

Ա. Է. Կիրակոսյան, Ջ. Տ. Մելկոնյան, Մ. Մ. Կարապետյան, Մ. Բ. Տարկոսյան,
Յ. Ա. Օսեթյան, Տ. Խ. Կապալցյան

Биосинтез витаминов группы В разными видами азотобактера

За последние десятилетия работами многих исследователей установлено, что витамины благоприятно влияют на рост, развитие и урожайность растений (Овчаров, 1953; Чайлахян, 1959; Воннер, 1937 и др.). Растения сами синтезируют витамины в достаточном количестве, однако в определенных условиях и периодах развития они нуждаются в дополнительных количествах поступающих извне витаминов. Работами Шавловского (1954), Красильникова (1962), Гебгардт (1961) и др. показана роль почвенных микроорганизмов, синтезирующих различные витамины и другие ростовые вещества, в развитии растений и повышении их урожайности.

Среди почвенных микроорганизмов особого внимания заслуживает культура азотобактера, фиксирующая атмосферный азот и синтезирующая физиологически активные вещества.

Имеется много исследований (Jones a. Greaves, 1943; Lee a. Burris, 1943; Зиновьева, 1962; Багдасарян, 1965; Ключникова, 1966 и др.), посвященных вопросу биосинтеза витаминов группы В культурами азотобактера. На основании изучений они пришли к выводу, что интенсивность биосинтеза ростовых веществ азотобактером зависит от свойств отдельных штаммов и не может считаться видовым признаком.

Однако при всех исследованиях, в основном, были использованы 1—2 штамма каждого вида; количество их редко превышало 3—5 штаммов.

В связи с изучением экологии азотобактеров, выделенных из почв Армении, в Институте микробиологии АН АрмССР собралась большая коллекция культур разных видов азотобактера. За последние годы проводились исследования по классификации местных штаммов *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter agile*, *Azotobacter nigricans*, слабопигментирован-

ных и беспигментных штаммов. В настоящее время последние изучаются для выяснения их видовой принадлежности.

С целью классификации, а также отбора физиологически активных культур азотобактера для применения на производстве изучены свойства штаммов азотобактера по биосинтезу витаминов группы В. Из каждой группы этих штаммов исследовано по 25—30 и более штаммов. Местные штаммы *Az. vinelandii* не были выделены, поэтому изучено семь коллекционных штаммов. Из витаминов группы В изучены биотин, тиамин, B_{12} , рибофлавин, пиридоксин, пантотеновая и никотиновая кислоты.

Витамин B_{12} определялся по Букину, Арешкиной, Куцевой (1954), с применением индикаторной культуры *Bact. coli* 113—3. Рибофлавин определялся флуорометрически (Поволоцкая, Зайцева и Скоробогатова, 1955).

Основные принципы определения остальных витаминов изложены у Одинцовой (1959) с некоторыми видоизменениями, внесенными нами в ходе работ. Эти изменения относятся к количеству взятых витаминов в питательной среде Ридер и количеству среды в опытных пробирках. Индикаторными культурами для биотина и тиамина служили дрожжи *Endomycetes magnusii*, для пиридоксина и пантотеновой кислоты—*Saccharomycodes Ludwigii*, для никотиновой кислоты—*Zigosaccharomycodes marxianus*. На 100 мл среды добавлялось: биотин—0,025 γ, а остальных витаминов по 100 γ. В рабочем растворе, для стандартного ряда содержалось биотин—0,001 γ/мл, витамина B_{12} —0,0001 γ/мл, а остальных витаминов 0,02 γ/мл. Количество витаминов определялось по интенсивности роста микроорганизмов на фотоэлектроколориметре (модель ФЭК-М).

Изучено влияние различных факторов на интенсивность биосинтеза витаминов: сроков культивирования, разных источников энергии и различных сред, pH среды и температурных условий. Результаты исследований по биосинтезу витаминов для биотина, тиамина, пиридоксина, никотиновой и пантотеновой кислот обобщены ввиду общности методики их определения. О рибофлавине и витамине B_{12} будет сказано ниже.

Для установления сроков максимального накопления витаминов из каждой группы азотобактеров испытано по четыре штамма, культивированы они при температуре 26–28°C. на жидкой среде Эшби с добавлением следов соли молибдена (0,1% из 0,5%-ного раствора молибденовкислого аммония).

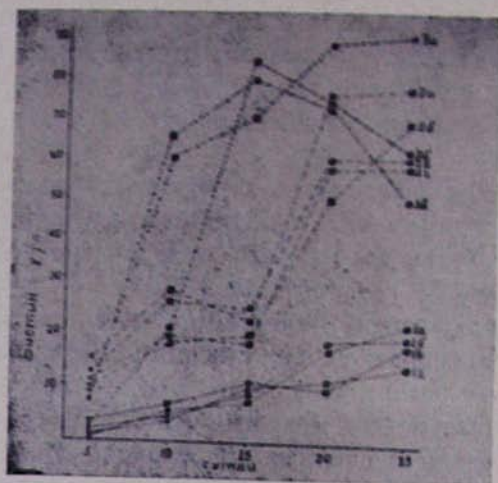


Рис. 1. Биосинтез биотина в разные сроки культивирования:

1а—*Az. agile* 149, 1с—*Az. agile* 28, 1в—*Az. agile* 2, 1г—*Az. agile* 141;

2а—*Az. chroococcum* 282, 2с—*Az. chroococcum* 164, 2в—*Az. chroococcum* 159, 2г—*Az. chroococcum* 250;

3а—*Az. nigricans* 74, 3б—*Az. nigricans* 103, 3в—*Az. nigricans* 79.

Из полученных результатов (рис. 1, 2 и табл. I) видно, что биосинтез витаминов на пятые сутки незначительный. В большинстве случаев, лучшими сроками накопления витаминов следует считать пятнадцатые сутки, а иногда десятые. Однако, бывают случаи, когда витамины продолжают накапливаться и на 20–25-е сутки.

Штаммы *Az. agile* отличаются тем, что они биотин и тиамин синтезируют в значительно меньшем количестве, чем

штаммы других групп, а пантотеновую кислоту, наоборот, синтезируют в большем количестве. По синтезу биотина более активны штаммы *Az. nigricans*.

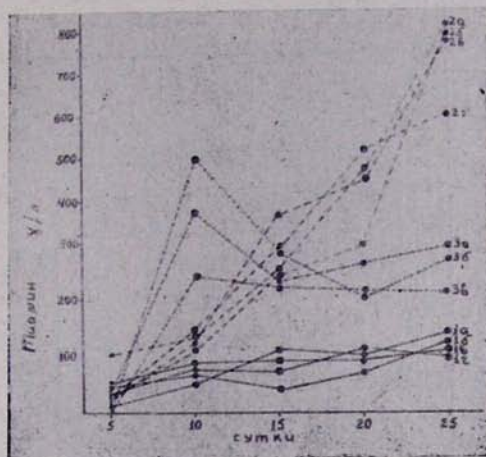


Рис. 2. Биосинтез тиамин в разные сроки культивирования:

1a—*Az. agile* 141, 1б—*Az. agile* 2, 1в—*Az. agile* 149, 1г—*Az. agile* 28.

2a—*Az. chroococcum* 282, 2б—*Az. chroococcum* 250, 2в—*Az. chroococcum* 159, 2г—*Az. chroococcum* 164.

3a—*Az. nigricans* 74, 3б—*Az. nigricans* 79, 3в—*Az. nigricans* 103.

Влияние состава среды на витаминообразование испытано нами примерно на двадцати различных средах с добавлением веществ белкового происхождения, неорганических азотистых соединений, автолизата дрожжей, кукурузного экстракта, автолизата штамма *Vac. megaterium*, синтезирующего в значительных количествах витамин В₁₂, чистых витаминов—В₁₂, тиамин, биотин и т. д. Отобранные данные по интенсивности биосинтеза витаминов, характерные как для отдельных витаминов, так и групп азотобактеров, приведены на диаграммах (рис. 3, 4).

Таблица 1

Накопление витаминов в зависимости от срока культивирования азотобактера (количество витаминов в γ/λ)

Виды азотобактера	№ штаммов	Пантотеновая кислота			Пиридоксин			Никотиновая кислота		
		5-е сутки	10-е сутки	15-е сутки	5-е сутки	10-е сутки	15-е сутки	5-е сутки	10-е сутки	15-е сутки
<i>Az. agilis</i>	2	40	112	188	180	200	600	530	720	910
	56	15	127	100	60	411	656	250	730	1000
	78	0	158	95	90	346	856	287	1100	1100
	140	0	143	410	185	550	760	800	1070	1290
<i>Az. chroococcum</i>	32	0	0	0	230	545	880	340	460	720
	165	0	0	0	110	506	600	300	1450	1420
	247	0	0	30	221	221	290	510	1000	1000
	251	0	23	21	100	600	530	170	1190	1400
<i>Az. nigricans</i>	7	0	0	43	110	260	180	110	520	710
	15	0	0	0	110	262	200	400	990	1030
	33	0	0	0	90	550	710	270	430	920
	50	0	36	0	90	352	410	—	720	750

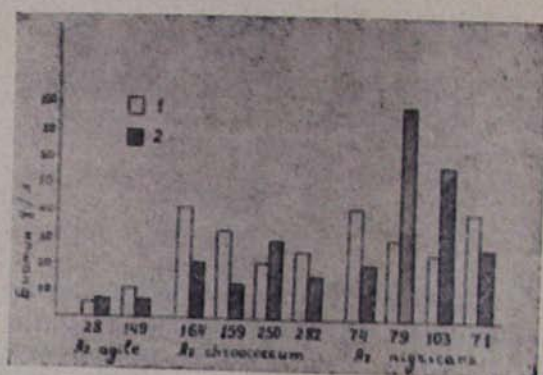


Рис. 3. Синтез биотина культурами азотобактера на разных средах:

1—Эшби с 0,01% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2—Эшби с 0,1% автолизатом *Bac. megaterium*

Интенсивность синтеза биотина на двух средах почти одинакова для штаммов *Az. chroococcum* и *Az. nigricans*, за исключением двух штаммов последней группы. Штаммы *Az.*

agile по синтезу биотина и тиамин малоактивны. По тиамину активны на обеих средах штаммы *Az. chroococcum*.

За некоторыми исключениями среда Виноградского с глюкозой для биосинтеза пиридоксина, пантотеновой и нико-

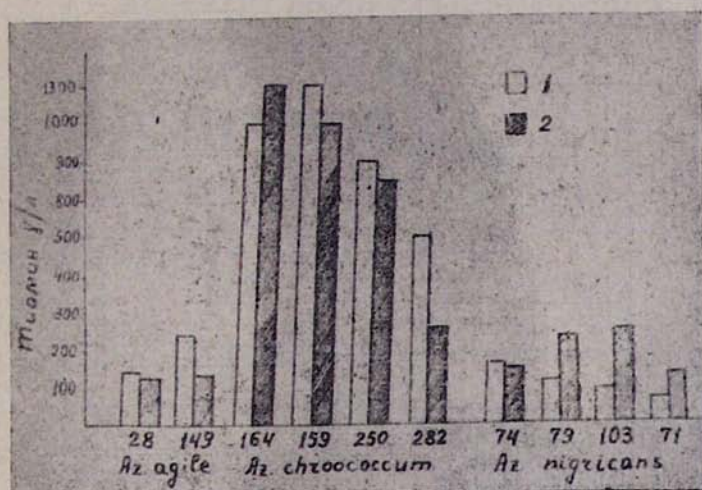


Рис. 4. Синтез тиамин культурами азотобактера на разных средах:

1—Эшби с 0,01% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

2—Эшби с 0,1% автолизатом *Bac. megaterium*

тиновой кислот оказалась значительно лучше среды Эшби (табл. 2). На образование никотиновой кислоты особенно положительно сказалось добавление к среде кукурузного экстракта и автолизата дрожжей, в то же время кукурузный экстракт в большинстве случаев подавлял синтез пантотеновой кислоты. Биосинтез пиридоксина и никотиновой кислоты почти с одинаковой интенсивностью протекал у всех изученных групп азотобактера, в том числе и *Az. vinelandii*. Добавление к среде 5% мелассы (с 1% глюкозой) примерно в 10 раз увеличивало количество никотиновой кислоты у *Az. chroococcum* и *Az. agile*, меньше влияло на синтез пиридоксина и еще меньше на пантотеновую кислоту. Штаммы *Az. nigricans* на присутствие мелассы в среде не реагировали.

Данные по влиянию источников энергии на биосинтез пяти витаминов группы В приведены в табл. 3.

Влияние различных источников энергии на биосинтез витаминов культурами азотобактера (количество витаминов в γ/λ)

Виды азотобактера	Штаммы	Тиамин		Биотин		Пантотеновая кислота			Пиридоксин			Никотиновая кислота		
		глюкоза	сахароза	глюкоза	сахароза	глю-коза	сахароза	ман-нит	глю-коза	сахароза	ман-нит	глю-коза	сахароза	ман-нит
Az. agile	2	—	—	—	—	330	222	145	90	650	—	624	680	1025
	28	135	177	9,2	7,3	320	170	36	810	820	280	974	1145	1160
	149	102	124	7,1	7,5	400	210	102	830	685	300	909	1195	1100
Az. chroococcum	164	710	380	55	35	53	234	52	110	390	1670	1064	1780	2100
	159	500	250	48	41	180	31	0	102	845	1840	889	1250	1750
	250	440	303	32	18	40	184	0	117	820	1640	1024	1190	1635
Az. nigricans	74	465	62	16,2	29	0	0	0	1800	127	0	1764	705	0
	79	135	100	63	45	0	0	0	220	96	0	222	242	0
	103	357	70	137	16	0	16	0	530	263	0	956	810	0
Az. vinelandii	ИНМИ	—	—	—	—	0	0	0	1020	2040	930	1184	1225	1775
	Н-1	—	—	—	—	50	0	32	1200	2100	960	1539	1540	1860
	(Минск)	—	—	—	—	95	19	60	1200	1160	685	1449	2060	1800
	2сух. (Грузия)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. Основная среда для тиамина и биотина—среда Эшби, для остальных витаминов—Виноградского.

По синтезу биотина и тиамина для штаммов *Az. chroococcum* и *Az. nigricans* лучшей из сахаров явилась глюкоза. Штаммы *Az. agile* на различные сахара почти не реагировали, а эти два витамина синтезировали в малом количестве. Биосинтез пантотеновой кислоты слабее всех проходил на среде с маннитом. Как и в других случаях, штаммы *Az. agile* синтезировали пантотеновую кислоту в большем количестве, чем остальные азотобактеры, и с большей интенсивностью на среде с глюкозой. Синтез пиридоксина и никотиновой кислоты у *Az. chroococcum* значительно интенсивнее протекал на среде с маннитом.

Штаммы *Az. agile* также энергично синтезируют никотиновую кислоту на манните. Заметно и то, что *Az. nigricans* на манните не синтезирует витамины.

Из литературных данных известно, что рН среды сильно влияет на физиологические процессы у азотобактера, в том числе на азотфиксирующую способность и биосинтез ростовых веществ.

Нами исследовано влияние рН—6,37—7,38—8,50 на витаминнообразование. Для получения данных рН, к среде Эшби в соответствующих количествах добавлялись соли фосфатных буферов (Белозерский и Проскуряков, 1951).

Из сред был исключен мел и заменен 0,01% CaCl_2 . Контролем служила обычная среда Эшби без фосфатных буферов. Испытаны по три штамма четырех групп азотобактера, которые культивировались в течение 15 суток при 26—28°C. Результаты этих работ в статье в виде таблиц не приводятся, так как отсутствие мела и добавление к среде значительных количеств солей фосфатных буферов имело решающее значение и подавило рост и развитие азотобактера, следовательно и физиологические процессы. Среди четырех групп азотобактера более стойкими к забуференным средам оказались культуры *Az. vinelandii*. Однако в литературе описаны случаи культивирования азотобактера на забуференных средах в течение 1—2 месяцев с положительными результатами.

Влияние различных температур на витаминнообразование показано на рис. 5 и 6 и в табл. 4. Использована среда Вино-

градского с глюкозой. По представленным экспериментальным данным видно, что температурный фактор небезразличен для биосинтеза витаминов. Температуры 17—20°C для развития азотобактера и биосинтеза витаминов мало благоприятны. Для штаммов всех групп азотобактера оптимальной температурой для накопления пиридоксина и никотиновой кислоты является 30°C, а для биотина и пантотеновой кислоты—26—27°, кроме штаммов *Az. agile*, которые синтезируют пос-

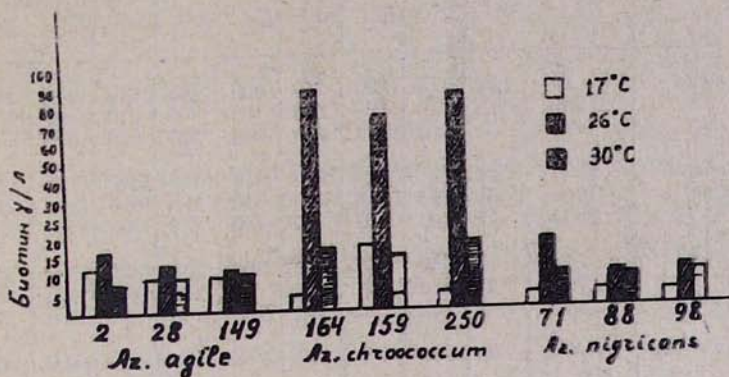


Рис. 5. Влияние температуры на синтез биотина.

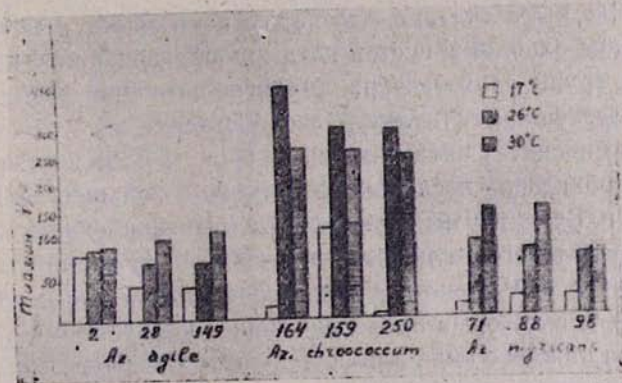


Рис. 6. Влияние температуры на синтез тиамина.

ледний витамин при температуре 30°C. Оптимальным для синтеза тиамина у штаммов *Az. chroococcum* является температура 26°C, у штаммов же *Az. agile* и *Az. nigricans*—30°C.

Таблица 4
Влияние температуры на биосинтез витаминов азотобактером
(количество витаминов в $\gamma/\text{л}$)

Виды	Штаммы	Пантотеновая кислота			Пиридоксин			Никотиновая кислота		
		20°C	27°C	30°C	20°C	27°C	30°C	20°C	27°C	30°C
<i>Az. agile</i>	2	138	175	200	170	250	366	910	1000	1360
	28	63	70	191	200	166	360	610	890	1300
	149	75	162	200	450	356	520	630	1060	1490
<i>Az. chroococcum</i>	159	28	187	100	350	210	440	1000	1150	1400
	164	35	97	60	355	310	490	1050	1200	1700
	250	40	60	0	190	180	380	700	1000	1550
<i>Az. nigricans</i>	74	0	80	65	301	290	500	1320	1280	2240
	79	0	90	0	80	50	130	240	230	366
	103	0	62	0	102	160	230	320	1470	1530
<i>Az. vinelandii</i>	ИНМИ	0	210	110	370	260	400	1540	1750	2000
	Н-1	0	70	36	380	266	500	1600	1760	2320
	Минск 2 сух (Грузия)	0	41	21	—	300	510	1100	1760	1890

Выше было сказано, что целью настоящей работы было выявление закономерностей витаминнообразования у штаммов разных групп азотобактера для использования этих данных при классификации культур азотобактера.

На биосинтез пяти витаминов группы В из каждой группы азотобактеров исследовано возможно большее количество штаммов. Все штаммы азотобактера культивировались на среде Виноградского с глюкозой в течение 15 суток при температуре 26—28°C. Результаты этих исследований представлены в табл. 5—9, в которых приведено общее количество изученных штаммов каждого вида или группы азотобактера. Затем количество штаммов, соответственно количеству накопленного витамина в определенных пределах, распределено по графам. По биосинтезу биотина и тиамин (табл. 5 и 6) наиболее активно

Таблица 5
Биосинтез биотина штаммами разных видов азотобактера
(количество биотина в γ/λ)

Виды азотобактера	Всего изучено штаммов	Из них синтезируют биотин в пределах			
		10—20	20—40	40—90	90—120
<i>Az. agile</i>	30	11	14	5	—
<i>Az. chroococcum</i>	25	—	8	8	9
<i>Az. nigricans</i>	20	—	4	13	3

Таблица 6
Биосинтез тиаминa штаммами разных видов азотобактера
(количество тиаминa в γ/λ)

Виды азотобактера	Всего изучено штаммов	Из них синтезируют тиамин в пределах				
		300—100	100—200	200—300	200—400	400—630
<i>Az. agile</i>	30	18	12	—	—	—
<i>Az. chroococcum</i>	25	—	8	11	—	6
<i>Az. nigricans</i>	20	4	13	3	—	—

большинство штаммов *Az. chroococcum*, а *Az. agile* в основном образуют самые малые количества этих витаминов. В данном случае по интенсивности витаминообразования среднее место занимают культуры *Az. nigricans*, хотя среди них имеются единичные активные штаммы.

Штаммы *Az. agile* от остальных изученных групп азотобактеров отличаются тем, что все штаммы этого вида синтезируют наибольшее количество пантотеновой кислоты (табл. 7). У многих штаммов других групп пантотеновая кислота не была обнаружена, а штаммы *Az. nigricans* в своем большинстве (17 из 28) не образуют ее.

Особых закономерностей по биосинтезу пиридоксина и никотиновой кислоты (табл. 8 и 9) не наблюдается, следует лишь отметить, что некоторые штаммы *Az. agile* синтезируют

Таблица 7

Биосинтез пантотеновой кислоты штаммами разных видов азотобактера (количество витамина в γ/λ)

Виды азотобактера	Всего изучено штаммов	Из них синтезируют пантотеновую кислоту в пределах						
		0	10-100	30-100	100-200	200-400	400-600	600-900
<i>Az. agile</i>	25	—	—	—	—	6	9	8
<i>Az. chroococcum</i>	27	10	13	—	4	—	—	—
<i>Az. nigricans</i>	28	17	—	5	6	—	—	—
<i>Az. vinelandii</i>	7	—	—	3	4	—	—	—
Слабопигментированные и беспигментные	22	9	—	6	—	7	—	—

Таблица 8

Биосинтез пиридоксина штаммами разных видов азотобактера (количество пиридоксина в γ/λ)

Виды азотобактера	Всего изучено штаммов	Из них синтезируют пиридоксин в пределах					
		200-300	200-400	300-500	500-800	500-1000	700-1000
<i>Az. agile</i>	25	8	10	—	7	—	—
<i>Az. chroococcum</i>	28	3	12	13	—	—	—
<i>Az. nigricans</i>	28	—	9	—	9	—	10
<i>Az. vinelandii</i>	7	1	—	—	—	6	—
Слабопигментированные и беспигментные	22	3	8	—	11	—	—

Таблица 9

Биосинтез никотиновой кислоты штаммами разных видов азотобактера
(количество витамина в $\gamma/\text{л}$)

Виды азотобактера	Всего изучено штаммов	Из них синтезируют никотиновую кислоту в пределах						
		400—700	400—1000	700—900	900—1300	1000—2000	1500—2000	2000—2500
<i>Az. agile</i>	25	6	—	9	10	—	—	—
<i>Az. chroococcum</i>	28	—	—	7	—	16	—	5
<i>Az. nigricans</i>	28	—	10	—	11	—	7	—
<i>Az. vinelandii</i>	7	—	—	—	—	—	7	—
Слабопигментированные и беспигментные	22	—	8	—	—	14	—	—

самые малые количества этих витаминов, а у остальных групп азотобактеров имеются культуры с высокой интенсивностью.

Среди витаминов группы В особого внимания заслуживает витамин B_{12} , как участвующий во многих важнейших обменных процессах. Этот витамин растениями и животными не синтезируется, но активно синтезируется многими видами микроорганизмов, в том числе почвенными.

Немало имеется работ, относящихся к биосинтезу витамина B_{12} культурами азотобактера. В ряде исследований синтез данного витамина связывается с интенсивностью ассимиляции азота (Iswaran, Sandara, Mathur, 1960; Канопкайте, 1964; Jones a. Greaves, 1943 и др.).

Нами проведены многочисленные исследования по влиянию различных факторов на образование витамина B_{12} . Результаты показали, что в среде он не накапливался и в культуральной жидкости можно было его обнаружить в пределах 0,1—1,0 $\gamma/\text{л}$. Иногда витамин B_{12} совершенно отсутствовал. Несмотря на малые количества обнаруженного витамина B_{12} , были заметны некоторые закономерности по влиянию на

витаминообразование различных температур, разных сред и других факторов. На биосинтез витамина B_{12} исследовано от 22 до 43 штаммов из разных групп азотобактеров с использованием среды Виноградского с глюкозой и добавлением $CoCl_2$. Результаты этих исследований показали, что штаммы *Az. nigricans* (43 штамма) витамин B_{12} совершенно не синтезируют. Все штаммы *Az. agile* в той или иной мере синтезировали этот витамин, а у остальных трех групп азотобактеров не у всех штаммов он был обнаружен.

Исследование биосинтеза рибофлавина культурами азотобактера нами предполагалось проводить микробиологическим методом (Снелл, 1954; Поволоцкая и др., 1955).

Таблица 10
Биосинтез рибофлавина культурами разных видов азотобактера (количество витамина в γ /г).

<i>Az. agile</i>		<i>Az. chroococcum</i>		<i>Az. nigricans</i>		<i>Az. vinelandii</i>	
№ штаммов	B_2	№ штаммов	B_2	№ штаммов	B_2	штаммы	B_2
1	34	17	24	4	26	H-1 (Минск)	51
2	—	150	34	7	13	3М (Минск)	50
3	27	153	34	12а	0	1 сух. (Грузия)	23
28	24	159	38	15	20	2 сух. (Грузия)	37
47	38	163	27	17	13	ИНМИ	37
50	27	164	21	17 сух.	7	МГУ	0
56	34	165	34	22	10	Ленинградский	57
69	27	171	38	30	13		
70	38	247	27	32	13		
78	34	249	21	33	23		
79	45	250	34	40	0		
82	34	251	41	41	16		
140	31	253	27	50	10		
149	21	254	17	56	7		
155	27	255	34	57	20		
165	27	256	27	74	14		
167	24	264	31	79	17		
172	34	272	17	103	17		
<i>Az. agile jakutiae</i>	3	53 (производственный)	20				

Однако, для получения стандартной кривой методом титрования и нефелометрирования испытание двух индикаторных штаммов *Lactobacterium casei* не дало результатов. Поэтому в культуральной жидкости азотобактера рибофлавин

был определен флуорометрически (Поволоцкая и др., 1955). Азотобактеры культивировались на среде Виноградского с глюкозой, с добавлением следов молибдена и кобальта (молибдена—0,1% из 0,5% раствора молибденовокислого аммония и кобальта—0,1% хлористого кобальта из раствора 2,2 мг в 1 мл) в течение 15 суток при температуре 26—28°C. Результаты приведены в табл. 10. Из данных таблицы видно, что биосинтез рибофлавина происходит интенсивнее у культур *Az. vinelandii*, количество его колеблется в пределах 23—57 γ/л. Самыми слабыми были штаммы *Az. nigricans*, синтезировавшие рибофлавин в пределах 7—26 γ/л, а культуры *Az. agile* и *Az. chroococcum* почти одинаковы по интенсивности, синтез рибофлавина происходил у них в пределах 17—45 γ/л. В статье Jones a. Greaves (1943) приведены данные одного штамма *Az. chroococcum*, который в течение 15 суток синтезировал 70 γ/л рибофлавина.

На основании представленного выше материала, в табл. 11 приведены данные активных по витаминообразованию местных штаммов азотобактера. Для сравнения имеются также показатели производственного штамма *Az. chroococcum* 53 и *Az. agile jakutiae*. Как видим, местные штаммы *Az. chroococcum* по биосинтезу большинства витаминов активнее производственного, а местные штаммы *Az. agile* активнее коллекционного штамма *Az. agile jakutiae*.

Таблица 11

Активные по витаминообразованию азотобактеры

Виды и штаммы азотобактера	Витамины в γ/л					
	биотин	тиамин	пантотено- вая кислота	пиридок- син	никоти- новая кислота	рибо- флавин
<i>Az. chroococcum</i> 159	33	1300	185	256	2400	38
<i>Az. chroococcum</i> 250	20	900	300	340	1600	34
<i>Az. chroococcum</i> 53 (производственный)	59	450	23	370	930	20
<i>Az. agile</i> 78	14	65	840	760	1050	34
<i>Az. agile</i> 47	23	150	900	530	1200	38
<i>Az. agile jakutiae</i>	140	140	266	396	990	3
<i>Az. nigricans</i> 30	41	140	100	761	1780	13
<i>Az. nigricans</i> 33	17	155	0	875	2300	23

Обсуждение результатов

Проведенные исследования по биосинтезу витаминов группы В культурами разных видов азотобактера привели к следующим обобщениям.

В большинстве случаев оптимальным сроком культивирования азотобактера следует считать 15-е сутки. На пятые сутки витаминов накапливается мало, а испытание двух- и трехсуточных культур показало, что витаминов в них меньше, чем в пятисуточных культурах. По некоторым же литературным данным, витамины синтезируются больше в первые сутки и даже в первые часы роста культур.

Среды различного состава и с различным энергетическим материалом влияют на витаминобразование в зависимости от вида синтезируемого витамина и культур азотобактера. Так, кукурузный экстракт имел положительное действие на биосинтез никотиновой кислоты и подавил синтез пантотеновой кислоты. Глюкоза, в общей сложности, интенсифицировала процесс витаминобразования больше, чем другие изученные источники энергии, но штаммы *Az. chroococcum* на среде с маннитом интенсивнее синтезировали пиридоксин и никотиновую кислоту. А штаммы *Az. nigricans* на манните некоторые витамины не синтезировали. Установить закономерность витаминобразования при различных значениях pH в условиях настоящего исследования не удалось.

По-видимому, концентрации компонентов фосфатных буферов подавляли размножение и физиологическую активность азотобактера.

Температурные условия, безусловно, влияют на биосинтез витаминов. Для биосинтеза некоторых витаминов оптимальной температуры является 30°C, для других — 26—27°C, а температура в 17—20°C неблагоприятна для накопления витаминов.

Исследования биосинтеза витаминов группы В с большим числом штаммов всех изученных групп азотобактера приводят к следующему: установление видовой принадлежности отдельных штаммов азотобактера невозможно проводить только изучением витаминобразующей способности, так как ин-

тенсивность этих процессов в значительной степени зависит от свойств отдельных штаммов азотобактера. Однако при рассмотрении витаминообразования у азотобактера в видовом аспекте можно заметить определенные закономерности. Например, штаммы *Az. agile* синтезируют биотин и тиамин в меньшем количестве, чем штаммы всех остальных групп, и, наоборот, наибольшие количества пантотеновой кислоты обнаружены у всех штаммов этого вида. Следует также отметить, что все без исключения штаммы *Az. agile* синтезируют те или иные витамины, тогда как штаммы других групп азотобактера проявляют значительные колебания в биосинтезе витаминов. Среди них встречаются сильно активные штаммы по биосинтезу какого-либо витамина и штаммы, у которых он не был обнаружен.

Штаммы *Az. chroococcum* отличаются тем, что среди них чаще встречаются наиболее активные по витаминообразованию. В большинстве своем мало активны штаммы *Az. nigricans*, но иногда встречаются довольно активные штаммы по биосинтезу витаминов. Примечательно, что у представителей данной группы совершенно не обнаружен витамин В₁₂, а на среде с маннитом они в основном не синтезируют некоторые витамины. У слабопигментных и беспигментных культур азотобактера выявлены как активные, так и слабо активные по витаминообразованию штаммы. В данной группе азотобактера каких-либо закономерностей не наблюдается.

Выводы

1. Интенсивность витаминообразования у азотобактера зависит от свойств отдельных штаммов разных видов и влияния различных факторов среды.
2. Биосинтез витаминов не может служить основным фактором для определения видовой принадлежности отдельных штаммов азотобактера, но при широком исследовании видов в процессах витаминообразования между ними замечается определенная закономерность.
3. Среди всех изученных групп азотобактера наиболее

активные штаммы по биосинтезу большинства витаминов можно отобрать из культур *Az. chroococcum*.

4. Местные штаммы *Az. chroococcum* по биосинтезу большинства изученных витаминов активнее производственного штамма *Az. chroococcum* 53.

Ա. Վ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Զ. Շ. ՄԵԼԻՔՅԱՆ, Զ. Շ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ,
Զ. Շ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Է. Ա. ՀՈՎՍԵՓՅԱՆ, Ս. Խ. ԹԱՓԱՏՅԱՆ

ՏԱՐՐԵՐ ՏԵՍԱԿԻ ԱՂՈՏՈՐԱԿՏԵՐՆԵՐԻ Բ ԽՄԲԻ ՎԻՏԱՄԻՆՆԵՐ ՍԻՆԹԵԶԵԼԻ ՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հետազոտության նպատակն է եղել պարզել Հայկական ՍՍՀ-ի տարրեր հողակլիմայական պայմաններից մեկուսացրած առանձին տեսակի աղոտորակտերների՝ *B* խմբի պատկանող վիտամիններ սինթեզելու ունակությունը և ապա որոշել, թե այդ առանձնահատկությունը կարո՞ղ է արդյոք հիմք ծառայել աղոտորակտերների դասակարգման համար:

Կատարված ուսումնասիրություններից կարելի է անել հետևյալ եզրակացությունները.

1. Վիտամինազոյացման ինտենսիվությունը պայմանավորված է աղոտորակտերների տարրեր շտամների առանձնահատկությամբ և միջավայրի տարրեր զործոնների ազդեցությամբ:

2. Տարրեր տեսակի աղոտորակտերների լայն ուսումնասիրման հետևանքով պարզվել են *B* խմբի վիտամինների սինթեզման որոշ օրինաչափություններ: Օրինակ՝ *Az. chroococcum*-ի ներկայացուցիչները վիտամինների սինթեզման ունակությամբ ավելի ակտիվ են:

Սակայն այդ հատկանիշը բնորոշ չէ տարրեր տեսակի աղոտորակտերների առանձին շտամների դասակարգման համար:

3. Ստացված համեմատական տվյալների հիման վրա կարելի է ասել, որ *Az. chroococcum*-ի տեղական շտամները վերը ներշնչված հատկությամբ ավելի ակտիվ են, քան արտադրության մեջ օգտագործվող նույն տեսակին պատկանող № 53 շտամը:

A. V. Kirakossian, J. S. Melkonian, M. M. Karapetian, M. B. Sargsian,
E. A. Hovsepian, S. KH. Tapaltsian

The ability of various Azotobacter in producing B group vitamins

Summary

The following are the results derived from the studies we have conducted:

1. the intensity of vitamin formation is due to the peculiarities of various strains of Azotobacter and the influence of different factors of the medium;

2. the extensive examination of various types of Azotobacter have resulted in the discovery of certain regularities of synthesizing B group vitamins; however, this feature is not characteristic of the classification of particular strains of Azotobacter;

3. relying on comparative evidence obtained it can be asserted that the strains of Az. chroococcum, isolated in Armenia, more actively display the above-mentioned property than strain No. 53, pertaining to the same type, used in the production of Azotobacterin.

ЛИТЕРАТУРА

- Багдасарян Е. Г. 1965. Образование витаминов группы В (B_{12} , B_1 и B_6) некоторыми почвенными бактериями. Автореферат. Канд. диссертация.
- Букин В. Н., Арешкина Л. Я. и Куцева Л. С. 1954. Микро- и макрометодика определения витамина B_{12} , «Биохимия», 19, 6, 713.
- Гегбардт А. Г. 1961. О сущности действия азотобактера и путях повышения его эффективности. Автореферат. Докт. диссертация. М.
- Зинovieва Х. Г. 1962. Азотобактер и сельскохозяйственные растения. Изд. с.-х. лит., УССР.
- Белозерский А. Н. и Проскуряков Н. И. 1951. Практическое руководство по биохимии растений.
- Канопкайте С. И. 1964. Фиксация азота и образование витаминов группы В местными штаммами. Azotobacter chroococcum. Тезисы докл. конференции Биосин. аминокислот, витаминов и микробн. биомассы. Рига.

- Ключникова Т. М. 1966. Синтез витаминов группы В азотобактером в условиях глубинного культивирования. Автореферат. Канд. диссертация. Киев.
- Bonner J. 1937. The role of vitamins in plant development. The Botanical review. 3, 12, 616.
- Iswaran V., Sandara Rao W. V. B., Mathur S. P. 1960. Role of vitamin B₁₂ in nitrogen fixation by *Azotobacter chroococcum*. Current. Sci., 29, 2, 63.
- Jones L. W. a. Greaves J. E. 1943. *Azotobacter chroococcum* and its relationship to accessory growth factors. Soil Science, 55, 5, 393.
- Lee S. B. a. Burris R. H. 1943. Large-Scale Production of *Azotobacter*. Industr. and Engineering Chemistry, 35, 3, 334.