		Влаж- ность, в %	Азот в мг на 1 г
	в парал- делях	в среднем		в парал- делях	в среднем			в парал- делях	в среднем		в парал- делях
Контроль	0,28 0,28	0,28	50	1,26 1,26	1,26	Контроль	Контроль	0,28 0,28	0,28	50	6,02 0,70
10	1,12 0,98	1,05	60	9,94	9,94	10	10	0,84 1,26	1,05	60	8,54 9,52
15	1,54 —	1,54	70	9,94 10,64	10,29	15	15	0,98 0,98	0,98	70	8,68 9,10
20	0,84 0,70	0,77	80	11,62 11,06	11,34	20	20	— 0,28	0,28	80	9,94 9,38
25	1,12 0,98	1,05	90	12,04 12,04	12,04	25	25	0,42 1,82	1,12	90	7,00 8,54
30	— 0,98	0,98	100	11,62 11,48	11,55	30	30	0,42 0,42	0,42	100	8,54 8,40
40	0,84 0,98	0,91				40	40	1,12 1,40	1,26		

Таблица 6

Фиксация азота азотобактерами, выделенными из каштановых почв
(сухая степь)

Азотобактер Талин 5						Азотобактер Аштарак 11 ₂					
Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влаж- ность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влажность, в %	Азот в мг на 1 г сахара		Влаж- ность, в %	Азот в мг на 1 г сахара	
	в парал- делях	в среднем		в парал- делях	в среднем		в парал- делях	в среднем		в парал- делях	в среднем
Контроль	0,28 0,28	0,28	50	0,98 1,26	1,12	Контроль	0,28 0,28	0,28	50	0,54 —	0,54
10	0,84 —	0,84	60	6,44 8,54	7,49	10	0,42 0,28	0,35	60	8,12 2,10	5,11
15	1,68 1,12	1,4	70	9,10 9,38	9,24	15	0,56 0,56	0,56	70	7,84 8,68	8,26
20	1,4 —	1,4	80	9,10 9,38	9,24	20	0,56 0,70	0,63	80	7,98 8,40	8,19
25	1,4 0,84	1,12	90	10,08 9,52	9,80	25	0,56 0,42	0,49	90	8,26 8,26	8,26
30	2,38 0,84	1,61	100	10,50 10,36	10,43	30	0,70 0,84	0,77	100	8,96 9,10	9,03
40	0,56 0,70	0,63				40	0,56 0,56	0,56			

одна культура из влажных субтропиков—Ленкорань 8₁ выявила определенную закономерность к разным влажностям. С 50% влажности количество связанного азота увеличивалось с увеличением процента влажности.

Таким образом, мы видим, что адаптивные свойства азотобактера разного происхождения при фиксации азота в различных условиях влажности не проявляются.

Микроскопические наблюдения препаратов, приготовленных из всех вариантов, при снятии опыта показали, что там, где не было фиксации азота, отсутствовали также клетки азотобактера. Местами обнаруживались мелкие гомогенные кокки в небольшом количестве.

Из данных табл. 3 и 4 видно, что культуры азотобактера Гукасян 19а и Ленкорань 6₁ в заметном количестве связывают атмосферный азот не при 60% влажности, как все остальные культуры, а при 70%. Обе отмеченные культуры по морфологическим и культуральным свойствам не являлись типичными представителями вида *Az. chroococcum*.

Исследованиями Киракосян и Ананян (1959) установлено, что в условиях стерильной почвы культуры азотобактера начинали интенсивно размножаться при 30% влажности от полной влагоемкости. Ассимиляция же азота атмосферы теми же культурами в кварцевом песке происходила, в основном, начиная с 60% влажности.

В работе Бересневой также отмечалось, что в песке ассимиляция азота начиналась при 12% от полной влагоемкости, а в почве при влажности значительно ниже.

По данным Петросян (1940) для роста и размножения азотобактера в песчаной культуре оптимумом влажности является 60%, а в почвенной культуре—40%. В работе последних лет того же автора (Петросян и Навасардян, 1958) клубнеобразование у бобовых растений в условиях почвы активизировалось при 20% влажности от полной влагоемкости, а в условиях песка лишь с 40% влажности.

Это обстоятельство нельзя объяснить иначе, чем благоприятными, в сравнении с песком, физико-химическими свойствами почвы для роста, размножения и жизнедеятельности микроорганизмов.

Выводы

1. Фиксация молекулярного азота культурами азотобактера различного происхождения в условиях прокаленного кварцевого песка в основном начиналась при 60% влажности от полной влагоемкости песка.

2. Исследованные экологические формы азотобактера при фиксации молекулярного азота не выявили адаптации к условиям влажности среды.

3. Фиксация азота у большинства культур азотобактера от 60 до 100% влажности, с некоторыми отклонениями, протекала интенсивно, но в одних случаях при 90—100% влажности азотфиксация повышалась, в других понижалась.

Только одна культура (Ленкорань 8₁) выявила закономерность к различным условиям влажности.

Ա. Վ. ԿԻՐԱԿՈՍՅԱՆ

ԱԶՈՏԱԲԱԿՏԵՐԻ ԷԿՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՁԵՎԵՐԻ ԱԶՈՏՖԻՔՍՈՒՄԸ
ՏԱՐԲԵՐ ԽՈՆԱՎՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Միկրոօրգանիզմների էկոլոգիական առանձնահատկությունների ուսումնասիրության հարցը իր ակտուальությամբ ներկայումս դրավում է հետազոտողների ուշադրությունը:

Այս հետազոտության նպատակն է եղել պարզել, թե ազոտաբակտերի էկոլոգիական ձևերը, որոնք մեկուսացված են Հայաստանի տարբեր հողա-կլիմայական պայմաններից, ինչպիսի խոտենսկիությամբ են ֆիքսում օդի գազանման ազոտը տարբեր խոտավության դեպքում:

Աշխատանքը կատարվել է լաբորատորիայում, լվացված ու ալրված կվարցի ավազի միջավայրում, ավելացնելով վիտագրադակու մանդանյութը: Այս միջավայրը վարակվել է ազոտաբակտերի փորձարկվող կուլտուրաներով: Խոտավության վարիանտները եղել են հետևյալները՝ 10—15—20—25—30—40—50—60—70—80—90—100 տոկոսը, հաշված ավազի լրիվ ջրունակությունից: Խոտավությունը փորձի ընթացքում պահպանվել է միշտ սկզբնական

վիճակում: Փորձի տեղութիւնը եղել է 12 օր: Ազոտը որոշվել է Կելդալի եղանակով:

Փորձի արդունքները հետևյալներն են՝

1. Ազոտաբակտերիների տարբեր էկոլոգիական ձևերի մթնոլորտային գազանման ազոտի ֆիքսացիան հիմնականում սկսվում է խոնավութիւն 60 տոկոսից:

2. Օդի գազանման ազոտի կապման գործում հետազոտվող ազոտաբակտերների էկոլոգիական ձևերը խոնավութիւն տարբեր պայմաններում ազապտացիոն ունակութիւն չեն հալոնաբերել:

3. Հետազոտվող ազոտաբակտերները խոնավութիւն 60—100 տոկոսի դեպքում համարյա նույն ինտենսիվութեամբ են ֆիքսում օդի գազանման ազոտը: Միայն մեկ կուլտուրան, մեկուսացված խոնավ սուբստրատիկ պայմաններից (Լենքորան 8₁) բարձրացնում է ազոտի կապման ինտենսիվութիւնը՝ համապատասխան խոնավութիւն տոկոսի բարձրացման:

A. V. Kirakossian

Nitrogen fixation by the ecological forms of *Azotobacter chroococcum* under various humid conditions

S u m m a r y

The purpose of this paper is to investigate the influence of humidity on the intensivity of atmosphere nitrogen fixation by *Azotobacter* cultures, isolated from different soil samples collected from various ecological regions of Armenia.

The observation was made in our laboratory under washed and calcined quartz sand conditions to which Vinogradsky's medium was added. The humidification of the sand was from 10 to 100 per cent of complete moisture capacity with 10 per cent intervals.

The conclusions are:

1. In the process of nitrogen fixation, the various ecological forms of *Azotobacter* have not shown adaptation to different humidity medium.

2. The ecological forms of *Azotobacter* at 60 to 100 per cent humidity of complete sand moisture capacity have fixed the nitrogen atmosphere at almost the same intensivity.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Береснева В. 1930. Влияние влажности на способность почвы к фиксации азота. Труды Инст. сельскохозяйственной микробиологии, т. IV, в. 2, стр. 109.
- Зіновава Х. Г., Бершова О. І. 1956. Азотобактерин і його застосування в колгоспах України. Видавництво АН УРСР, Київ.
- Киракосян А. В., Ананян Л. Г. 1959. Влияние влажности на экологические формы азотобактера. «Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии АН АрмССР», в. V (XI), стр. 231.
- Петросян А. П. 1940. К биологии *Azotobacter*. Труды научно-исследовательской станции полеводства НКЗ АрмССР, в. 1, стр. 112.
- Петросян А. П., Навасардян А. Г. 1953. Предельная влажность развития экотипов клубеньковых бактерий. «Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии АН АрмССР», в. III, (IX), стр. 61.
- Lipman and Sharp. 1915. Botanical gazette.