

А. В. Киракосян, Ж. С. Мелкоян

О внутривидовых взаимоотношениях азотобактера

Внутри- и межвидовые взаимоотношения микроорганизмов привлекали внимание многочисленных исследователей, однако и поныне результаты изучения остаются разноречивыми, особенно если вопрос касается внутривидовых антагонистических взаимоотношений.

Ряд исследователей совершенно отрицает существование антагонизма внутри вида, другие же, наоборот, признают наличие антагонистических взаимоотношений у вида. Литературные данные приведены в опубликованной статье Киракосян, Каримян (1958). Отметим здесь только о статье Дьякова (1958), который приводит отечественную и зарубежную литературу о том, что среди исследованных тифозных, паратифозных и дизентерийных бактерий наблюдаются антагонистические взаимоотношения как внутри вида, так и между видами и штаммами одного и того же вида. На основании собственных экспериментальных данных автор также приходит к выводу, что внутри вида дизентерийных бактерий существуют антагонистические и неантагонистические взаимоотношения и что характер внутри- и межвидовых взаимоотношений практически невозможно использовать в качестве основного признака для разграничения дизентерийных бактерий на виды и разновидности.

Киракосян, Каримян (1957) изучали внутри- и межвидовые взаимоотношения четырех видов азотобактера и пришли к выводу, что существуют антагонистические взаимоотношения как между видами, так и внутри вида азотобактера. Ими установлено, что культуры с сильным антагонистическим действием проявляют антагонизм и в отношении представителей своего вида, и в отношении представителей другого вида. Антагонизм проявляется почти в одинаковом соотношении как внутри, так и между видами. Было доказано, что в случае

выявления антагонизма внутри вида очень часто азотобактеры-продуценты и азотобактеры тест-культуры по культурально-морфологическим и физиологическим свойствам были идентичны и, следовательно, не могли принадлежать к разным видам и даже не являлись разновидностями одного вида. Таким образом, исследования привели авторов к выводу о существовании антагонистических взаимоотношений внутри вида азотобактера.

В настоящей статье приводится экспериментальный материал относительно внутривидовых взаимоотношений, *Az. agile*.

Эта культура в количестве примерно 200 штаммов была выделена из почв Армении, из них 121 штамм был отобран для проведения настоящего опыта.

Все культуры многократно очищались рассевом на агаризованной среде Эшби. В течение опыта выяснилось, что лишь одна культура была загрязнена и результаты ее не были учтены.

Методика изучения была следующей. Перекрестное испытание проведено на среде Эшби-агар с сахарозой. Продуценты выращивались на той же среде с толщиной слоя в 5 мм и в виде блоков диаметром 6 мм накладывались на тест-культуры, засеянные на пластинки Эшби-агара. Продуценты применены семисуточные, тест-культуры—двухсуточные. Последние засевались на пластинки Эшби-агара в виде густой суспензии. Зоны отсутствия роста тест-культуры обозначены в мм радиуса зоны.

Ввиду того, что выделенные нами культуры *Az. agile* культурально-морфологическими свойствами значительно отличались между собой, мы разделили их на группы и по этим группам проводились исследования различных их свойств. В данной работе изучаемые культуры распределены на пять групп, и ниже, в таблицах, рядом с номером культуры отмечена группа, к которой она отнесена. Следует отметить, что из испытанного 121 штамма 26 культур относились к разновидности *Az. vitreum*, которая нами была включена в последнюю, пятую группу (культурально-морфологические отли-

ния этих групп будут приведены в отдельной статье). 21 культура не была причислена ни к одной из групп.

В табл. 1 представлены данные об общем количестве исследованных штаммов, количество отдельных групп *Az. agile* и процентное соотношение к ним антагонистов.

Таблица 1

Количество исследованных *Az. agile* и процент антагонистов

	Г р у п п ы					Не вошед- шие в группы	Всего
	I	II	III	IV	V		
Число культур	18	42	8	6	26	21	121
Из них антагонистов . .	6	21	6	3	6	9	51
% антагонистов	33	50	75	50	23	43	42

Как видим, процент антагонистов к общему количеству исследованных культур составляет 42%, а по группам от 23 до 75%. Однако в III и IV группах исследовано всего по 8 и 6 культур, поэтому процент антагонистов к ним может быть и нереальным. В наиболее распространенной второй группе процент антагонистов высок, составляет 50%.

В табл. 2 и 3 приводятся некоторые данные из двух опытов по внутривидовым антагонистическим взаимоотношениям *Az. agile*; при этом сомнительные результаты и нечистые зоны не были учтены.

Результаты настоящих опытов показывают, что внутри вида *Az. agile* также существуют антагонистические взаимоотношения, как это было доказано ранее (1957) для *Az. chroococcum*, *Az. nigricans* и небольшого числа штаммов *Az. agile*. Внутри каждой группы *Az. agile* также вполне четко выступают антагонистические взаимоотношения, как, например, у II группы (табл. 2), которая является основной и более часто встречаемой формой *Az. agile*.

Только у 26 культур *Az. vitreum* между штаммами не замечено антагонистических взаимоотношений. Наблюдалось также, что когда у штаммов *Az. agile* сильно выражены антагони-

Таблица 2
Антагонистические взаимоотношения *Az. agile* внутри вида — I опыт

Тест-культуры	Продуценты															
	27-I	30-I	31-I	32-I	33-I	42-I	43-I	39-II	40-II	44-II	50-II	52-II	59-IV	1-V	3-V	9-V
27-I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30-I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31-I	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32-I	-	-	-	-	-	4	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
33-I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42-I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43-I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39-II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28
40-II	-	1	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
44-II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50-II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52-II	2	-	-	-	-	7	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-
59-IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9-V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-
14-V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20-V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24-V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-
26-V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-

стические свойства, то они подавляюще действовали на многие штаммы тест-культур своего вида. Выше было отмечено, что в предыдущей работе (1957) такое же явление наблюдалось и в отношении изученных четырех видов азотобактера. Однако следует сказать, что часть штаммов проявила антагонизм в отношении одного или двух тест-культур.

Культуральными особенностями тест-культуры и продуценты *Az. agile* часто были совершенно идентичны. На рис. 1 и 2 представлены препараты четырехсуточных культур продуцента № 28 и тест-культуры № 30. Как видим, приведенные обе культуры морфологически являются типичными для *Az. agile* и очень сходны между собой. Физиологическими особенностями, отношением к различным питательным средам они также совершенно идентичны.

Однако внутривидовые антагонистические взаимоотношения микроорганизмов, в том числе и азотобактера, как было отмечено выше, совершенно отрицаются рядом авторов.

В опубликованной в 1960 г. монографии Рубенчика цитирована работа Киракосян, Каримян (1957) о внутри- и межвидовых взаимоотношениях азотобактера. Исходя из собственных наблюдений, автор монографии находит, что внутри вида *Az. chroococcum* редко наблюдается антагонистическое взаимоотношение, а очищение тех же культур показало, что антагонизм проявляется лишь в случае загрязненности культуры азотобактера.

Следует, однако, отметить что в цитированной Рубенчиком работе использовано около 230 культур разных видов азотобактера, из них 24—35% являлись антагонистами для представителей своего вида. Думается, что предположение о загрязненности довольно большого числа продуцентов-азотобактеров не может быть верным. Очищение культур нами было проведено тщательно и преобладающее большинство исследованных культур было чисто.

Чтобы не быть голословными, мы решили в 1961 г. повторить опыт с культурами, хранившимися у нас в лаборатории после окончания работ в 1954 г. по внутри- и межвидовым взаимоотношениям азотобактера (1957). Были отобраны культуры *Az. chroococcum*, часть штаммов по внутривидовому антагонизму (табл. 2) и предварительно рассеяны на пластинки Эшби-агара для проверки чистоты культур. Все отобранные культуры по истечении семи лет хранения в лаборатории оказались совершенно чистыми, без всякой примеси посторонних микроорганизмов. Только в трех или четырех случаях наблюдалось появление колоний отщепившихся форм со слабым, плоским ростом. Такое расщепление свойственно почти всем культурам азотобактера, тем более при долгом их хранении в лабораторных условиях.

Результаты скрещивания культур *Az. chroococcum* внутри вида приведены в табл. 4, а в табл. 5 выписаны данные опыта 1954 г. по тем же культурам. Сравнивая данные двух таблиц, можно видеть, что, несмотря на долгое хранение в лабораторных условиях, культуры-продуценты в большин-

Таблица 3

Антагонистические взаимоотношения *Az. agilis* внутри вида — II опыт

[illegible]

Таблица 4

Антагонистические взаимоотношения *Az. chroococcum* внутри вида

Тест-культуры	Продуценты							
	Окт. 4	Окт. 4 ₂	Окт. 8 ₁	Окт. 8 _{1a}	Окт. 9	Окт. 7	Арт. 20	Арт. 24
Окт. 1	2	13	—	5	5	—	—	—
Окт. 4	—	—	—	—	3	—	0 ₃	0 ₃
Окт. 4 ₂	0 ₂	—	—	0 ₂	10	—	—	—
Окт. 2 ₁	10	9	—	25	23	8	12	11
Окт. 7	—	0 ₂	—	0 ₂	8	—	0 ₂	0 ₂
Окт. 9	11	8	—	4	—	0 ₂	3	1
Окт. 12 ₁	3	4	—	4	5	13	1	2
Окт. 13	—	3	1	5	3 0 ₂	0 ₁₀	2 0 ₂	3
Окт. 13 ₂	—	3	—	1	—	—	5	5
Арт. 20	0 ₃	0 ₃	0 ₂	0 ₄	8	0 ₂	0 ₁	0 ₁
Арт. 24	0 ₃	3	0 ₄	4	7	0 ₂	0 ₄	0 ₁

Примечание: 0 с цифрой означает нечистую зону.

Таблица 5

Антагонистические взаимоотношения *Az. chroococcum* внутри вида
(из статьи А. В. Киракосян, Р. С. Каримян — 1957 г.)

Тест-культуры	Продуценты							
	Окт. 4	Окт. 4 ₂	Окт. 8 ₁	Окт. 8 _{1a}	Окт. 9	Окт. 7	Арт. 20	Арт. 24
Окт. 1	8	4	5	6	8	—	5	10
Окт. 4	—	2	3	3	4	—	—	—
Окт. 4 ₂	7	2	7	3	7	—	—	—
Окт. 2 ₁	10	—	10	—	10	—	8	10
Окт. 7	—	—	—	1	5	—	—	—
Окт. 9	8	5	3	4	—	2	—	—
Окт. 12 ₁	3	2	—	—	5	11	3	4
Окт. 13	8	6	5	6	—	—	—	9
Окт. 13 ₂	10	5	5	6	—	—	3	9
Арт. 20	4	2	2	1	3	—	—	—
Арт. 24	4	—	4	2	7	—	—	—

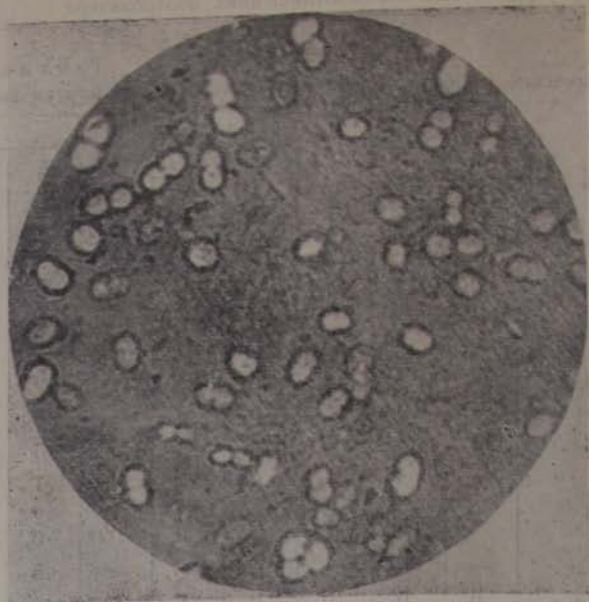


FIG. 2.

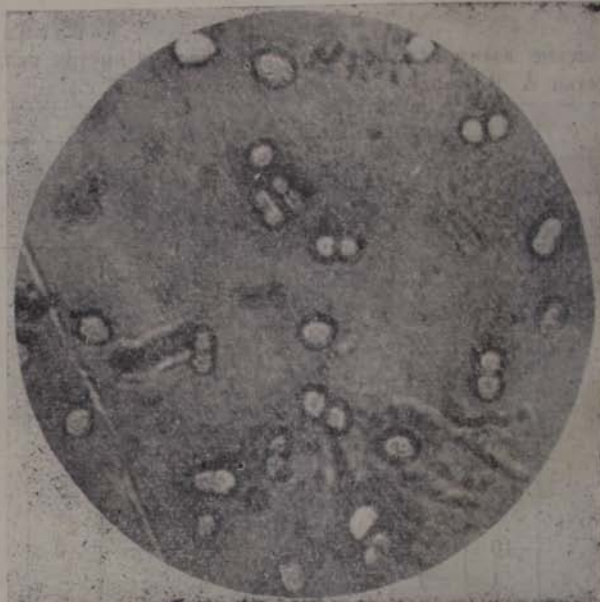


FIG. 1.

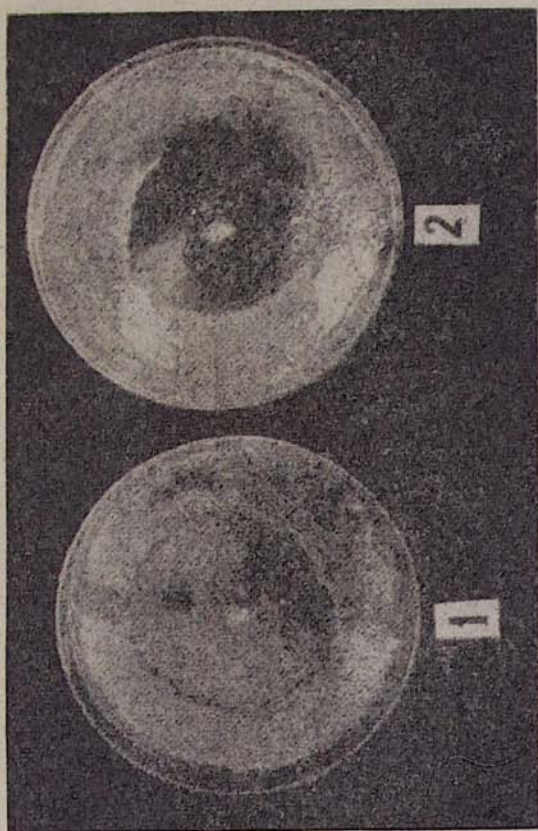


Рис. 3.

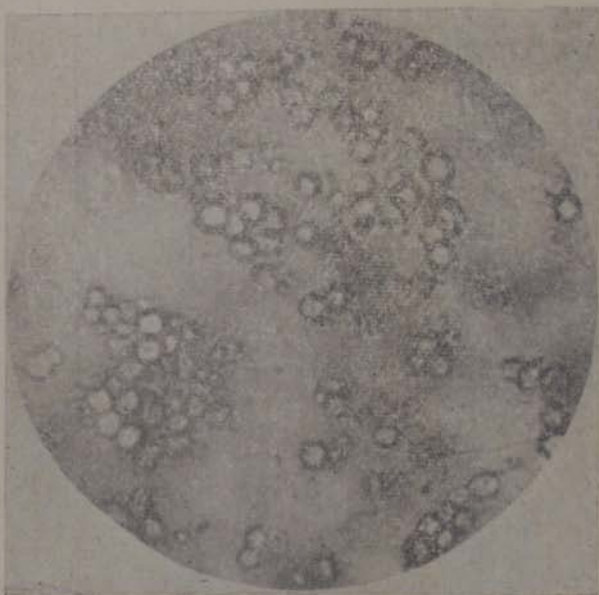


Рис. 4.

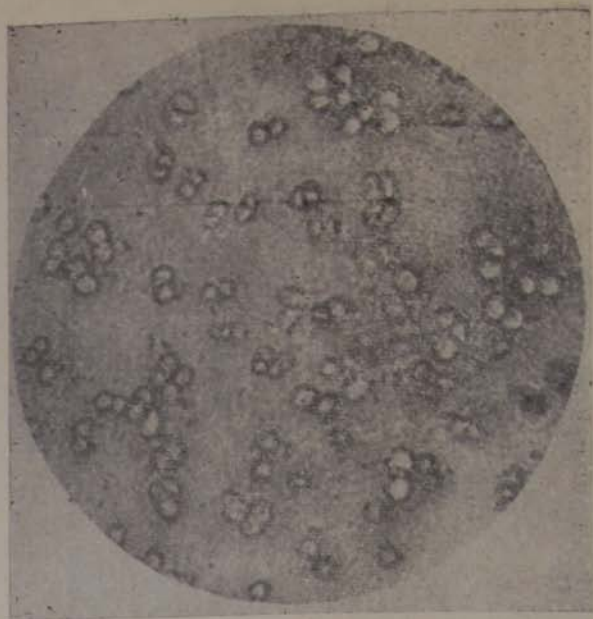


Рис. 5.

стве сохранили антагонистическое свойство, с той лишь разницей, что местами их действие ослаблено, иногда усилено и лишь в некоторых случаях данные относительно отдельных тест-культур не совпадают.

На рис. 3 показано отсутствие роста тест-культуры Окт. 2₁ под влиянием продуцентов Окт. 9 (чашка 1) и Окт. 8_{1а} (чашка 2). Продуценты и тест-культуры азотобактера культурально очень сходны, а морфологическое сходство можно видеть на рис. 4 и 5, где рис. 4 представляет продуцент Окт. 9, а рис. 5 тест-культуру Окт. 9₁, обе культуры шестисуточные.

Приведенные выше экспериментальные данные позволяют твердо сказать, что культуры азотобактера были совершенно чистые, тест-культуры и продуценты азотобактера культурально и морфологически очень сходны, следовательно, относятся к одному виду азотобактера. Нет сомнений, что зоны отсутствия роста тест-культур являются следствием внутривидового антагонизма азотобактера.

В ы в о д ы

1. Все исследованные культуры *Az. agilis* по культурально-морфологическим отличиям разделены на пять групп, но, вне сомнений, все они принадлежат к одному виду.

2. Перекрестное испытание *Az. agilis* в лабораторных условиях на синтетической среде для выявления внутривидового антагонизма показало, что антагонистическое действие свойственно 42%, всех исследованных культур внутри вида. Только 26 культур *Az. vitreum* не проявили антагонизма между штаммами.

3. Повторение опыта 1954 г. по внутривидовым взаимоотношениям с частью штаммов *Az. chroococcum*, хранившихся длительное время в лаборатории, подтвердило чистоту испытанных культур и существование у них внутривидовых антагонистических взаимоотношений.

Ա. Վ. ԿԻՐԱԿՈՍՅԱՆ, Զ. Ս. ՄԵԼԻՔՈՆՅԱՆ

ԱԶՈՏՈՐԱԿՏԵՐՆԵՐԻ ՆԵՐՏԵՍԱԿԱՅԻՆ ՓՈԽԱՐԱՐԵՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ա. մ. փ. ո. փ. ո. ա. մ.

Միկրոօրգանիզմների ներ- և միջտեսակային անտազոնիստական փոխհարաբերությունների հարցը, որը նրկար ժամանակ զբաղեցրել է գիտնականներին, մինչև այժմ էլ վերջնական լուծում չի ստացել: Ումանք ժխտում են տեսակի ներսում անտազոնիզմի առկայությունը, ումանք էլ պնդում են, որ ներտեսակային անտազոնիզմ գոյություն ունի:

Կիրակոսյանը, Քարիմյանը (1957) ապացուցել են, որ ազոտոբակտերիների շորս տարբեր տեսակների միջև գոյություն ունի անտազոնիստական փոխհարաբերություն թե՛ տեսակների միջև և թե՛ տեսակի ներսում:

Ներկա աշխատության նպատակն է՝ առաջին. պարզել Az. agile-ի ներտեսակային անտազոնիստական փոխազդեցության հարցը: Az. agile-ն, մոտ 200 շտամ, մեկուսացվել է Հայաստանի հողերից, ուսումնասիրության համար ընտրվել է 121 շտամ, որոնք իրենց կոլտուրալ ու մորֆոլոգիական հատկանիշների հիման վրա բաժանված են հինգ խմբի, սակայն բոլորն էլ ֆիզիոլոգիական ալլ առանձնահատկություններով անպայման պատկանում են Az. agile-ի տեսակին:

Ներկորդ՝ ապացուցել, որ նախորդ աշխատության (1957) մեջ նշված ներտեսակային անտազոնիզմի գոյությունը ազոտոբակտերների մոտ իրապես գոյություն ունեցող փաստ է և ոչ թե ազոտոբակտերների կոլտուրաների կեղտոտված լինելու արդյունք, ինչպես այդ պնդում է Ռուբենշիկը (1960):

Ստացված տվյալների հիման վրա կարելի է դալ հետևյալ եզրակացությունը՝

1. Ապացուցված է, որ Az. agile-ի տեսակի ներսում գոյություն ունի անտազոնիստական փոխազդեցություն: Անտազոնիստների թիվը հասնում է 42%-ի՝ հետազոտված կոլտուրաների ընդհանուր թվի նկատմամբ: Անտազոնիստական ազդեցությունը հատուկ է նաև առանձին խմբերի ներկայացուցիչներին, նույն խմբերի ներսում. այսպես՝ անտազոնիստների թիվը հասնում է 50%-ի:

երկրորդ խմբին պատկանող ազոտոբակտերների մոտ, որոնք *Az. agile*-ի ամենից ավելի տարածված ձևն են կազմում:

2. 1957 թվականին տպագրված աշխատության 2-րդ աղյուսակում բերված *Az. chroococcum* կուլտուրաների մի մասը դարձյալ մաքրվել է, ցանկով էշբի-ազարի վրա, և ապա փորձարկվել է նրանց ներտեսակային անտագոնիստական փոխազդեցությունը: Պարզվել է, որ երկար տարիներ լաբորատոր պայմաններում պահելուց հետո *Az. chroococcum*-ի շտամները բացարձակ մաքուր են մնացել և պահպանել են իրենց անտագոնիստական ազդեցության հատկությունը նույն տեսակին պատկանող ազոտոբակտերների տեստ-կուլտուրաների նկատմամբ, որ ապացուցվում է ներկա աշխատության աղյուսակ 4-ի տվյալներով:

A. V. Kirakossian, J. S. Melkonian

On the inter-species relationship of *Azotobacter*

S u m m a r y

Scientists have studied the question of antagonistic relationship of the internal and inter-species of microorganisms for a long time, yet this problem has not been completely solved.

Kirakossian and Karimian (1957) have proved that among the four different species of *Azotobacter* and inside everyone of these species there exists an antagonistic relationship. In the light of the present data and later studies it was established that:

1. There exists an antagonistic interrelation within the *Azotobacter agile* species. Among the investigated 121 strains, almost 51 strains (42%) have shown internal antagonistic relationship. Among the 26 strains of *Azotobacter vitreum*, antagonistic relationship of internal species has not been noticed.

2. The experiments of Kirakossian and Karimian were repeated on various strains of *Azotobacter chroococcum* and have shown that there really exists an antagonistic relationship inside the species.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Дьяков С. И. 1958. О характере межвидовых и внутривидовых взаимоотношений у дизентерийных бактерий. «Микробиология», т. XXVII, в. I, стр. 60.
- Киракосян А. В., Каримян Р. С. 1957. Внутривидовые и межвидовые взаимоотношения азотобактера. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, в. III (IX), стр. 3.
- Рубенчик Л. И. 1960. Азотобактер и его применение в сельском хозяйстве. Изд-во АН УССР, Киев.