

УДК 576. 8.06: 577. 164.1

А. К. Паносян, Г. С. Бабаян, В. Г. Никогосян, Н. М. Саядян,
Дж. С. Мкртчян, С. Б. Шахмурадян

Синтез аминокислот и витаминов азотобактером и активаторами-микроорганизмами при совместном их развитии

Вопрос об азотфиксирующей активности азотобактера совместно с некоторыми группами микроорганизмов является предметом исследования многих ученых (Stoklasa, 1908; Löhnis, 1920; Федоров, 1952; Рубенчик, 1961; Мишустин, Шельникова, 1968).

В настоящее время известны многие виды микроорганизмов, которые при сожительстве не только интенсифицируют ассимиляцию атмосферного азота азотобактером, но и усиливают рост растений, повышая их урожайность (Паносян и др., 1961, 1962, 1962а, 1965, 1968).

За последние годы довольно обстоятельно исследован азотистый обмен азотобактера (Зайцева, 1965). Однако вопросы азотистого обмена в условиях совместного культивирования азотобактера с различными микроорганизмами остаются мало изученными.

Целью нашего исследования явилось изучение условий процесса синтеза аминокислот и витаминов группы В при совместном развитии азотобактера с микроорганизмами-активаторами.

Материал и методика исследований

Объектом исследований служили *Az. chroococcum* № 11 и *Vas. megaterium* № 30, а контролем служил производственный штамм *Az. chroococcum* № 53.

Изученные микроорганизмы выращивались на безазотных средах Виноградского и Эшби в лабораторных условиях (на качалках), а затем в ферментерах. В культуральной жидкости на 1, 2 и 3-и сутки культивации определялась интенсивность образования некоторых важнейших аминокислот и витаминов группы В.

Количество аминокислот определялось методом бумажной хроматографии (Ленинградская, быстрая) по видоизме-

нейшему способу Филипповича и Никитиной (1964), а также по Хайсу и Мацеку (1962).

Витамины группы В определялись видоизмененным микробиологическим методом Одиновой (1959), а B_{12} по методу Куцевой (1955).

Результаты исследований

Предварительные результаты исследований показали, что некоторые штаммы азотобактера и бактерий-активаторов по своим биологическим особенностям представляют большой интерес, особенно *Az. chroococcum*, штамм 11, и *Bac. megaterium*, штамм 30.

Лабораторные исследования по синтезу аминокислот приведены в табл. 1.

Таблица 1

Количество синтезированных аминокислот при раздельном и совместном развитии азотобактера с активаторами-микроорганизмами (γ /мл)

Испытанные штаммы	Лизин	Аргинин	Гистаминовая кислота	Аланин	Лейцин	Гистидин	Валлин	Фенилаланин
<i>Az. chroococcum</i> № 53	32	30	40	26	12	28	6	2
<i>Az. chroococcum</i> № 11	36	35	47	37	15	35	8	3
<i>Bac. megaterium</i> № 30	16	25	24	20	11	29	3	2
<i>Az. chroococcum</i> № 53	42	58	61	52	28	49	10	11
<i>Bac. megaterium</i> № 30	47	76	75	62	36	67	16	7
<i>Az. chroococcum</i> № 11								
<i>Bac. megaterium</i> № 30								

Из данных таблицы видно, что изучаемые аминокислоты в большем количестве синтезируются при совместном культивировании азотобактера с бактериями-активаторами, чем при раздельном его культивировании. Так, например, если азотобактер штамм 53 в 1 мл культуральной жидкости на 3-и сутки роста синтезирует 32 γ лизина, 30 γ аргинина, 26 γ аланина, то количество вышеуказанных аминокислот при совместном выращивании этого штамма с *Bac. megaterium* № 30 больше приблизительно в 1,5—2 раза.

Почти с такой же интенсивностью протекает синтез аминокислот со штаммом азотобактер № 11, как при отдельном выращивании, так и при совместном его росте с *Bac. megaterium* № 30.

Исследования по синтезу витаминов группы В (табл. 2) показали, что при совместном росте азотобактера с бактериями-активаторами синтезируется больше витаминов, чем при их раздельном культивировании. Так, если в 1 мл среды азотобактер № 53 на 3-и сутки культивирования синтезирует 0,3 γ тиамин, 0,3 γ пантотеновой кислоты, 0,4 мγ В₁₂, а бактерия-активатор *Bac. megaterium* № 30—0,15 γ тиамин, 0,06 γ пантотеновой кислоты и 0,27 мγ В₁₂, то при их совместном культивировании количество этих витаминов сравнительно больше.

Таблица 2

Количество синтезированных витаминов группы В при раздельном и совместном развитии азотобактера с активаторами-микроорганизмами (в γ/мл)

Испытанные штаммы	Тиамин	Пантотено- вая кисло- та	Пиридоксин	Никотино- вая кисло- та	Биотин	В ₁₂ , мγ/мл
<i>Az. chroococcum</i> № 53	0,3	0,3	0,08	0,6	0,2	0,4
<i>Az. chroococcum</i> № 11	0,2	0,3	0,15	0,8	0,2	0,8
<i>Bac. megaterium</i> № 30	0,15	0,06	0,024	0,12	0,06	0,27
<i>Az. chroococcum</i> № 53	0,7	0,6	0,3	0,8	0,24	2,8
<i>Bac. megaterium</i> № 30	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,6

При совместном же культивировании азотобактера штамм 11 с *Bac. megaterium* №30 количество синтезированных витаминов не превышает количества витаминов, синтезированных только азотобактером №11, иногда заметно даже некоторое уменьшение.

Для жизнедеятельности азотобактера и бактерий-активаторов существенное значение имеет количество внесенного в питательную среду кислорода.

Из литературных данных известно, что клетки азотобактера для синтеза 1 г сухого вещества за 1 час используют 400—500 мкл кислорода, *Pseudomonas aerogenes*—194-467, *Escherichia coli*—5-147, а *Brucella abortus*—3-58.

Исследования Кретовича и Любимова (1964) показали,

что потребность клубеньковых бактерий к кислороду большая. Для образования 1 г сухого вещества они используют 1000—2000 мкл кислорода.

Таблица 3

Влияние кислородного режима на интенсивность синтеза аминокислот

Испытанные штаммы	Количество кислорода мг/л в минуту	Сроки культивирования (часы)	Количество аминокислот в γ /мл							
			лизин	аргинин	глутаминовая кислота	аланин	лейцин	гистидин	валин	фенилаланин
Az. chroococcum № 53 Bac. megaterium № 30	16	24	25	41	30	28	10	22	4	Следы
		48	36	57	38	36	16	23	6	Следы
		72	32	78	41	31	20	26	6	4
	40	24	8	12	29	21	15	11	6	Следы
		48	42	76	95	30	77	57	26	22
		72	46	71	104	95	79	66	27	22
Az. chroococcum №11 Bac. megaterium №30	16	24	27	32	29	24	16	19	3	4
		48	36	52	50	32	48	29	16	9
		72	46	55	56	39	32	37	10	7
	40	24	33	44	70	56	42	40	22	8
		48	32	48	68	90	46	43	24	7
		72	53	58	98	95	62	58	26	8

Наши исследования (табл. 3) показали, что, когда в безазотистой среде, в условиях ферментера, количество кислорода увеличивается, то постепенно повышается жизнедеятельность азотобактера и микроорганизмов-активаторов, и, соответственно, в культуральной жидкости увеличивается количество аминокислот.

Так например, при подаче 40 мг/л кислорода в минуту на 3-и сутки роста синтезируется больше аминокислот, чем при 16 мг/л.

Было испытано также влияние различных концентраций кислорода на синтез витаминов группы В при совместном росте азотобактера с бактериями-активаторами. Полученные данные приведены в табл. 4.

Из приведенных данных видно, что оптимальное количество подачи кислорода для синтеза пантотеновой кислоты

составляет 40 мг/л, а для никотиновой кислоты, пиридоксина и B_{12} —16 мг/л в минуту.

Таблица 4
Влияние кислородного режима на интенсивность синтеза витаминов

Испытанные штаммы	Количество кислорода мг/л в минуту	Сроки культивирования (часы)	Количество витаминов в г/мл					
			B_1	B_3	B_6	РР	биотин	B_{12} в г/мл
Az. chroococcum № 53 Bac. magaterium № 30	16	24	0,27	0,15	0,24	0,25	0,27	2,1
		48	0,27	0,12	0,24	0,30	0,39	2,4
		72	0,39	0,18	0,72	0,55	0,33	4,2
	40	24	0,27	0,09	0,15	0,15	0,24	2,1
		48	0,54	0,36	0,24	0,67	0,24	2,4
		72	0,39	0,33	0,18	0,38	0,27	3,0
Az. chroococcum № 11 Bac. megaterium № 30	16	24	0,27	0,09	0,15	0,15	0,24	2,1
		48	0,54	0,36	0,24	0,67	0,24	2,4
		72	0,39	0,33	0,18	0,38	0,27	2,5
	40	24	0,25	0,16	0,15	0,51	0,12	1,35
		48	0,45	0,20	0,15	0,42	0,24	2,4
		72	0,45	0,22	0,15	0,69	0,24	3,0

Выводы

1. В безазотной среде, при совместном развитии Az. chroococcum с бактериями-активаторами синтезируется больше аминокислот и витаминов группы В, чем при их раздельном культивировании.

2. Интенсивность увеличения аминокислот при развитии азотобактера совместно с бактериями-активаторами обусловлена количеством растворимого кислорода. При 40 мг растворимого кислорода синтезируется в культуральной жидкости больше аминокислот, чем при 16 мг.

3. Синтез некоторых витаминов протекает интенсивнее при меньшем количестве подачи кислорода.

Հ. Գ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, Գ. Ս. ԲԱԲԱԼՅԱՆ, Վ. Գ. ԿԵՂԵՐՅԱՆ,
Ն. Մ. ՍԱՅԱԴՅԱՆ, Զ. Ս. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Ս. Բ. ՇԱԽՄԱՐԱԴՅԱՆ

**ԱՄԻՆԱԹԻՈՒՆՆԵՐԻ ԵՎ Բ ԵՄԲԻ ՎԻՏԱՄԻՆՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԸ
ԱՂՏԱՐԱԿՏԵՐՆԵՐԻ ԵՎ ԱԿՏԻՎԱՏՈՐ-ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ
ՀԱՄԱՏՆՂ ԱՃԵՑՈՂՈՒԹՅԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ**

Ա մ փ ո ւ լ մ

Անազոտ սննդամիջավայրում ազոտաբաղկատերի և ակտիվատոր միկրոօրգանիզմների համատեղ աճեցողության ընթացքում ամինաթթուների և «В» խմբի վիտամինների սինթեզին նվիրված ուսումնասիրություններից կարելի է եզրակացնել.

1. Ազոտաբաղկատերի և ակտիվատոր-միկրոօրգանիզմների համատեղ աճեցողության ընթացքում սինթեզվում են ավելի մեծ քանակությամբ ամինաթթուներ և «В» խմբի վիտամիններ, քան նրանց առանձին զարգացման պայմաններում:

2. Ֆերմենտյուններում ազոտաբաղկատերի և ակտիվատոր-միկրոօրգանիզմների համատեղ աճեցողության ընթացքում ամինաթթուների և «В» խմբի վիտամինների սինթեզման ինտենսիվությունը պայմանավորված է սննդամիջավայր ներմուծված թթվածնի քանակով:

ЛИТЕРАТУРА

- Зайцева Г. И. 1965. Биохимия азотобактера. М., «Наука».
Кретович В. Л., Любимов В. И. 1964. Природа, 12.
Куцева Л. С. 1955. Витаминные ресурсы и их использование. Сб. 3. Изд. АН СССР.
Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. 1968. Биологическая фиксация атмосферного азота. М., «Наука».
Одницова Е. Н. 1959. Микробиологические методы определения витаминов. Изд. АН СССР.
Паносян А. К., Арутюнян Р. Ш., Аветисян Н. А. 1961. ДАН Арм. ССР, 33, 3.
Паносян А. К., Арутюнян Р. Ш., Аветисян Н. А., Захарян С. В., Никогосян В. Г. 1962. ДАН Арм. ССР, 35, 3.
Паносян А. К., Арутюнян Р. Ш., Аветисян Н. А., Захарян С. В. 1962. Изв. АН Арм. ССР (биол. науки), 15, 2.
Паносян А. К., Арутюнян Р. Ш., Саядян Н. М. 1965. Изв. с.-х. наук МСХ Арм. ССР, 1.

- Паносян А. К., Арутюнян Р. Ш., Саядян Н. М., Мкртчян Дж. С.
1968. Изв. с.-х. наук МСХ Арм. ССР, 6, 7.
- Рубенчик Л. И. 1960. Азотобактер и его применение в сельском хозяйстве. Киев.
- Федоров М. В. 1952. Биологическая фиксация азота атмосферы. М., Сельхозгиз.
- Филиппович Ю. Б. и Никитина И. Л. 1964. Биохимия, 29, 2.
- Хайс И. М. и Мацек К. 1962. Хроматография на бумаге. М.
- Stoklasa I. 1908. Zbl. Bacteriol., Parasitenkunde, Infection skrankh. und Hyg., Abt. 2, 21.