

В. Г. Никогосян

ОБ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ АЗОТОБАКТЕР И ОЛИГОНИТРОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Свободноживущие в природе азотфиксаторы — азотобактер и олигонитрофильные микроорганизмы — еще с давнего времени стали предметом изучения многих зарубежных и отечественных исследователей.

В литературе имеется много ценных научных работ по изучению биологических особенностей этих микроорганизмов.

Работы различных авторов последних лет и наши собственные исследования указывают на некоторые сходства и отличия экологических и биологических особенностей азотобактера и олигонитрофильных микроорганизмов.

Сравнительное изучение экологических и биологических особенностей этих двух групп свободноживущих в почвах азотфиксаторов представляет большой теоретический интерес и может быть полезным для разрешения некоторых практических вопросов. В настоящей работе приводятся исследования отечественных и зарубежных авторов, а также данные собственных исследований по этим проблемам.

Экологические особенности свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов

Олигонитрофильные микроорганизмы широко распространены в различных географических зонах и субстратах. Их можно обнаружить почти повсеместно. Исследования Артамоновой и Красильникова (1972) показали, что олигонитрофильные микро

организмы распространены даже в условиях Арктики и Антарктиды.

Азотобактер для роста и развития требует определенных условий внешней среды (рН, влажность, температура, наличие макро и микроэлементов и т.д.), вследствие чего, в отличие от олигонитрофильных микроорганизмов, несравненно меньше распространен в природе (Федоров, 1952; Рубенчик, 1960; Мишустин, Шильникова, 1968). Несмотря на это, у этих двух групп свободноживущих азотфиксаторов наблюдаются некоторые сходства в закономерностях их распространения.

Исследования по изучению распространения азотобактера в почвах Армянской ССР показали, что почвы низинных районов, которые содержат 0,1–0,2% азота и 2% гумуса в зависимости от степени карбонатности, содержат больше азотобактера, чем черноземы горных районов, богатых органическими и азотными веществами – азота 0,5–0,8%, гумуса – 5–10% (Киракосян и др., 1955). Проведенные нами в этом направлении исследования относительно олигонитрофильных микроорганизмов выявили те же закономерности (Никогосян и др., 1974 а).

Изучение обнаженных почвогрунтов озера Севан показало, что азотобактер в основном широко распространен в почвах, богатых олигонитрофильными микроорганизмами.

Исходя из вышесказанного, надо полагать, что азотобактер и олигонитрофильные микроорганизмы, распространенные в различных почвенно-климатических зонах Армении, обладают некоторыми общими свойствами в приспособляемости к среде. Но отмечаются и некоторые отличия по динамике развития в почвах свободноживущих азотфиксаторов в течение года. Во многих почвах северных и южных районов Союза максимальное количество азотобактера наблюдалось весной и летом (Карагуйшиева, 1963; Гогоадзе, 1966; Пакусин, 1966; Мишустин, Шильникова, 1968), а олигонитрофильных микроорганизмов – весной и зимой (Мишустина, 1955; Никогосян и др., 1974 а).

Количество азотобактера и олигонитрофильных микроорганизмов в различных слоях почвы не всегда одинаково. Олигонитрофильные микроорганизмы в основном распространены в верхних слоях (0–10 см) почвы (Мишустина, 1955; Пишоха, 1968; Никогосян и др., 1974 а), а азотобактер, наоборот, по данным некоторых авторов, встречается на глубине 20–40 см (Мишустин, Шильникова, 1968).

Известно, что азотобактер - аэроб и хорошо развивается в условиях аэрации, но может быть и микроаэрофилом (Chang, Knowles, 1965). Установлено, что сильная аэрация среды тормозит процесс азотфиксации (Федоров, 1952; Bulea et al., 1963).

Лабораторные исследования олигонитрофильных микроорганизмов, выделенных из почв Арм. ССР, показали, что они в основном микроаэрофилы, и поэтому сильная аэрация не способствует их размножению и процессу азотфиксации (Никогосян и др., 1974 б). Того же мнения придерживались Мишустина (1955) и Калининская (1967) при изучении олигонитрофильных микроорганизмов, распространенных в различных типах почв Союза.

Значение pH среды для развития и азотфиксирующей активности азотобактера изучалось многими авторами. Исследования показали, что азотобактер может развиваться в пределах pH 4,5-9,0, хотя при низких pH его развитие и процесс азотфиксации значительно ослабевают (Блинков, 1951; Работнова, Родионова, 1953; Киракосян и др., 1966, Burk et al., 1934 и др.).

Наши исследования показали, что большинство олигонитрофильных микроорганизмов способно развиваться в тех же пределах pH, что и азотобактер, хотя некоторые олигонитрофильные микроорганизмы лучше развиваются при сильно кислом или щелочном значении pH, чем при нейтральном.

Азотобактер является мезофилом и по данным многих авторов его оптимальная температура развития колеблется в пределах 25-30°. Наши исследования показали, что оптимальная температура развития для олигонитрофильных микроорганизмов находится в тех же пределах, что и для азотобактера, хотя отдельные культуры хорошо развиваются при 5-10°, подобно психрофильным организмам. Этой особенностью в основном отличаются олигонитрофильные микроорганизмы, распространенные в обнаженных почвогрунтах озера Севан.

Из биологических факторов особый интерес представляют взаимоотношения азотобактера и олигонитрофильных микроорганизмов с другими почвенными микроорганизмами.

Отдельные почвенные микроорганизмы стимулируют развитие и процесс азотфиксации азотобактера и олигонитрофильных микроорганизмов, что известно из работ многих авторов

(Ван Цзы-Фан, 1958; Головачева, 1959; Федоров, Калининская 1961; Паносян и др., 1962; Калининская, 1967; Колешко, Стефанович, 1969; Remacle, 1966 и др.). Интересно отметить, что целлюлозоразлагающие микроорганизмы стимулируют развитие и азотфиксацию как у азотобактера (Имшенецкий, 1953; Возняковская, 1954; Radulovic, Hauzer, 1967), так и у олигонитрофильных микроорганизмов (Калининская, 1966; Неплекова, 1970). Однако почвенные микроорганизмы могут не только стимулировать, но и подавлять рост и развитие азотобактера (Африкян, 1954; Степанова, 1961; Вардапетян, 1965, и др.) и олигонитрофильных микроорганизмов (Никогосян, Шахмурадян, 1976). Из изученных нами микроорганизмов сильными антагонистами в отношении олигонитрофильных микроорганизмов оказались спорообразующие бактерии (табл. 1). Аналогичные явления наблюдались и в отношении азотобактера (Африкян, 1954).

Таблица 1

Антагонистическое действие различных почвенных микроорганизмов на олигонитрофильные микроорганизмы

Виды микроорганизмов и штаммы		Количество исследованных олигонитрофилов	Количество олигонитрофилов, подверженных антагонистическому действию	
			число	%
<i>Bac. polymyxa</i>	85	45	31	68,8
<i>Bac. polymyxa</i>	550	10	7	70,0
<i>Bac. cereus</i>	175	33	13	39,3
<i>Bac. mesentericus vulgatus</i>	25	33	13	39,3
<i>Bac. mesentericus citreus</i>	63	35	17	48,5
<i>Bac. subtilis</i>	6633	35	17	48,5
<i>Az. chroococcum</i>	53	45	0	0
<i>Az. agile</i>	7	33	1	3,3
<i>Rh. meliloti</i>	21	33	1	3,3
<i>Rh. leguminosarium</i>	129	33	0	0
<i>Mycobacterium</i>	142	45	5	11,1
<i>Mycobacterium</i>	582	33	4	12,1
<i>Act. griseus</i>	105	45	4	8,8

На основании вышеизложенных данных можно отметить, что по отношению к отдельным факторам внешней среды, а также по особенностям экологической распространенности, азотобактер и олигонитрофильные микроорганизмы значительно сходны.

Исходя из того, что олигонитрофильные микроорганизмы широко распространены в природе, априорно можно предположить, что эти микроорганизмы по сравнению с азотобактером менее требовательны к факторам внешней среды, хорошо приспосабливаются и развиваются при неблагоприятных условиях.

Физиолого-биохимические особенности свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов

Фиксация атмосферного азота является одной из основных особенностей азотобактера и олигонитрофильных микроорганизмов. Азотфиксирующее свойство последних в лабораторных и полевых условиях в настоящее время подтверждается очень чувствительными методами с применением изотопов (N^{15}), путем восстановления ацетилена в этилен (Кондратьева, 1963; Мальцева, Юрченко, 1971; Мальцева, 1973; Калининская и др., 1973, и др.). Мишустин и Шильникова (1968) приводят данные многих отечественных и зарубежных авторов, свидетельствующие о том, что атмосферный азот фиксируют различные группы микроорганизмов, в том числе дрожжи, грибы, актиномицеты и ряд прототрофов, фотогетеротрофов.

Азотфиксирующая способность азотобактера и олигонитрофильных микроорганизмов изучалась многими исследователями. Большинство данных свидетельствуют о том, что процесс азотфиксации у азотобактера происходит намного интенсивнее, чем у олигонитрофильных микроорганизмов. Аналогичные данные получены и в наших исследованиях (Никогосян и др., 1974 б). Несмотря на это, Федоров и Калининская (1960, 1961) показали, что количество азота, фиксированного смешанными культурами олигонитрофильных микроорганизмов, иногда доходит до количества азота, связываемого азотобактером.

Азотобактер и олигонитрофильные микроорганизмы одинаково хорошо относятся к наличию в питательной среде "стартовых" доз азота. Незначительное количество минерального азота в среде способствует процессу азотфиксации у этих культур (Федоров, 1952; Калининская, Ильина, 1965; Мишустин, Шиль-

никова, 1968; Мальцева и др., 1973; Клевенская, 1975).

В отличие от азотобактера, олигонитрофильные микроорганизмы не могут развиваться на среде при полном отсутствии азота, и повышение дозы азота способствует развитию олигонитрофильных микроорганизмов (Мальцева и др., 1973; Клевенская, 1975). Исследования Мальцевой с соавт. (Мальцева, 1968, 1971; Мальцева и др., 1973) установлено, что олигонитрофильные микроорганизмы на питательной среде с незначительным количеством азота в процессе развития синтезируют в клетках белки в небольших количествах (4,8 – 17%) и значительно больше углеводов (47,2 – 70,3%). Соотношение C : N в клетках олигонитрофильных микроорганизмов близко к азотобактеру.

Азотобактер и олигонитрофильные микроорганизмы образуют в больших количествах внеклеточные полисахариды. Мальцева и Карпушин (1969) считают это свойство у олигонитрофильных микроорганизмов характерной культуральной особенностью.

Как азотобактер (Федоров, 1962; Мишустин, Шильникова, 1968), так и олигонитрофильные микроорганизмы (Калинская 1967; Мальцева, Карпушин, 1969; Клевенская, Кленов, 1972; Квасников и др., 1973; Никогосян и др., 1974 б) в качестве источника углерода используют углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты и, как недавно выяснено, углеводороды и гуминовые кислоты.

По аминокислотному составу клеток, олигонитрофильные микроорганизмы и азотобактер также схожи. Наши исследования по данному вопросу показали, что в белке олигонитрофильных микроорганизмов имеются 17 аминокислот и 2–3 неидентифицированных веществ в Rf, расположенных выше лейцина (Никогосян, 1976). Интересно отметить, что неидентифицированные вещества в указанных Rf обнаружены Зайцевой (1965) и нами при изучении аминокислотного состава клеток азотобактера.

Качественный и количественный состав аминокислот у олигонитрофильных микроорганизмов, как и их развитие, в основном обусловлены наличием минерального азота в среде. Культура азотобактера, независимо от присутствия азота в среде, синтезируют аминокислоты почти в одинаковых количествах (табл. 2).

Наши дальнейшие исследования выявили, что олигонитрофильные микроорганизмы более устойчивы к антибиотикам, чем азо-

Таблица 2

Синтез общих аминокислот олигонитрофильными микроорганизмами (количество, мкг/мл)

Виды и штаммы бактерий	Питательные среды	Листенин	Лизин	Листидин	Аргинин	Аспаргин	Вак-к-та	Липин	Глутамин	Вак-к-та	Треонин	Аланин	Пролин	Тирозин	Метионин	Валин	Фенил-аланин	Лейцин	Изолейцин
<i>Az. chroococcum</i> 53	Эшби	20	21	22	36	сл.	48	52	15	22	сл.	5	5	33	10	42	-	-	-
	Асаи	20	24	35	25	22	9	132	20	46	сл.	2	4	12	12	22	-	-	-
<i>Vac. cohaerens</i> 6 ₁	Эшби	11	13	8	14	5	29	20	4	7	сл.	сл.	сл.	4	17	17	сл.	сл.	сл.
	Асаи	68	115	82	120	95	24	160	сл.	195	сл.	36	22	74	50	172	сл.	сл.	сл.
<i>Vac. oligonitrophilus</i> 150	Эшби	сл.	2	сл.	7	сл.	2	4	-	сл.	-	-	-	2	-	5	-	-	-
	Асаи	45	56	46	48	64	58	35	сл.	93	-	14	10	38	25	116	-	-	-
<i>P.s. turcosa</i> 151	Эшби	-	2	сл.	3	-	2	6	-	2	-	-	-	2	-	2	-	-	-
	Асаи	30	44	110	95	80	2	115	2	60	сл.	10	5	25	15	3	сл.	сл.	сл.
<i>P.s. sp.</i> 44	Эшби	-	2	-	2	-	2	4	-	2	-	-	-	-	-	сл.	-	2	-
	Асаи	29	98	190	105	118	13	150	3	122	-	28	10	52	58	200	сл.	сл.	сл.

Примечание: (-) - не обнаружено; сл. - следы

тобактер. Данные табл. 3 показывают, что испытанные концентрации антибиотиков оказали определенное бактерицидное действие на культуры азотобактера, в то время как большинство олигонитрофильных микроорганизмов не подвергалось подобному действию антибиотиков.

Последующие испытания более высоких и низких концентраций антибиотиков показали, что многие виды олигонитрофильных микроорганизмов, в зависимости от культуры, в десятки и сотни раз устойчивее к стрептомицину, пенициллину, тетрациклину и биомицину, чем азотобактер. Широкое распространение олигонитрофильных микроорганизмов в природе, очевидно, обусловлено также и их устойчивостью к различным антибиотикам.

Таблица 3

Влияние различных концентраций антибиотиков на олигонитрофильные микроорганизмы и азотобактер

Группы азот- фиксаторов	Кол-во исслед. культур	Концентрация антибиотиков и количество культур, подверженных антагонистическому действию							
		стрепто- мицин,		пеницил- лин,		тетрацик- лин,		биоми- цин,	
		мкг/мл		мкг/мл		мкг/мл		ед/мл	
		20	100	20	100	20	100	10	50
Олигонитро- филы	115	78	94	34	45	46	89	43	93
Азотобактер	11	11	11	11	11	11	11	11	11