

Ա. Վ. Կիրակոսյան, Ջ. Ս. Մելկոնյան, Լ. Գ. Անանյան

Влияние рН среды на развитие экологических форм *Azotobacter chroococcum*

Со времени открытия азотобактера была замечена его чувствительность к реакции среды и потому много работ было посвящено установлению предельных точек его развития и усвоению азота атмосферы при различных значениях рН.

В исследованиях по распространенности азотобактера в разных типах почв всегда особое внимание уделялось фактору активной кислотности почв.

Вичк и др. (1934) установили, что азотобактер может развиваться и связывать азот только при рН выше шести, а при низких значениях рН он может развиваться в присутствии связанного азота.

Мишустин и др. (1939, 1939а) придают большое значение фактору кислотности среды, они находят, что при рН 4 и 5 азотобактер инактивируется.

Федоров (1947, 1952, 1956) отмечает, что азотфиксирующие бактерии, азотобактер и др. при рН 5,0 и 5,3 не развиваются или развиваются очень слабо, а азот не фиксируют. Он находит, что функция связывания атмосферного азота является также функцией роста микроорганизма, но в определенных пределах она не зависит от рН среды.

Работнова (1957) считает, что как азотобактер, так и другие бактерии с течением времени, несмотря на присутствие буферных смесей, изменяют активную кислотность среды, приспособлявая ее к условиям своей жизнедеятельности. Поэтому она находит необходимым при изучении рН среды иметь в виду первые сутки роста бактерий, так как в дальнейшем данные нивелируются.

Блинков (1948, 1951) установил для трех видов азотобактера предельные рН роста и азотфиксации, которые ле-

жат между pH 5,5 и 11,0, но оптимальные условия создаются при pH 7,3 до 8,0. Он наблюдал (1953), что чем выше pH в сторону щелочности, тем сильнее азотобактер подкисляет среду.

Настоящим исследованием мы хотели выяснить возможность адаптации азотобактера к активной кислотности среды. Для этого нами были использованы культуры, выделенные из разных типов почв Армении и ранее исследованные на адаптацию их к условиям влажности и температуры.

Мишустин (1947) изучал адаптивные свойства южных и северных рас *Bac. thuyoides*, выделенных из почв с различной кислотностью, и установил, что эта культура не адаптирована к определенным значениям pH.

Петросян (1957), исследовав предельные pH развития экотипов клубеньковых бактерий, пришла к выводу, что разные экотипы адаптированы к условиям места своего обитания, их отношение к различным pH зависит от активной кислотности почвы, откуда они выделены.

В исследованиях по выяснению отношения азотобактера к различным pH мы в начале использовали в качестве субстрата для роста азотобактера речной песок, который был промыт 10% соляной кислотой, водопроводной и дистиллированной водой, затем слегка прокален. Питательной средой служила Эшби, в которой CaCO_3 был заменен CaCl_2 , а K_2HPO_4 фосфатной буферной смесью Зеренсена (Белозерский и Проскуряков, 1951). В каждую чашку Петри было взято 50 г песка, который увлажнялся 60% от полной влагоемкости. Песок со средой стерилизовался при 1 атм. 15 мин. Несмотря на то, что песок был освобожден от органических и коллоидных веществ и добавлена фосфатная буферная смесь, необходимых значений pH в песке нам получить не удалось. Поэтому в соответствующие варианты до стерилизации добавлены разведенная серная кислота и натрий гидроксид.

Исследована одна культура азотобактера (Артик 22в), выделенная из чернозема. В каждую чашку вносилось 0,5 мл густой суспензии. Количество азотобактера и pH среды (потенциометром) определялись через 1, 2, 3, 5 и 8

суток. Количество азотобактера приведено в тысячах на 1 г песка, а в начале и конце опыта 0,2 г песка разложены на агаризованную среду Эшби в 50 комочках. Результаты приведены в табл. 1.

Как показывают данные этой таблицы, в условиях промытого песка азотобактер обнаруживается лишь в варианте с pH 6,34 и то только в первые сутки на комочках песка.

В вариантах с более низким значением pH вообще роста нет.

Наибольшее количество азотобактера было при pH 7,32, далее при повышении значения pH в сторону щелочности количество уменьшается, а при pH 8,8—вообще отсутствует.

Следует заметить, что вначале значение pH несколько снижается, затем повышается, местами доходя до 9,0 и 9,6, при этом количество азотобактера остается довольно высоким. Этим обстоятельством подтверждаются литературные данные о том, что азотобактер, как и другие бактерии, в процессе развития меняет активную кислотность среды, приспосабливая ее к своим потребностям.

Результат этого опыта убеждает, что песок не может служить субстратом для настоящего опыта, поэтому в дальнейшем основные исследования проведены нами в жидкой среде Эшби. В среде Эшби, как было сказано, CaCO_3 был заменен CaCl_2 , а K_2HPO_4 —фосфатными буферными смесями без разбавления. Среды разливались в пробирки диаметром 2 см невысоким слоем. Заражались среды 100 000 клеток азотобактера на 1 мл. Подсчет азотобактера произведен в камере Тома. Температура в термостате 26—28°C.

Исследованы культуры азотобактера, выделенные из бурых, каштановых почв, черноземов и горно-луговых почв Армянской ССР, по пять культур из каждого типа почвы. Анализы по определению количества азотобактера и pH сред (потенциометром „П-4“) проводились через одни, пять и десять суток после заражения.

В табл. 2 представлены исследованные культуры азотобактера и некоторые данные о них.

Таблица 2

Исследованные культуры азотобактера

№ культур	Культуры	Почва	Год выделен	Высота местности в м	pH почвы
1	Октемберян 16	Буряя	1956	860	7,66
2	Октемберян 18	"	1956	860	7,63
3	Эчмиадзин 2	"	1956	870	7,29
4	Эчмиадзин 3	"	1956	870	7,12
5	Арташат 4а	"	1956	850	7,38
6	Аштарак 8	Каштановая	1956	1290	6,28
7	Аштарак 12	"	1956	1270	7,18
8	Мартуни 2	"	1954	2050	—
9	Св. каштанов. 4	"	1954	1200	—
10	Арагац (Инаклу) 20	"	1956	1800	7,06
11	Артик 21в	Чернозем	1956	1780	6,53
12	Артик 20	"	1956	1780	6,53
13	Гукасян 13	"	1956	1970	6,24
14	Гукасян 2 всп. 19 д.	"	1956	1980	6,46
15	Апаран 27в	"	1956	2000	6,80
16	5 Сисиан—Базарчай	Горно-луговая	1954	2600	6,24
17	32 Сисиан—Базарчай 3	"	1954	2600	6,24
18	Сисиан—Базарчай 38	"	1954	2600	6,24
19	30рр Сисиан—луговая	"	1954	2500	—
20	30б Сисиан—луговая	"	1954	2500	—
21	Арташат 5	Буряя	1959	830	8,10
26	Ленкорань 4 ₂	Желтозем	1958	—	4,91

В табл. 3, 4, 5 и 6 приведено количество азотобактера в 1-е и 5-е сутки их роста. Литературными данными, как и нашими наблюдениями, установлено, что азотобактер часто меняет pH среды даже при наличии фосфатных буферов, поэтому адаптивные свойства, если они имеются, могут быть выявлены в первые сутки их роста.

Рассматривая данные приведенных таблиц, можно отметить, что большинство культур, независимо от их происхождения, растет и размножается в очень узком пределе, примерно от pH 6 до 7. Азотобактеры в основном не растут при низких значениях pH от 4,5 до 5,5. При pH 5,7—5,8 он местами обнаруживается в количестве нескольких сотен или тысяч, но не может размножаться,

Таблица 3
Влияние pH среды на рост азотобактера, выделенного из бурых почв. Количество азотобактера в тысячах в 1 мл

№ 2, pH почвы 7,66				№ 3, pH почвы 7,63				№ 4, pH почвы 7,29				№ 5, pH почвы 7,12				№ 6, pH почвы 7,38			
1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток	
pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество
4,94	0	5,02	0	5,00	0	4,84	0	4,07	0	4,84	0	4,87	0	4,84	0	5,11	0	5,11	0
5,45	40,0	5,51	0,25,20	2,05,36	0	5,00	0	5,27	0	5,00	0	5,22	0	5,00	0	5,22	0	5,22	0
5,72	слились	5,64	31,05,83	слил. 5,84	0	5,51	0,945,83	0	5,51	1,0	5,61	0,015,51	0	5,51	1,0	5,61	0	5,61	0
6,42	560,0	6,33	380,06,41	1140,06,38	2660,06,24	12,0	6,392160,0	0	6,39	1060,06,24	107,0	6,43	2200,0	6,24	23,0	6,39	1060,06,24	107,0	6,43
6,89	748,0	6,86	1940,06,89	116,06,84	19,06,85	35,0	6,93710,0	0	7,00	1700,06,85	290,0	6,93	2300,0	6,85	9,0	7,00	1700,06,85	290,0	6,93
7,36	146,0	7,24	1300,07,36	1,07,36	0	7,39	0	7,51	0	7,39	0	7,45	0	7,39	0	7,39	0	15,7,42	2200,0
7,64	49,0	7,58	слил. 7,65	0	7,65	0	8,21	0	8,52	0	8,39	0	8,39	0	8,21	0,058,64	слились	0	0
8,06	40,0	8,13	464,08,02	0	8,06	0	8,62	0,148,68	0	8,62	0	8,70	0	8,62	0	8,62	0,168,70	0	0
8,29	27,0	8,27	0	8,19	0	8,29	0	8,28,99	0	9,10	0	8,97	0	9,10	0	9,10	0	8,85	0

Примечание: Здесь и далее, где в графах с pH добавлено слово „контроль“, это означает, что через одни сутки pH не определен, а приведено первоначально значение pH среды.

Таблица 4
Влияние pH среды на рост азотобактера, выделенного из каштановых почв. Количество азотобактера в тысячах в 1 мл

№ 8, pH почвы 6,28				№ 9, pH почвы 7,18				№ 10				№ 11				№ 12, pH почвы 7,06			
1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток	
pH	количество	pH	количество	pH контроль	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество
4,84	0	4,69	0	4,84	0	5,03	0	4,50	0	4,61	0	4,80	0	4,96	0	4,97	0	5,13	0
5,00	0	5,10	0	5,00	0	5,15	0	4,80	0,08	4,99	0	5,13	200,0	5,12	0	5,31	0	5,36	0
5,51	4,05,44	4,05,44	0	5,51	4,0	5,61	4,0	5,13	слились	5,51	3	5,81	слились	5,71	2	5,79	слились	5,84	0
6,24	194,06,36	126,06,24	491,0	6,37	1800,0	6,37	1800,0	6,51	414,0	6,31	514,0	6,44	880,0	6,28	1900,0	6,35	860,0	6,36	3300,0
6,85	240,06,83	263,06,85	283,0	6,97	1560,0	6,97	1560,0	6,89	248,0	6,75	74,0	6,93	640,0	6,87	2,06	6,96	1080,0	6,91	1680,0
7,39	227,07,39	1630,07,39	27,0	7,40	0	7,40	0	7,29	15,0	7,36	0	7,34	300,0	7,32	1120,0	7,38	280,0	7,29	400,0
8,21	0	8,30	0	8,21	0,54	8,41	0	7,62	3,0	7,58	0	7,67	1600,0	7,46	0	7,62	2800,0	7,65	0
8,62	0	8,72	4,08,62	8,62	0,02	8,66	0	8,10	19,0	7,94	0	8,08	13400,0	8,02	0	8,06	20,0	8,04	0
9,10	0	8,97	0	9,10	0,2	8,83	0	8,34	0,03	8,15	0	8,25	0	8,25	0	8,34	0,02	8,28	0

Таблица 5
Влияние pH среды на рост азотобактера, выделенного из черноземов. Количество азотобактеров в 1 мл

№ 15, pH почвы 6,53				№ 18, pH почвы 6,80				№ 14, pH почвы 6,53				№ 16, pH почвы 6,24				№ 17, pH почвы 6,46			
1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток	
pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество	pH	количество
4,97	0	4,95	0	5,10	0	4,91	0	4,84	0	4,95	0	4,84	0	4,86	0	4,84	0	4,85	0
5,04	0,04	4,95	0	5,16	0,03	5,07	0	5,00	0	5,29	0	5,00	0	5,20	0	5,00	0	5,19	0
5,65	3,0	5,40	0,8	5,53	0,35	5,45	0	5,51	1,0	5,77	0	5,51	0,44	5,84	0	5,51	0,10	5,70	0
6,33	15,0	5,76	232,0	6,24	0,1	5,81	0	6,24	370,0	6,46	2750,0	6,24	70,0	6,42	135,0	6,24	0,8	6,45	слились
6,81	12,0	6,70	3,0	6,77	160,0	6,77	200,0	6,85	0	6,97	слились	6,85	0,52	7,00	слились	6,85	0,28	6,79	1,0
7,23	6,0	7,03	0	7,30	154,0	6,98	1400,0	7,39	0,01	7,51	0	7,39	0	7,52	0	7,30	0	7,45	0
7,47	0,4	7,41	0	7,56	0	7,48	0	8,21	0	8,44	0	8,21	0	8,41	0	8,21	0	8,45	0
8,13	0	8,12	0	8,09	0	8,10	0	8,62	0	8,75	0	8,62	0	8,72	0	8,62	0	8,72	0
8,32	0,04	8,36	0	8,39	0	8,33	0	9,10	0	9,08	0	9,10	0	9,00	0	9,10	0	8,83	0

Таблица 6
Влияние pH среды на рост азотобактера, выделенного из горно-луговых почв. Количество азотобактера в тысячах в 1 мл

№ 22, pH почвы 6,24			№ 21, pH почвы 6,24			№ 20, pH почвы 6,24			№ 23			№ 24, pH почвы 6,24		
1 сутки		5 суток	1 сутки		5 суток	1 сутки		5 суток	1 сутки		5 суток	1 сутки		5 суток
pH	количество	pH	pH	количество	pH	pH	количество	pH	pH	количество	pH	pH	количество	pH
4,94	0,53	4,96	4,83	0	4,65	4,84	0	4,80	4,84	0	4,75	5,03	0	4,88
4,94	слились	4,88	0,2	4,94	4,75	5,00	0	5,22	5,00	0	5,12	5,03	0	4,93
5,40	слились	5,10	0,22	5,13	5,07	5,51	2,0	5,79	5,51	0	5,63	5,18	0,4	5,24
5,93	500,0	6,11	250,0	5,93	340,0	5,88	1360,0	6,24	6,24	105,0	6,48	5,93	1420,0	5,69
6,74	392,0	6,47	98,0	6,74	182,0	6,71	360,0	6,85	6,85	132,0	7,04	6,81	1300,0	6,49
7,16	49,0	7,12	1680,0	7,25	6,0	7,21	0	7,59	7,39	0,3	7,49	7,18	560,0	6,89
7,49	13,0	7,24	0	7,45	0	8,21	0	8,34	8,21	0,07	8,39	7,52	240,0	7,24
8,07	0,177	8,06	0	8,13	0	8,62	0	8,58	8,62	0,02	8,72	8,21	0	8,12
8,34	0,033	8,36	0	8,38	0,88	9,10	0	8,93	9,10	0	8,93	8,39	0,06	8,36

В условиях настоящего опыта азотобактер не размножается также при щелочных реакциях от pH 7,3 и выше. Однако среди культур, выделенных из бурых и каштановых почв, есть такие (№ 2, 6, 8, 11, 12), которые размножаются при pH 7,4 до 8,0 и почти не понижают значения pH среды, тогда как азотобактеры, выделенные из черноземов и горно-луговых почв, если и растут при pH 7,3, то сами значительно понижают реакцию среды (№ 18 и 24).

Таким образом, отмечается некоторая адаптация азотобактера, выделенного из слабощелочных и щелочных почв, к щелочной среде. А культуры, выделенные из кислых и слабокислых почв, такого приспособительного свойства не выявили к кислой реакции. Может быть, это объяснимо тем, что вообще азотобактер более склонен к росту при нейтральной и щелочной реакции и очень чувствителен к кислотности, не считая, конечно, кислотоустойчивых видов.

Для того чтобы проверить, сохраняются ли клетки азотобактера в вариантах с кислой и щелочной средой, где они не росли в течение опыта, мы пересекали их из опытных пробирок на агаризованную обычную среду Эшби месяц и полтора месяца спустя после закладки опыта. Наблюдения показали, что если азотобактер на десятые сутки в вариантах основного опыта не давал роста или его количество уменьшалось по сравнению с предыдущими сроками, то он терял свою жизнеспособность и на агаризованной среде Эшби роста не давал. В тех же вариантах, примерно от pH 6,1 до 7,1, где азотобактер размножался в увеличивающемся количестве по срокам анализа, при пересеве на агаризованную среду он давал хороший и богатый рост.

Ввиду того, что в нашем исследовании рост азотобактера был довольно скудным и пределы pH для развития очень узки, возникло некоторое сомнение в возможности отрицательного действия смеси фосфатных буферов, примененных без разбавлений. Поэтому опыт был повторен с восьмью культурами азотобактера с присоединением к ним двух культур № 25 и 26, выделенных из щелочной почвы

Арташата (Арташатская долина) и кислой почвы Ленкорани Азербайджанской ССР (табл. 2).

Среды с разными рН приготовлены с расчетом половинной концентрации компонентов фосфатных буферов, а компоненты среды Эшби были взяты полностью на всю среду. Количество азотобактера учитывалось через 1, 5, 10 и 19 суток после заражения сред, а рН определялся в контрольных средах на 5-е и 10-е сутки в испытуемых средах потенциометром ЛП-5 со стеклянным электродом. Наряду с исследованными вариантами сред с различными значениями рН, для каждой культуры азотобактера была использована также обычная среда Эшби (табл. 8 и 7).

Сопоставляя данные табл. 8 и 7 с предыдущими, видим, что количество азотобактера в последнем опыте вообще намного выше. Безусловно, вдвойне разбавленные фосфатные буферные смеси способствовали лучшему размножению азотобактера. Однако основные закономерности сохраняются и в данном случае. Так, при рН до 6,0 азотобактер размножаться не может, он сохраняется в некотором количестве в первые сутки, но затем, по-видимому, погибает. То же наблюдается и в отношении щелочной реакции. Несмотря на то, что азотобактер местами размножается даже при рН 8,0—8,3, здесь количество его значительно ниже, чем в вариантах от слабокислой до слабощелочной реакции среды. Сказанное хорошо заметно в первые сутки роста азотобактера. На пятые сутки количество его сильно увеличивается благодаря тому, что рН среды значительно понижается азотобактером, особенно в вариантах рН 7,3 и выше.

Наши данные вполне подтверждают выводы Работной и Блинкова о том, что чем выше значение рН, тем сильнее оно понижается азотобактером, приспосабливая к своим потребностям, несмотря на наличие в среде буферных смесей.

Хорошо заметны адаптивные свойства двух свежewedенных культур (№ 25 и 26) в отношении реакции среды. Они выделены из почв в 1958—1959 гг. и применены в опыте в 1959 г.

Влияние pH среды на рост азотобактера.

Из каштановых почв								Из черноземов			
№ 8, pH почвы 6,28				№ 9, pH почвы 7,18				№ 16, pH почвы 6,24			
1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток	
pH контроль	количество	pH	количество	pH контроль	количество	pH	количество	pH контроль	количество	pH	количество
5,15	0,03	5,56	0	5,49	2,8	5,75	0	5,15	0,17	5,41	0
5,26	0,22	5,52	0	5,42	3,25	5,62	0	5,26	3,0	5,55	0
5,89	0,36	5,89	0	5,89	3,6	5,75	0	5,89	14,0	5,81	0
6,34	66,0	6,32	9200,0	6,41	41,8	6,24	2120,0	6,34	39,6	5,90	1200,0
6,89	5,2	6,74	12550,0	6,96	556,0	6,64	3050,0	6,89	18,4	6,30	1536,0
7,30	3,0	7,14	11130,0	7,34	506,0	7,01	2310,0	7,30	82,6	7,21	1603,0
7,58	0,06	7,31	235,6	7,66	71,4	7,12	1340,0	7,58	1,0	7,10	слились
7,80	0	7,23	0	7,86	45,0	7,30	1030,0	7,80	0,4	7,21	слились
8,15	0,18	7,81	0	8,34	30,0	7,39	1184,0	8,15	0,73	7,51	0
Эшби обычн.											
8,30	2140,0	7,07	4100,0	8,38	1140,0	6,84	6880,0	8,30	760,0	7,10	5760,0

Культура 25, выделенная из щелочной бурой почвы с pH 8,1, в первые же сутки сильно размножается и даже при pH 8,34 количество ее доходит до 209 тысяч, тогда как другие культуры из щелочных почв своими показателями значительно отстают от культуры 25. Вторая культура, выделенная из кислой почвы Ленкорани (№ 26) с pH 4,9, в первые сутки лучше сохранила количество клеток при кислых средах и при pH 5,89 количество ее составляло 77 тысяч, тогда как у других культур из кислых почв в тех же условиях количество азотобактера в лучшем случае достигало 14 тысяч. В сторону же щелочных реакций количество клеток этой культуры заметно падает.

Посев всех исследованных культур на обычную жидкую среду Эшби с мелом показал, что эта среда, безусловно, наиболее подходящая для роста и размножения азото-

Таблица 7

Количество азотобактера в тысячах в 1 мл

выщелоченных				Из горно-луговых почв							
№ 17, рН почвы 6,23				№ 24, рН почвы кислая				№ 26, рН почвы 4,91			
1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток		1 сутки		5 суток	
рН	количество	рН	количество	рН	количество	рН	количество	рН	количество	рН	количество
5,49	1,2	6,01	0	5,15	0	5,51	0	5,49	8,31	5,71	0
5,42	3,21	5,73	0	5,26	0,11	5,61	0	5,42	4,03	5,50	0
5,89	слились	5,86	0	5,89	0,9	5,87	0	5,89	77,6	5,65	0,24
6,41	50,0	6,20	3580,0	6,34	121,6	5,98	1414,0	6,41	92,0	6,12	1640,0
6,96	622,0	6,66	4930,0	6,89	164,0	6,65	3520,0	6,96	144,0	6,08	2120,0
7,34	536,0	6,88	3160,0	7,30	166,0	6,95	720,0	7,34	586,0	6,80	4600,0
7,66	102,0	7,08	856,0	7,58	91,2	7,14	468,0	7,66	47,8	6,92	1250,0
7,86	107,0	7,06	776,0	7,80	0,35	7,45	240,0	7,86	51,6	6,95	826,0
8,34	21,0	7,11	1100,0	8,15	0,26	7,78	7,4	8,34	14,8	7,06	760,0
8,38	960,0	6,96	5090,0	8,30	1500,0	7,12	11200,0	8,38	1160,0	7,06	2490,0

бактера сравнительно со средами, приготовленными на фосфатных буферных смесях.

Исследовались окрашенные препараты, приготовленные из всех вариантов опыта в сроки их анализов. Готовились также препараты с агаризованных сред тех же вариантов с соответствующими значениями рН.

Микроскопические изучения показали, что в опытных жидких средах с кислой реакцией, где азотобактер не развивался, внесенные клетки измельчались, становились ячеистыми и обнаруживались в ничтожном количестве. В вариантах, где азотобактер размножался хорошо, он имел однородную палочковидную или кокковидную форму, часто наблюдались ячеистые и крупные шаровидные клетки. В щелочных средах бактериальная сеть большей частью бывала грубой и темноокрашенной, однородные клетки также темноокрашенные. Вообще клетки азотобактера в опытных ва-

риантах по форме, величине и окрашенности отличались от клеток со среды обычного Эшби.

На агаризованных средах часть культур почти не выросла, другая часть дала довольно хороший рост, но клетки азотобактера почти всюду деформировались и сильно отличались от клеток с агаризованной обычной средой Эшби.

В ы в о д ы

1. Азотобактеры, выделенные из разных типов почв Армении, проявляли адаптивные свойства к различным условиям активной кислотности среды. Культуры, выделенные из слабощелочных почв, в ряде случаев лучше сохранялись и размножались при щелочных реакциях.

В условиях кислой среды азотобактеры не проявили приспособительных свойств, независимо от их происхождения, кроме культуры № 26, свежевыделенной из почвы с рН 4,9. По всей вероятности, это объясняется чувствительностью азотобактера к кислой среде.

2. Фосфатные буферные смеси в неразбавленном виде задерживают развитие азотобактера. Вдвойне разбавленные буферные смеси значительно более благоприятны для роста и размножения азотобактера. Однако в обоих случаях закономерности в отношении выявления приспособленности азотобактера к той или иной активной кислотности среды почти одинаковы.

3. Азотобактеры вообще не размножаются в кислой среде до рН 5,8; они в некоторой степени сохраняются в этой среде сутки, затем, сильно уменьшаясь в количестве, погибают. В условиях настоящего опыта оптимальными значениями рН для размножения азотобактера являются рН 6,1—7,1, иногда 7,3. Выше этого значения рН при щелочных реакциях азотобактеры не размножаются, кроме некоторых культур, выделенных из щелочных и слабощелочных почв, хорошо размножающихся даже при рН 8,0,

Ա. Վ. ԿԻՐԱԿՈՍՅԱՆ, Ժ. Ս. ՄԵԼԿՈՆՅԱՆ, Զ. Գ. ԱՆԱՆՅԱՆ

ՄԻՋԱՎԱՅՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՉՈՏՈՐԱԿՏԵՐԻ ԷԿՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԶԵՎԵՐԻ ԶԱՐԳԱՅՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Աշխատության նպատակն է եղել պարզել, թե տարբեր հողա-
կլիմայական պայմաններից, մեկուսացված ազոտաբակտերների
էկոլոգիական ձևերն ինչպիսի՞ վերաբերմունք ունեն սննդամիջա-
վայրի pH-ի տարբեր թվերի նկատմամբ և հարմարված են ար-
դյոք իրենց զարգացման բնական պայմանների pH-ին:

Այդ նպատակի համար ուսումնասիրվել են գորշ, շագանակա-
գույն լեռնամարգագետնային հողերից և սևահողերից մեկուսաց-
ված ազոտաբակտերները: Հետազոտությունները կատարվել են
էշերիի հեղուկ միջավայրում, pH-ի տարբեր ցուցանիշներն ստացվել
են ֆոսֆորային բուֆերների օգնությամբ:

Ստացված տվյալներից կարելի է անել հետևյալ եզրակացու-
թյունները՝

1. Տարբեր հողերից մեկուսացված ազոտաբակտերները ցուցա-
բերում են հարմարվելու ունակություն միջավայրի ռեակցիայի
նկատմամբ: Հիմնային հողերից մեկուսացված ազոտաբակտերները
ավելի լավ են զարգանում ու բազմանում հիմնային միջավայրում:
Թթվային միջավայրի նկատմամբ այդպիսի հարմարվածություն,
ընդհանուր առմամբ, չի նկատվում: Թերևս այդ պետք է բացատրել
ներանով, որ առհասարակ ազոտաբակտերները շատ զգայուն են
թթու միջավայրի նկատմամբ:

2. Ֆոսֆորային բուֆերային միացությունները, առանց նոս-
րացման օգտագործելու դեպքում ճնշում են ազոտաբակտերների
աճեցողությունը, նրանց կրկնակի նոսրացման դեպքում ազոտա-
բակտերները լավ են զարգանում: Սակայն երկու դեպքում էլ ազո-
տաբակտերների զարգացման օրինաչափությունը մնում են նույնը:

3. Տվյալ փորձի պայմաններում ազոտաբակտերները չեն զար-
գանում ու բազմանում, երբ միջավայրի թթվությունը, $\text{pH}=6,6$ -ից
ցածր է, $\text{pH}=5,6$ -ի դեպքում նրանք որոշ չափով պահպանվում են
մեկ օր և ապա ոչնչանում: Օպտիմալ ռեակցիան այս փորձում մո-
տավորապես պիտի համարել $\text{pH } 6,1-7,1$, երբեմն՝ $7,3$: $\text{pH } 7,3$ -ից բարձր՝ հիմնային միջավայրում ազոտաբակտերները չեն

բազմաճանր, բացի հիմնային և թույլ հիմնային հողերից մեկուսացված մի քանի կուլտուրաներից, որոնք լավ են բազմաճանր նույնիսկ pH 8,0 միջավայրում:

A. V. Kirakossian, D. S. Melkonian, L. G. Ananian

The effect of pH on the development of ecological forms of *Azotobacter chroococcum*

S u m m a r y

The investigation of *Azotobacter*, isolated from gray, brown, mountainous meadow soils and chernozems having different values of pH showed that:

1. *Azotobacter*, isolated from soils which have an alkaline reaction, develop better in the alkaline medium. *Azotobacter* do not show adaption properties to an acid medium.

2. Phosphate buffer solutions which are not dilute, repress the growth of *Azotobacter*, but when the dilution is double, *Azotobacter* begin to develop well.

3. *Azotobacter* do not develop when the pH medium is lower than 6.0. The optimum pH for *Azotobacter* is equal to 6.1—7.1 and sometimes 7.3. In case of high pH again they do not develop. However, certain *Azotobacter* isolated from alkaline and weak alkaline soils can multiply in a medium with pH 8.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Блинков Г. Н. 1948. Влияние реакции среды на интенсивность азотфиксации и рост азотобактера. „Микробиология“, т. XXII, в. 1, стр. 49.
- Блинков Г. Н. 1951. Рост азотобактера и азотфиксация в условиях кислой и щелочной среды. „Микробиология“, т. XX, в. 4, стр. 330.
- Блинков Г. Н. 1953. Органические кислоты как продукты углеводного обмена азотобактера. „Микробиология“, т. XXII, в. 1, стр. 49.
- Мишустин Е. Н. и Семенович М. И. 1939. Почвенная кислотность как фактор, определяющий появление в почве неактивного азотобактера. „Микробиология“, т. VIII, в. 1, стр. 19.
- Мишустин Е. Н. и Бахарева З. И. 1939а. Почвенная кислотность как фактор, определяющий появление в почве неактивного азотобактера. „Микробиология“, т. VIII, в. 9-10, стр. 1063.

- Мишустина Е. Н. 1947. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. Изд-во АН СССР.
- Петросян А. П., Навасардян А. Г. 1957. Предельные значения pH развития различных экотипов клубеньковых бактерий. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, в. III (IX) стр. 83.
- Работнова И. Л. 1957. Роль физико-химических условий (pH и rH_2) в жизнедеятельности микроорганизмов. Изд-во АН СССР.
- Федоров М. В. 1947. Влияние среды на усвоение атмосферного азота азотобактером. „Советская агрономия“, 5, стр. 40.
- Федоров М. В. 1952. Биологическая фиксация азота атмосферы. Сельхозгиз.
- Федоров М. В. и Калининская Т. А. 1956. Влияние различных факторов внешней среды на азотфиксирующую активность *Azotomonas fluorescens*. „Микробиология“, т. XXV, в. 6, стр. 690.
- Burk D., Lineweaver H. and Horner C. 1934. The specific influence of acidity on the mechanism of nitrogen fixation by *Azotobacter*. „J. of Bact.“, v. 27, № 4, p. 325.