

Ж. С. Мелконян

**Влияние некоторых групп микроорганизмов и антибиотиков
на азотобактер**

Специфика антагонистических взаимоотношений микроорганизмов привлекла внимание ряда исследователей. Красильников и др. (1951), отрицая антагонизм внутри вида, предлагают использовать специфику антагонизма для распознавания отдельных видов микроорганизмов при их классификации. Однако работами Старыгиной (1956), Дьякова (1958), Киракосян и др. (1957, 1964) показано существование антагонизма внутри видов микроорганизмов.

Исследования Бершовой (1950), Африкяна и Арутюнян (1953) и др. посвящены выяснению действия разных антибиотиков на азотобактер.

Целью данного исследования явилось уточнение видовой принадлежности культур азотобактера путем выяснения специфичности антагонистического действия на них различных групп почвенных микроорганизмов и чистых антибиотиков.

Было исследовано 77 штаммов трех видов азотобактера, выделенных из почв АрмССР и 8 коллекционных штаммов *Az. vinelandii* (табл. 1).

Коллекционные культуры *Az. vinelandii* Н-1, *Az. vinelandii* ЗМ и *Az. vinelandii* МГУ нами были получены под названием *Az. agile*. Однако морфо-физиологические исследования этих культур показали, что они относятся к виду *Az. vinelandii* (Киракосян, Мелконян, 1964а; Мелконян, Киракосян, Карапетян, 1966).

В качестве культур-антагонистов были использованы различные виды *Actinomyces*, *Mycobacterium* и *Staphylococcus*. Перечень этих культур, как и среды и сроки культивиро-

вания, приведены в табл. 2 (музейные культуры ИНМИ СССР и ИНМИ АН АрмССР).

На газоны, засеянные тест-культурами азотобактера, накладывались агаровые блоки культур-антагонистов диаметром 0,6 см.

Результаты опытов, приведенные в табл. 3 (порядковые номера культур-антагонистов в табл. 3 соответствуют номерам в табл. 2), показывают, что 8 культур из *Actinomyces* проявили антимикробное действие в отношении почти всех штаммов четырех видов азотобактера. Наиболее активными антагонистами являются актиномицеты из глобиспориновой группы (радиус зон от 5 до 15 мм), а наименее — *Act. violaceus* (радиус зон от 1 до 6 мм).

Act. violaceus 124, *Act. levorus* 2789 и *Act. globisporus citreus* 141 не проявили антагонизма в отношении культур азотобактера, за исключением двух штаммов последнего. Не проявили антагонизма также культуры *Mycobacterium* и *Staphylococcus*.

Как показали результаты исследований, все бактерии-антагонисты оказали одинаковое воздействие на культуры всех видов азотобактера, а потому таким способом разграничить виды невозможно.

В ходе опытов было выяснено, что всем испытанным культурам присуще свойство стимуляции роста азотобактера, причем стимулирующему воздействию подвергаются одни и те же культуры. Данные табл. 4 показывают стимуляцию роста, главным образом, на некоторых штаммах *Az. chroococcum* и *Az. vinelandii*. Слабая стимуляция роста замечена у одной — двух культур *Az. nigricans*, и лишь представители вида *Az. agile* не подверглись стимулирующему воздействию.

Следует отметить, что после зоны подавления в некоторых случаях наблюдалось усиление роста тест-культур. Это, очевидно, объясняется тем, что антибактериальные вещества, образуемые испытываемыми культурами, по мере уменьшения концентрации действуют стимулирующе. К таким культурам относятся штаммы актиномицетов 1, 3, 7, 8, 12, 13, 14. (табл. 3 и 4).

Почти все испытанные культуры вызывают культурально-

Таблица 1

Тест-культуры азотобактера

Az. agile № штаммов	Az. chroococcum № штаммов	Az. nigricans № штам- мов	Az. vinelandii
1	17	1	Az. vinelandii ИХМИ
2	53	25	Az. vinelandii (Ин-т Пастера, Париж)
3	119	35	Az. vinelandii Н-1 (Минск)
16	150	45	Az. vinelandii ЗМ (Минск)
28	159	62	Az. vinelandii (Az. agile 22-Д МГУ)
42	164	67	Az. vinelandii 1 (Ле- нинград)
56	165	77	Az. vinelandii 1 сух. (Грузия)
69	171	80	Az. vinelandii 2 сух. (Грузия)
78	247	83	
82	253	83сух	
149	254	85	
155	255	92	
156	257	95	
165	264	100	
167	272	103	
172	282	105	
180	341	106	
182	380	109	
183	382	111	
184	383	112	
185	384	113	
186	386	114	
187	387	115	
Az. agile jakutiae	388	116	
Az. macrocytogene	53 (Ле- нинградский)	118	
Az. agile дельфт с кий (из Польши)		131	

морфологические изменения азотобактера. Вокруг агаровых блоков помимо зон угнетения или стимуляции роста тест-культуры наблюдается усиление пигментации; некоторые гладкие формы азотобактера образуют шероховатый рост, а шероховатые культуры становятся сильно шероховатыми. Микроскопические исследования показали, что на границе зоны отсутствия роста клетки культур азотобактера в основном деформированы. В случаях стимуляции роста тест-организмов часто наблюдается также увеличение размеров клеток.

Культуры-антагонисты к азотобактеру

Таблица 5

№ п/п	Культуры антагонисты	Среда	Сроки культивирования	№ п/п	Культуры антагонисты	Среда	Сроки культивирования
1	<i>Act. violaceus</i> 1 ИНМИ	Чапек	10	15	<i>Mycobacterium instidiosum</i> ВКМ в-357 ИНМИ	Канустный агар	6
2	<i>Act. janthinus</i> 117 ИНМИ	"	"	16	<i>M. nigrum</i> ВКМ в-647 ИНМИ	"	"
3	<i>Act. violaceus</i> 1*	"	"	17	<i>M. cyaneum</i> ВКМ в-351 ИНМИ	"	"
4	<i>Act. violaceus</i> 124*	"	"	18	<i>M. cyaneum</i> ВКМ в-646 ИНМИ	"	"
5	<i>Act. levorus</i> 2789 ИНМИ	Картоф. агар	8	19	<i>M. azot-absortum</i> n.s.p. ВКМ в-113 ИНМИ	"	"
6	<i>Act. vulgaris</i> 070 ИНМИ	Чапек	"	20	<i>M. mucosum</i> ВКМ в-462 ИНМИ	"	"
7	<i>Act. streptomycinii</i> Б-6 ИНМИ	Картоф. агар	"	21	<i>M. album</i> ВКМ в-88 ИНМИ	"	"
8	<i>Act. globisporus</i> 81 ИНМИ	"	"	22	<i>M. hyalinum</i> ВКМ в-353 ИНМИ	"	"
9	<i>Act. globisporus</i> 33*	Чапек	"	23	<i>M. phlei</i> ВКМ в-648 ИНМИ	"	"
10	<i>Act. globisporus citreus</i> 141*	"	"	24	<i>M. rubrum</i> ВКМ в-89 ИНМИ	"	"
11	<i>Act. globisporus</i> 26*	"	"	25	<i>Corinebacterium michiganense</i> *	"	"
12	<i>Act. globisporus</i> 31*	"	"	26	<i>Staphylococcus aureus</i> ВКМ в-128 ИНМИ	МПА	"
13	<i>Act. globisporus</i> 29*	"	"	27	<i>Staphylococcus aureus</i> (ИНМИ)	"	"
14	<i>Act. globisporus</i> 148*	"	"				

* Культуры, выделенные в лабораториях Института микробиологии АН АрмССР.

Для выяснения влияния чистых антибиотиков на различные виды азотобактера использованы пенициллин, стрептомицин и биомидин. Кусочки фильтровальной бумаги размером 5×5 мм, пропитанные растворами антибиотиков, во влажном состоянии накладывались на газоны азотобактера в чашках Петри. Каждый кусочек фильтровальной бумаги содержал соответствующее количество единиц антибиотика, указанное в табл. 5.

Таблица 3
Антагонистическое действие некоторых групп микроорганизмов на виды азотобактера (количество культур, подверженных антагонистическому действию)

Тест-культуры	Количество исследованных культур	Виды и штаммы Actinomyces															Виды и штаммы Mycobacterium										Штаммы Staphylococcus	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
		24	4*	25	0	0	14	26	26	14	1	21	26	26	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Az. agile	26																											
Az. chroococcum	25	25	0	24	0	0	6	25	25	3*	0	18	25	25	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Az. nigrificans	26	26	11	26	0	1	14	25	26	1	0	26	26	26	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Az. vinelandii	8	8	3	8	0	0	6	8	8	0	0	8	8	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*Означает частичное подавление роста культуры в зоне.

Таблица 4
Стимуляция роста азотобактера под действием некоторых групп микроорганизмов (количество культур со стимулирующим ростом)

Тест-культуры	Кол-во исследованных культур	Виды и штаммы Актиномыцетов														Виды и штаммы Мусовактерий										Штамы Streptococcus		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Az. agile	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Az. chroococcum	25	5	5	6	4	3	3	2	2	4	3	5	3	2	1	3	3	7	7	8	6	4	4	6	6	5	5	4
Az. nigrificans	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	1	2	0	0	1	1	0	1
Az. vinelandii	8	3	3	3	3	5	2	0	0	1	2	1	1	1	1	2	2	5	5	3	4	3	2	3	2	0	0	2

В результате исследований выяснено, что самым сильным антибиотиком в отношении использованных видов азотобактера оказался стрептомицин, а самым слабым—пенициллин.

При воздействии стрептомицина в 1,0 единицу, радиус зон подавления роста тест-организмов составляет 12—20 мм; при 0,1 ед.—3—16 мм. Биомицин в концентрации 1,0 ед. подавляет рост культур азотобактера в радиусе от 3 до 12 мм, а в 0,1 ед., как видно из табл. 5, угнетает рост некоторых штаммов различных видов азотобактера, причем величина радиуса зон составляет 1—2 мм. Культуры четырех видов азотобактера к

Таблица 5
Антибактериальное действие некоторых антибиотиков на виды азотобактера

Тест-культуры	Количество исследованных культур	Количество культур, подверженных антибактериальному действию				
		пенициллин	стрептомицин		биомицин	
		2,5 ед.	1,0 ед.	0,1 ед.	1,0 ед.	0,1 ед.
<i>Az. agile</i>	26	2	25	25	25	5*
<i>Az. chroococcum</i>	25	11*	25	25	25	10
<i>Az. nigricans</i>	26	0	26	26	26	8*
<i>Az. vinelandii</i>	8	0	8	8	8	0

* Означает частичное подавление роста культуры в зоне.

пенициллину в основном оказались устойчивыми. Лишь два штамма *Az. agile* дали зоны угнетенного роста радиусом в 13 и 10 мм, и 11 штаммов *Az. chroococcum*—небольшие зоны с частичным подавлением роста. Из 85 культур азотобактера только *Az. agile jakutiae* оказался устойчивым ко всем испытанным антибиотикам, о чем свидетельствует и работа Африкьяна и др. (1953). Выяснилось также, что в некоторых случаях стрептомицин подавляет не только рост, но и пигментацию тест-культур.

Полученные данные показали, что действие испытанных антибиотиков оказалось одинаковым в отношении всех видов азотобактера.

Выводы

Исследования по влиянию некоторых групп почвенных микроорганизмов и антибиотиков на культуры четырех видов азотобактера показали следующее:

1. Культуры-антагонисты, принадлежащие к виду *Act. globisporus*, обладают более сильным антибактериальным свойством, чем представители вида *Act. violaceus*.

2. Штаммы *Mycobacterium* и *Staphylococcus* антагонистических свойств к азотобактеру не проявляют.

3. Испытанные культуры стимулируют рост некоторых штаммов *Az. chroococcum* и *Az. vinelandii* и не влияют на рост штаммов *Az. agile* и *Az. nigricans*, за исключением 1—2 культур *Az. nigricans*.

4. Почти все опытные культуры вызывают культурально-морфологические изменения видов азотобактера.

5. Из испытанных антибиотиков самым сильным антибактериальным действием обладает стрептомицин, а наиболее слабым—пенициллин. Стрептомицин и биомицин оказывают подавляющее действие на все культуры четырех видов азотобактера, кроме *Az. agile jakutiae*; пенициллин же вызывает незначительное подавление роста лишь нескольких штаммов *Az. chroococcum* и у двух штаммов *Az. agile*.

6. Результаты исследований показали, что на основании антибактериального действия различных групп микроорганизмов и антибиотиков определять видовую принадлежность азотобактера не представляется возможным.

Ժ. Ս. ՄԵԼՔՈՅԱՆ

ՏԱՐԲԵՐ ԽՄԵՐԻ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ԵՎ ԱՆՏԻՈՐԻՈՏԻՎՆԵՐԻ
ԱԶՈՏԲԱԿՏԵՐԻ ԱՉՈՏՈՐԱԿՏԵՐԻ ՎՐԱ

Ա. մ. փ. ռ. ի. մ.

Ուսումնասիրելով տարբեր խմբերի միկրոօրգանիզմների և
անտիրիոտիկների ազդեցությունը ազոտաբակտերի չորս տեսակ-
ների վրա, հանգեցին հետևյալ եզրակացություններին.

1. *Act. globisporus* տեսակին պատկանող անադոնիտ

շտամներն օժտված են ավելի ուժեղ հակաբակտերիալ հատկությամբ, քան *Act. violaceus* տեսակին պատկանողները:

2. *Mycobacterium* և *Staphylococcus* խմբերին պատկանող շտամները ազոտոբակտերի նկատմամբ անտագոնիստական հատկություն չեն ցուցաբերում:

3. Փորձարկվող միկրոօրգանիզմները *Az. chroococcum*-ի և *Az. vinelandii*-ի մի շարք շտամների աճեցողությունը խթանում են, *Az. nigricans*-ի վրա թույլ խթանիչ ազդեցություն են գործում, իսկ *Az. agile*-ի վրա ոչ մի ազդեցություն չեն գործում: Փորձարկվող համարյա բոլոր միկրոօրգանիզմները ազոտոբակտերների մորֆոլոգիական և կուլտուրալ հատկությունները փոփոխում են:

4. Անտիբիոտիկներից ստրեպտոմիցինն օժտված է ամենաուժեղ հակաբակտերիալ հատկությամբ, իսկ պենիցիլինը՝ ամենաթույլ:

5. Ուսումնասիրությունների արդյունքներից պարզվել է, որ միկրոօրգանիզմների տարբեր խմբերի և անտիբիոտիկների հակաբակտերիալ ազդեցության միջոցով հնարավոր չէ պարզել ազոտոբակտերի տեսակային պատկանելությունը:

J. S. Melkonian

The influence of some groups of microorganisms and antibiotics on the cultures of *Azotobacter*

Summary

Investigations on the action of some groups of microorganisms on the cultures of four species of *Azotobacter* have shown that the strains of *Act. globisporus* exhibit a stronger antibacterial action than those of *Act. violaceus*. The strains of *Mycobacterium* and *Staphylococcus* manifest no antagonistic properties in respect to nitrobacteria.

While testing the influence of a number of antibiotics on *Azotobacter* it became evident that streptomycin possesses the greatest antibacterial efficiency as to all the species of *Azotobacter*, while penicillin—the least.

The results of the experiments have shown that species of *Azotobacter* remain undeterminable if we rely solely on the

antibacterial action of various groups of microorganisms and antibiotics.

ЛИТЕРАТУРА

- Африкян Э. К., Арутюнян Р. Ш. 1953. О действии антибиотиков на азотобактер. Микробиологический сборник АН АрмССР, I/VII, 173.
- Бершова О. И. 1950. Влияние некоторых антибиотиков на азотобактер. «Микробиологический журнал», XI, 4, 34.
- Дьяков С. И. 1958. О характере межвидовых и внутривидовых взаимоотношений у дизентерийных бактерий. «Микробиология», XXVII, 1, 60.
- Киракосян А. В., Каримян Р. С. 1957. Внутривидовые и межвидовые взаимоотношения азотобактера. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, III (IX), 3.
- Киракосян А. В., Мелконян Ж. С. 1964. О внутривидовых взаимоотношениях азотобактера. Вопросы микробиологии, II (XII), 73.
- Киракосян А. В., Мелконян Ж. С. 1964a. Новые разновидности *Azotobacter agilis* из почв АрмССР. «Изв. АН АрмССР», биол. науки, XVII, 4, 33.
- Красильников Н. А., Коренько А. И., Никитина Н. И. и Скрябин Г. К. 1951. О специфике межвидового антагонизма как принципе распознавания и подразделения видов у микроорганизмов. ДАН СССР, т. XXVII, 4, 725.
- Мелконян Ж. С., Киракосян А. В., Карапетян М. М. 1966. Определение некоторых видов азотобактера флуориметрическим методом. «Биологический журнал Армении», XIX, 6, 39.
- Старыгина Л. П. 1956. Антагонистические свойства *Ps. Fluorescens liquefaciens*. «Микробиология», XXV, 6, 700.