

УДК 631.847.2

А. Д. Налбандян, В. А. Аветисян, Р. Г. Меликсетян

Усвоение различных форм углеводов и азота клубеньковыми бактериями

Вопрос влияния углеводов, минерального и органического азота на рост и морфологические изменения клеток клубеньковых бактерий в литературе не освещен. Изучение этого вопроса, по-видимому, имеет большое значение для получения сухого нитрагина. Целью настоящего исследования было выявить действие различных форм и концентраций углеводов, минерального и органического азота на рост и морфологию клубеньковых бактерий гороха.

Были испытаны меласса, сахароза и глюкоза в концентрации 0,5—2%, кукурузный экстракт—0,1—1% и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ и NH_4Cl —из расчета 0,01% чистого азота. Использовались штаммы 144,23 и 227а клубеньковых бактерий гороха.

Исходной средой для культивирования штаммов являлась (в %): меласса—2, кукурузный экстракт—1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —0,05, K_2HPO_4 —0,05, MgSO_4 —0,02 и NaCl —0,02, pH—7. Культура выращивалась на этой среде в течение 48 часов на качалке при 200—240 об/мин, при температуре 26—28°C.

Как показали исследования, на вышеуказанной среде рост клубеньковых бактерий гороха был слабый. Микроскопическое исследование клубеньковых бактерий гороха показало, что при наличии в среде 2% мелассы, 1% кукурузного экстракта с остальными компонентами клетки бактерий морфологически сильно изменяются. Образуются крупные грушевидные формы, значительно превосходящие размеры нормальных клеток. Предполагалось, что искаженные формы клубеньковых бактерий—результат неправильного обмена веществ. Исходя из этого предположения, нами отдельно было испытано влияние сахаров (меласса, сахароза, глюкоза), минерального и органического азота (кукурузный экстракт) на рост и морфологию клубеньковых бактерий.

Количество сахаров определялось по методу Бертрана, гидролиз сахарозы проводился с 5% HCl.

Таблица 1

Использование сахаров клубеньковыми бактериями гороха

Использованные сахара	№ штаммов	Остаток сахаров на 100мл культуральной жидкости в мг		Всего израсходовано сахара на 100 мл культуральной жидкости в мг
		до гидролиза	после гидролиза	
Меласса, 2 %	23	20.0	820.0	160.0
	65	25.0	810.0	155.0
	144	—	800.0	200.0
	227a	—	820.0	180.0
Меласса, 1 %	23	—	360.0	140.0
	65	—	350.0	150.0
	144	—	330.0	170.0
	227a	—	320.0	180.0
Сахароза, 1 %	23	—	800.0	200.0
	65	—	790.0	210.0
	144	—	800.0	200.0
	227a	—	820.0	180.0
Сахароза, 0,5 %	23	—	320.0	180.0
	65	—	320.0	180.0
	144	—	310.0	190.0
	227a	—	330.0	170.0
Глюкоза, 1 %	23	830.0	—	170.0
	65	820.0	—	180.0
	144	800.0	—	200.0
	227a	800.0	—	200.0
Глюкоза, 0,5 %	23	360.0	—	140.0
	65	350.0	—	150.0
	144	330.0	—	170.0
	227a	360.0	—	140.0

Как показывают данные табл. 1, при наличии 0,01% чистого азота и 1% кукурузного экстракта при 48-часовом культивировании клубеньковые бактерии гороха используют всего 140—200 мг сахаров. При этом выход пасты составлял 700—800 мг на 100мл культуральной жидкости. Данные этого опы-

та показали, что при наличии в среде 1 или 2% мелассы, 1 или 0,5% сахарозы или глюкозы клубеньковые бактерии во всех случаях используют ничтожные количества сахаров и титр клеток бывает невысок. Исходя из проведенных исследований выяснилось, что меласса не является действующим началом на морфологические изменения клеток, т. к. при наличии в среде сахарозы и глюкозы также наблюдаются измененные формы клеток клубеньковых бактерий.

В связи с этим мы предположили, что изменение форм клеток бактерий обусловлено концентрацией кукурузного экстракта. Закладывался опыт с различными концентрациями кукурузного экстракта, причем количество мелассы в среде составляло 1%, а количество минерального азота было равно 0,01% в перерасчете на чистый азот.

Как видно из данных табл. 2, наивысшие титры клубеньковых бактерий обнаружены при наличии в среде 0,3% кукурузного экстракта. При этом увеличивается использование мелассы—140—430 мг сахарозы на 100 мл культуральной жидкости, и в этом варианте не наблюдалось морфологического изменения клеток клубеньковых бактерий. Такие изменения не наблюдались также при внесении в среду 0,1 и 0,2% кукурузного экстракта, однако титр клубеньковых бактерий в этих вариантах сравнительно низкий.

При внесении в среду 1% кукурузного экстракта снова наблюдаются изменения морфологических форм клубеньковых бактерий, слабый титр и малый расход сахара. Этот опыт ставился многократно и дал сходные результаты. Следовательно, причиной морфологических изменений клубеньковых бактерий гороха являются высокие дозы кукурузного экстракта.

Исходя из вышесказанного, можно считать, что наиболее оптимальной для культивирования клубеньковых бактерий, по-видимому, является среда следующего состава (в %):

меласса—1	
кукурузный экстракт—0,3	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	—0,05
K_2HPO_4	—0,05
MgSO_4	—0,02
NaCl	—0,02
pH	—7,0—7,2

Как показали наши исследования, 1% мелассы, содержащей 45—46% сахарозы, вполне достаточно при наличии в среде 0,01% азота и 0,3% кукурузного экстракта для 24-часового культивирования клубеньковых бактерий.

Однако, как показали дальнейшие исследования, для получения высокого титра необходима дополнительная подкормка (меласса—1% и кукурузный экстракт—0,3%) после 24-часового культивирования.

Изучалось также усвоение клубеньковыми бактериями гороха различных форм минерального азота. Были испытаны следующие формы азота: аммоний сульфат, аммоний нитрат, аммоний молибденовокислый, аммоний хлористый из расчета 0,01% чистого азота. Опыты проводились со штаммами № 23 и 227а.

Таблица 2
Влияние различных концентраций кукурузного экстракта на титр клубеньковых бактерий гороха

№ штаммов	Количество остаточного сахара на 100 мл культуральной жидкости в мг	Всего использовано сахара на 100 мл культуральной жидкости в мг	Кукурузный экстракт в %	Титр клеток в млрд. на 1 г пасты
23	420.0	80.0	0.1	300.0
65	390.0	110.0	"	312.0
144	400.0	100.0	"	315.0
227а	380.0	120.0	"	295.0
23	360.0	140.0	0.2	305.0
65	380.0	120.0	"	300.0
144	385.0	115.0	"	315.0
227а	367.0	133.0	"	300.0
23	70.0	430.0	0.3	1.8 трил.
65	70.0	430.0	"	—
144	85.0	415.0	"	—
227а	80.0	420.0	"	1.7 трил.
23	375.0	125.0	1.0	30.0
65	370.0	130.0	"	32.0
144	369.0	131.0	"	30.0
227а	380.0	120.0	"	29.0

Примечание: (—)—титр не определялся.

Как показывают данные табл. 3, для штамма № 23 лучшей формой азота являются аммоний сульфат и аммоний молибденовокислый. Хороший выход пасты штамма 227а обнаруживается при наличии в среде аммония сульфата, а больший титр—при внесении в среду аммония хлорида.

Таблица 3

Влияние различных форм минерального азота на титр клубеньковых бактерий гороха и выход пасты

№ штаммов	Формы азота	Количество клеток на 1 мл культуральной жидкости в млрд.	Вес пасты на 100 мл культуральной жидкости в мг	Влажность пасты в %
23	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	14,0	0,812	73,8
"	NH_4NO_3	13,0	0,696	"
"	$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$	16,8	0,544	"
"	NH_4Cl	—	—	—
227a	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	14,0	2,2	72,5
"	NH_4NO_3	15,3	1,780	"
"	$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$	16,4	1,080	"
"	NH_4Cl	21,4	1,120	70

Проведенные исследования показывают, что, кроме аммония сульфата, для развития клубеньковых бактерий гороха можно использовать и другие формы аммониевых солей.

Выводы

1. При наличии в ферментационной среде 1% кукурузного экстракта наблюдаются морфологическое изменение клеток клубеньковых бактерий, слабый титр и малый расход сахаров.

2. Многократными опытами установлено, что во избежание морфологического изменения клеток клубеньковых бактерий необходимо внести в среду 0,3% кукурузного экстракта (при наличии остальных компонентов среды). В этом случае рост клубеньковых бактерий происходит нормально.

3. Для обеспечения оптимального роста клубеньковых бактерий, кроме аммония сульфата, можно использовать и другие формы аммониевых солей.

Ա. Չ. ՆԱԴԱՆԴՅԱՆ, Վ. Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ, Բ. Գ. ՄԵԼԻՔՍԵԹՅԱՆ

ՊԱՒԱՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԿՈՂՄԻՑ ՏԱՐՔԵՐ ԱՄԵԱԶՐԵՐԻ ԵՎ
ԱԶՈՏԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՄԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՂԶ

Ա. մ փ ո փ ո մ

Ուսումնասիրված է զանազան ածխաջրատների, հանքային և օրգանական ազոտի տարբեր խտությունների ազդեցությունը, որո-

ո՞ր պալարաբաղաճիկների աճի և նրանց բժշկների մորֆոլոգիական փոփոխությունների վրա:

Ուսումնասիրությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ ուլոռի պալարաբաղաճիկները նույնանման ինտենսիվությամբ օգտագործում են սախարոզը, գլյուկոզը և մեկսան:

Եզրպտացորենի էքստրակտի բարձր խտությունները - բացասական ազդեցություն են թողնում պալարաբաղաճիկների աճի և նրանց բժշկների մորֆոլոգիական կառուցվածքի վրա (բժշկները աննորմալ մեծանում են, ուռչում են և ալյակերպվում):

Փորձարկումները ցույց տվեցին, որ եզրպտացորենի էքստրակտի միայն 0,3% խտության դեպքում չի նկատվում բժշկների մորֆոլոգիական փոփոխություն: