

А. К. Паносян

Азотобактерии солончаковых почв

Изучением процессов фиксации азота в солончаках занялся впервые Липман со своими учениками (Lipman, 1912, 1912a, 1913). Исследуя фиксацию азота, они вначале пришли к заключению, что в солончаках этот процесс выражен слабо, впоследствии же, путем точных исследований, им удалось все же установить, что при определенной концентрации различных солей и их комбинаций фиксация азота получает определенное выражение. Они доказали, что 0,5—0,6% NaCl, 1,25% Na_2SO_4 и 0,4—0,5% Na_2CO_3 на фиксацию азота действуют депрессирующе. Однако, нужно сказать, что и при наличии этих солей, по сравнению с другими процессами, фиксация азота протекает все же достаточно заметно. Фиксирующие азот организмы солончаков показывают такое же отношение к солям, как развивающиеся в солончаках солевыносливые растения, как, например, тамариксы.

Исследуя влияние NaCl, Na_2CO_3 , Na_2SO_4 и других солей на азотофиксирующие микроорганизмы солончаков, Зинг (Sirgh, 1918) показал, что вредные концентрации этих солей лежат выше, чем это указывали Липман и его сотрудники.

Подтвердив наблюдение Зинга, Гривс (Greaves, 1916, 1922—1922a) рядом своих опытов установил, что бактерии, фиксирующие в солончаках азот, проявляют большую выносливость к солям, чем нитрификаторы или аммонификаторы.

Телегди-Коватс (Telegdy Kovats, 1927) своими опытами показал, что из искусственных цеолитов на фиксацию азота Na-permutit действует отрицательно, а Ca-permutit, наоборот, положительно. Азотофиксирующие бактерии более устойчивы против влияния искусственных цеолитов, чем нитрифицирующие бактерии.

Бокор (Вокор, 1928) свидетельствует, что действующие

в солончаках азотофиксаторы могут фиксировать азот только до тех пор, пока в почве имеется достаточное количество органических веществ.

Сабанин и Генкель (1927), Генкель и Захарова (1927), исследуя из засоленных почв солонцы, показали, что эти почвы богаты азотобактером, по данным же Вернера (1945), азотобактеры чрезвычайно солевыносливы.

Как видим из приведенных данных, отдельные авторы дают различное заключение об азотофиксаторах в солончаках. О биологических особенностях азотофиксирующих бактерий солончаков на основании литературных данных сказать, что либо определенное мы не можем, т. к. до сих пор многие их характерные признаки не выяснены.

Несмотря на это, существование в засоленных почвах азотофиксирующих бактерий и в некоторой степени ассимилирующих атмосферный азот представляется бесспорным фактом.

Во время наших исследований (1948) мы обратили соответствующее внимание на изучение азотосвязывающих бактерий солончаков.

Для культивирования *Azotobacter* были использованы гелевые пластинки Виноградского (Winogradsky, 1925), с питательной средой, предложенной Эшби (Ashby, 1907), или же следующей питательной средой, предложенной нами:

Экстракта изучаемой засоленной почвы	1000,0 см ³
Маннита	20,0 г
Фосфорнодвукалийевой соли	0,2 г
Мела	5,0 г

Указанными питательными веществами были пропитаны гелевые пластинки в чашках Петри и на них было посыпано некоторое количество изучаемой почвы в виде мелких зернышек. Затем чашки Петри с содержимым были помещены в термостат при t° в 25° на 7—10 дней. Вокруг зернышек начали появляться слизистые колонии *Azotobacter*, в дальнейшем приобретающие темную пигментацию. Эти колонии были количественно учтены.

Для количественного учета азотобактера мы считали более правильным почву солончака разводить до 1/20.000.000 и при

заражении среды пользовались следующими разведениями: 1/5.000, 1/10.000, 1/100.000, 1/1.000.000, 1/10.000.000 и 1/20.000.000.

Каждое разведение было засеяно в приготовленные жидкие среды указанного выше состава в колбочках Эрленмейера или же на гелевые пластинки с теми же средами. Повторность опыта была пятикратная. После заражения колбы на 10 — 15 дней ставились в термостат и выдерживались в нем при температуре 25° С. После этого содержимое колбы подвергалось микроскопическому исследованию для обнаружения клеток азотобактера. Затем, пользуясь формулой и таблицей Мак Креди (Войткевич и др., 1933), подсчитывалось количество азотобактера.

Результаты подсчета бактерий, как на гелевых пластинках, так и в жидкой среде, резюмированы в нижеследующей таблице 1.¹

Таблица 1

Количество бактерий типа *Azotobacter chroococcum* (в 1 г засоленной почвы в миллионах)

Характер солончака	Глубина слоя в см	На гелевых пластинках		В жидкой среде
		при питательн. среде Эшби	при экстракте из изучаемой засолен. почвы	
Корковый	0—25	10,4	21,8	25,0
	25—50	7,8	18,0	15,0
Мокрый	0—25	5,0	20,2	12,0
	25—50	2,1	15,4	7,0
Пухлый	0—25	5,5	23,8	17,5
	25—50	6,3	20,6	17,5
Мокро-пухлый комплексный	0—25	9,3	21,4	15,0
	25—50	7,8	17,6	12,0

¹ В таблице приводятся данные, касающиеся азотобактера лишь засоленных почв Эвджиларского района.

Как видно из таблицы, в засоленных почвах имеется много зародышей азотобактера, а это является косвенным доказательством того, что ассимиляция азота в этих почвах может происходить весьма интенсивно. Судя по богатству солончаков азотобактером можно думать, что в них ассимиляция азота иногда протекает более интенсивно, чем в новоосвоенных почвах той же Араратской равнины (Киры и др.).

Почвы с разной степенью засоленности резко различаются по богатству азотобактером. В этом отношении корковые солончаки занимают первое место; азотофиксирующими бактериями наиболее бедны мокрые солончаки, а сухие занимают промежуточное положение. Азотобактер в засоленных почвах распространен, главным образом, в верхних слоях почвы, и нужно сказать, что перемещение солей из слоя в слой в разное время года также определенным образом действует на этот микроорганизм. Пока концентрация солей не подвергается изменениям, количество этих бактерий постоянно, но достаточно, чтобы концентрация изменилась, их количество также меняется в ту или другую сторону. Когда весной, вследствие высокой влажности верхних слоев, концентрация солей здесь понижается, то количество азотобактера увеличивается и, наоборот, при перемещении солей в нижние слои, концентрация растворов в последних повышается и поэтому количество азотобактера резко падает. Летом мы видим обратную картину.

Параллельно с учетом количества азотобактера представлялось желательным определить потенциальную способность изучаемых почв к фиксации атмосферного азота, благодаря чему можно было получить возможность более ясно представить себе активность организмов этой весьма важной физиологической группы.

Для исследования способности к ассимиляции азота микрорифлоры исследуемых почв нами были использованы методы Реми-Лениса и Виноградского. При использовании метода Реми-Лениса, мы, помимо предложенного ими экстракта садовой почвы, использовали также экстракт исследуемой почвы.

В наших работах были взяты питательные среды следующего состава:

I			II		
K_2HPO_4	—	0,05%	K_2HPO_4	—	0,05%
Маннита	—	1,00%	Маннита	—	1,00%
Мела	—	следы	Мела	—	следы
Экстракта садовой почвы	—	100 см ³	Экстракта солончаковой почвы	—	100 см ³

50 см³ каждого из этих питательных веществ наливалось в колбы Эрленмейера емкостью в 250—300 см³ и заражалось образцами исследуемой почвы, в количестве 5 г.

Колбы, зараженные почвой, помещались на 20—25 дней в термостат при температуре 25°, после чего определялся общий азот раствора по Кельдалю. Каждый образец почвы имел 3 повторности.

Таким образом определялась способность фиксации азота в различные времена года, когда исследуемые почвы имели различную степень влажности и концентрации солей. Описанное исследование производилось нами в течение 3-х лет. Результаты этих исследований обобщены в таблице 2.

Приведенные данные показывают, что микрофлора солончаков Армянской ССР вызывает довольно интенсивную ассимиляцию азота. Именно, в солончаках всех типов, при разложении 1 г маннита фиксировалось около 4—11 мг азота.

Таблица 2

Потенциальная способность микрофлоры солончаков к фиксации атмосферного азота (количество усвоенного азота в мг в 100 см³ почвенного экстракта)

Характер солончака	Глубина слоя в см	В экстракте садовой почвы			В солончаковом экстракте		
		весной апрель	летом июль	осенью октябрь	весной апрель	летом июль	осенью октябрь
Корковый	0—25	7,28	6,57	6,67	8,14	9,01	9,86
	25—50	4,90	5,06	5,61	6,31	5,90	6,95
Мокрый	0—25	6,20	5,21	4,42	6,34	5,55	6,41
	25—50	5,13	6,21	5,84	4,18	6,93	6,7
Пухлый	0—25	8,51	8,16	7,77	9,14	9,67	10,69
	25—50	5,33	5,55	5,83	5,47	5,65	6,26
Мокро-пухлый комплексный	0—25	7,11	7,32	8,25	10,76	8,82	10,12
	25—50	5,13	4,24	4,63	6,45	6,38	7,12

Ассимиляция азота, как и остальные микробиологические процессы в солончаках, протекает с различной интенсивностью не только в зависимости от типа солончака, но также и от приращенной питательной среды.

Микрофлора всех изученных солончаков вызвала довольно активный процесс связывания атмосферного азота, причем в среде с солончаковым экстрактом он протекает энергичнее. Из различных типов солончаков пухлый солончак вызывал течение наиболее интенсивного процесса, в мокром же фиксация азота протекала более слабо. Фиксация азота в среде с корковым солончаком шла также интенсивно. Полученный материал позволяет заключить, что если количество хлоридов в почве превосходит остальные соли, т. е. сульфаты и карбонаты, то фиксация азота протекает медленно.

Отсюда становится ясным, что на фиксацию азота хлориды действуют более сильно, чем сульфаты и карбонаты.

Одновременно наличие сульфатов и карбонатов ослабляет вредное действие хлоридов; например, в мокро-пухлом комплексном солончаке фиксация азота идет всегда сильнее.

Ассимиляция азота происходит с большей или меньшей интенсивностью не только в солончаках различных типов, но и на различной глубине одного и того же солончака, где в зависимости от времени года и влажности почвы концентрация солей сильно колеблется.

Так, например, если при заражении среды почвой, взятой из верхнего слоя коркового солончака, в условиях солончакового экстракта, в осенние месяцы при разложении одного маннита фиксируется 9,86 мг азота, то в тех же условиях, пробе, взятой из нижнего слоя, связывается 6,95 мг.

Пробы почв пухлых и мокро-пухлых комплексных солончаков как из нижнего, так и из верхнего слоя вызывают примерно одинаковую энергию фиксации азота. Более того, в нижних слоях этих почв фиксаторы азота в некоторых случаях, например, летом, как будто бы были более энергичны. Здесь определенно сказывается перемещение хлоридов. В то время пока в верхнем слое влажность высока, хлориды спускаются вниз, отчего в верхнем слое концентрация хлоридов понижается и ассимиляция азота усиливается. Когда же в летние жа

ние месяцы хлориды из нижних слоев поднимаются в верхние, в нижних слоях концентрация солей понижается. Поэтому в жаркое время года в верхнем слое почвы фиксаторы азота могут быть ослаблены.

Как бы ни протекала ассимиляция азота в солончаках, каким бы изменениям она ни подвергалась в течение года, во всяком случае в этих почвах должно связываться определенное количество элементарного азота и по активности азотофиксаторов солончаки Араратской равнины почти не отстают от культурно-поливных почв той же равнины. Это подтверждают материалы таблицы 3, в которой приведены некоторые цифровые данные, иллюстрирующие активность азотофиксаторов культурно-поливных почв Араратской равнины.

При рассмотрении данных таблицы 3 видим, что солончаки Армянской ССР по активности азотофиксаторов мало отстают от культурных почв. Это относится не только к ассимиляции азота, но и к содержанию в солончаках органического азота, имеющегося здесь в таком же количестве, как и в культурно-поливных почвах.

Последнее обстоятельство уже само по себе является доказательством того, что вследствие деятельности микроорганизмов в этих почвах азот фиксируется со значительной интенсивностью.

Таблица 3

Потенциальная активность азотобактеров солончаков и культурных почв (количество усвоенного азота в мг в 100 см³ экстракта)

Питательные вещества	Солончаки				Культурные почвы			
	На глубине 0—25 см							
	Корковый	Мокрый	Пухлый	Мокро-пухлый комплексный	Садовая полив- ная	Поливная из- под хлопчатника	Поливная из- под люцерны	Полупус. каме- нист. невод. почва
Экстракт садовой почвы	6,88	5,27	8,48	7,60	11,61	10,69	12,44	2,12
Солончаковый экстракт	9,00	6,10	9,83	9,90	—	—	—	—

Примечание: Среды, как и всегда, заражались 10 г почвы.

По своей способности ассимилировать азот солончаки стоят несравненно выше необработанных каменистых почв.

Как было упомянуто выше, способность фиксации азота солончаках в большой степени зависит от изменения концентрации солей различных слоев почвы, а эта последняя в такой же мере зависит от влажности почвы.

Отмеченным вполне можно объяснить колебания в активности азотофиксаторов, наблюдающиеся по временам года (см. табл. 4).

Таблица

Ассимиляция атмосферного азота микрофлорой солончаков

Характер солончака	Время взятия пробы	Степень влажности почвы в подсчете $\frac{0,0}{100}$ от влагоемкости	Общее количество растворов солей в абсолютно сухой почве в $\frac{0,0}{100}$	Количество азота, усвоенного в 100 см ³ почвен. экстракта (азот)
Корковый	Весна	55,0	1,05	7,28
	Лето	10,0	2,4	6,57
	Осень	30,0	1,8	6,67
Мокрый	Весна	77,6	2,24	6,34
	Лето	50,0	4,22	5,55
	Осень	55,0	3,95	6,41
Пухлый	Весна	50,0	2,12	10,69
	Лето	15,0	3,66	7,74
	Осень	25,0	3,24	9,67
Мокро-пухлый комплексный	Весна	60,6	2,65	10,76
	Лето	30,0	3,84	8,82
	Осень	45,0	3,18	10,12

Для учета ассимиляционной способности микрофлоры солончаковой почвы по отношению к газообразному азоту на были использованы также и гелевые пластинки Виноградского с безазотистой маннитной питательной средой.

Несмотря на то, что на этой питательной среде ассимиляция азота протекала очень медленно, однако, получилась же закономерность, что и при использовании метода Ремениса (см. таблицу 5).

Таблица 5

Ассимиляция азота на гелевых пластинках по Виноградскому
(азот в мг)

Характер солончака	Глубина слоя в см	Время определения		
		Весна апрель	Лето июль	Осень октябрь
Корковый	0—25	4,55	3,14	4,08
	25—50	2,85	3,06	2,42
Мокрый	0—25	3,25	1,49	2,99
	25—50	1,77	2,64	2,21
Пухлый	0—25	5,68	3,44	4,34
	25—50	8,36	4,52	3,82
Мокро-пухлый комплексный	0—25	5,33	2,88	3,77
	25—50	2,69	3,46	3,62

Примечание: Пластинки заражены 1 г почвы.

Как видно из таблицы 5, весной, когда в верхнем слое почвы влажность еще высока и концентрация солей сравнительно невелика, на гелевых пластинках ассимиляция азота характеризуется сильной. Летом, вследствие уменьшения влажности, концентрация солей увеличивается, активность азотофиксаторов ослабевает, осенью же снова усиливается, т. к. в это время влажность верхнего слоя повышается, а концентрация солей соответственно снижается, и наоборот.

Фиксация азота на гелевой пластинке также свидетельствует о том, что в солончаках различных типов интенсивность ассимиляции азота не одинакова.

Во время работы нами был выделен целый ряд культур азотобактера, изучение которых показало, что по своим морфологическим признакам они сильно отличаются от известных форм, описанных Бейеринком (Beijerinck, 1901, 1902), Липманом (Lipman, 1903, 1904) и Ленисом (Lohnis, 1908). Это обстоятельство побудило нас более детально изучить особенности этих культур и одновременно выяснить их азотофиксирующую способность. Нами были изолированы до 30 культур

бактерий, однако, изучены были только 2 формы, зарегистрированные под № № 6 и 23. По своим морфологическим признакам штамм № 6 имел сходство с выделенным Бейерником *Azotobacter chroococcum*, а штамм № 23 по ряду признаков колоний сильно напоминал *Bacterium radiobacter*, описанный Ленисом и Гансеном (Löhnis a. Hansen, 1921). Нас заинтересовал также один актиномицет (культура № 16), который мог развиваться на среде, содержащей связанный азот.

После проверки чистоты культур мы прежде всего исследовали их способность ассимилировать газообразный азот, затем уже их биохимические особенности. Для определения азотофиксирующей способности мы приготовили ряд питательных сред, имеющих следующий состав:

I		II	
Садовой почвы	1,00%	Садовой почвы	1,00%
Маннита	1,00%	Глицерина	1,00%
K ₂ HPO ₄	0,050%	K ₂ HPO ₄	0,050%
М е л а	следы	М е л а	следы
Экстракта садовой почвы	100 см ³	Экстракта садовой почвы	100 см ³
III		IV	
Солончаковой почвы	1,00%	Солончаковой почвы	1,00%
Маннита	1,00%	Глицерина	1,00%
K ₂ HPO ₄	0,050%	K ₂ HPO ₄	0,050%
М е л а	следы	М е л а	следы
Экстракта садовой почвы	100 см ³	Экстракта садовой почвы	100 см ³
V		VI	
Садовой почвы	1,00%	Садовой почвы	1,00%
Маннита	1,00%	Глицерина	1,00%
K ₂ HPO ₄	0,050%	K ₂ HPO ₄	0,050%
М е л а	следы	М е л а	следы
Экстракта солончака	100 см ³	Экстракта солончака	100 см ³
VII		VIII	
Солончаковой почвы	1,00%	Солончаковой почвы	1,00%
Маннита	1,00%	Глицерина	1,00%
K ₂ HPO ₄	0,050%	K ₂ HPO ₄	0,050%
М е л а	следы	М е л а	следы
Экстракта солончака	100 см ³	Экстракта солончака	100 см ³

50 см³ каждой из вышеупомянутых питательных сред наливалось в колбы Эрленмейера, емкостью в 250—300 см³ и стерилизовались в автоклаве в течение 15 минут, при 115°; питательные среды в колбах затем заражались имеющимися у нас культурами. Опыт был поставлен в 3-х повторностях. Зараженные колбы выдерживались в термостате при 25° 20—25 дней, после чего в каждой колбе определялся азот по Кельдалю. Данные этих опытов обобщены в таблице 6.

Таблица 6

Усвоение элементарного азота микроорганизмами солончаков
(количество усвоенного азота в мг в 100 см³ среды)

Экстракт	Добавки, внесенные к почвенному экстракту	Бактерия № 6	Актиномикет № 16	Бактерия № 23
Садовой почвы 100 см ³	Садов. почва 1% + маннит 1% + K ₂ HPO ₄ 0,05% + следы мела	2,62	1,78	1,75
	Садов. почва 1% + глицерин 1% + K ₂ HPO ₄ 0,05% + следы мела	1,13	2,94	3,31
	Солончак 1% + маннит 1% + K ₂ HPO ₄ 0,05% + следы мела	5,43	4,28	2,55
Солончаковой почвы 100 см ³	Солончак 1% + глицерин 1% + K ₂ HPO ₄ 0,05% + следы мела	3,41	3,93	5,02
	Садов. почва 1% + маннит 1% + K ₂ HPO ₄ 0,05% + следы мела	10,94	5,08	3,82
	Садов. почва 1% + глицерин 1% + K ₂ HPO ₄ 0,05% + следы мела	5,06	5,50	6,11
	Солончак 1% + маннит 1% + K ₂ HPO ₄ 0,05% + следы мела	13,32	5,93	6,68
	Солончак 1% + глицерин 1% + K ₂ HPO ₄ 0,05% + следы мела	8,05	5,49	8,12

Примечание: Среда заражалась 1 г почвы.

Как видно из этой таблицы, выделенные нами микроорганизмы фиксируют азот с различной интенсивностью. Наиболее активной из этих микроорганизмов является бактерия № 6 (типа *Azotobacter chroococcum*), которая в солончаковом экстракте фиксирует 13,32 мг азота.

Бактерия № 6 фиксирует значительное количество азота также и в других питательных средах, но сравнительно мало.

При замене маннита глицерином ассимиляционная способность бактерии уменьшалась.

Штамм № 23 (типа *Radiobacter*) на глицериновой питательной среде с экстрактом солончака связывал газообразный азот наиболее интенсивно. В среде с экстрактом садовой почвы процесс фиксации азота шел хуже.

Если эти два микроорганизма развивались отдельно, то они усваивали азот слабее, чем при совместном развитии.

Еще Бейеринк при определении азотофиксирующей способности *Azotobacter chroococcum* указал, что если он развивается в среде совместно с другими бактериями, как, например, с анаэробным *granulobacter* и аэробными *Bact. radiobacter* и *Bact. aërogenes*, то показывает лучшую активность.

Симбиоз азотобактера с другими бактериями сделался объектом изучения многих ученых (Липман — Lipman, 1913; Ленне — Löhnis, 1905; Стоклаза — Stoclasa, 1908 и др.), причем были получены весьма разноречивые результаты.

В одной нашей работе мы (1930) показали, что если азотобактер развивается совместно с *Bact. aërogenes* и в качестве источника питания использует арабинозу и ксилозу, то ассимиляция азота усиливается на 300%.

В последнее время в литературе часто упоминается, что при выделении азотобактера или при определении азотосвязывающей способности почвы в начальной стадии происходит сильное брожение, которое, прорывая характерную пленку азотобактера, препятствует ее развитию на поверхности жидкости (Баумгертель — Baumgertel, 1926, 1929). Рядом ученых это явление объяснялось почти исключительно деятельностью связывающей азот анаэробной бактерии *Clostridium pasteurianum*. Между тем наши наблюдения показали, что очень часто в бродящих растворах характерные клетки *Clostridium* не обнаруживаются. Наряду же с азотобактером всегда было много очень мелких палочкообразных бактерий типа *Bact. aërogenes*.

Как опыты Скиннера (Skinner, 1928), так и наши, показали, что *Bact. aërogenes* сам азота не связывает, но когда

он сопутствует азотобактеру, фиксация азота усиливается. Без симбиоза же азотобактер связывает азот в меньшей степени.

Бачинская и Петросян (1937) показали, что азотобактер при совместном существовании с актиномицетами изменяет свою способность ассимилировать газообразный азот. В некоторых случаях азотофиксация усиливается, в других понижается, что главным образом зависит от состава питательной среды и возраста культуры.

В наших экспериментах было также учтено влияние актиномицета на развитие азотобактера.

Один из актиномицетов, выделенных нами (штамм № 16), сам показал способность к фиксации азота. Это побудило нас при изучении вопроса об усвоении газообразного азота азотобактером в смешанных культурах выяснить также и влияние актиномицета. Результаты этого опыта обобщены в таблице 7.

Таблица 7

Усвоение азота микроорганизмами в чистых и смешанных культурах (количество усвоенного азота в мг в 100 см³ почвенного экстракта)

Культуры	В солончаковом экстракте	
	с маннитом	с глицерином
Штамм № 6 (<i>Azotobacter</i>)	11,49	7,52
„ № 6 (<i>Azotobacter</i>) + № 16 (актиномицет)	15,66	9,45
„ № 6 (<i>Azotobacter</i>) + № 23 (<i>Radiobacter</i>)	15,73	16,24
„ № 6 + № 23 + № 16	18,36	14,23
„ № 23 (<i>Radiobacter</i>)	5,77	7,64
„ № 23 (<i>Radiobacter</i>) + № 16 (актиномицет)	7,86	9,24
„ № 16 (актиномицет)	4,32	5,21

Примечание: Среды заражены 1 г почвы.

Приведенный опыт наглядно показывает более экономичный суммарный эффект в отношении азотусвоения при работе смешанных культур микроорганизмов.

Считаем необходимым отметить, что при совместном дей-

ствии упомянутых выше микроорганизмов на поверхности раствора образуется характерная пленка с газом.

Это обстоятельство дало ранее повод подозревать, что в условиях смешанной культуры действует *Bact. aërogenes*.

Однако, впоследствии, когда были произведены детальные микроскопические исследования, это допущение отпало. Отсюда делаем вывод, что при совместном действии упомянутых микробов, способность их к газообразованию повышается, так как при трансформации глицерина и маннита, каждым из них в отдельности, газообразование бывает очень слабое. Актинимидет № 16 из упомянутых углеродистых соединений газов почти не образует.

Как видим из вышеприведенных данных, выделенные нами микроорганизмы фиксируют известное количество азота. По ряду признаков они отличаются от известных до сих пор азотофиксаторов, и поэтому будет не лишним, если мы упомянем о некоторых их своеобразных биологических и культуральных особенностях.

Бактерия № 6—типа *Azotobacter chroococcum*. Палочкообразная, длиной в 5—8 μ , шириной в 3—5 μ , часто появляется в яйцевидной форме. В старых культурах и особенно в глицериновой среде образует капсулы. В некоторых случаях, в особенности при развитии на агаре с солончаковым экстрактом клетки, попарно сцепленные, имеют яйцеобразный вид. При длительном развитии на экстракте садовой почвы бактерии получают нормальную форму, свойственную *Azotobacter chroococcum*, но с более мелкими клетками.

При развитии на агаре с солончаковым экстрактом и маннитом образуются твердые, светложелтые колонии с морщинистой поверхностью, без блеска, с весьма неровными краями. С этих колоний брать пробы платиновой иглой очень трудно, так как плотная колония прочно связана с субстратом и слизистой массы никогда не образует. На этой питательной среде клетки бактерий всегда бывают яйцевидные и крупные, иногда они спаренные. В старых культурах образует симплазмовидные накопления. В клетках виднеются зернышки, окрашиваемые обыкновенными анилиновыми красками.

При замене маннита глицерином колонии получаются более нежными.

Через 1,5 месяца морщинистость колоний на всех средах делается менее заметной, так как бактериальная масса ослизняется и колония делается блестящей. Большинство клеток образует капсулы.

В агаре с экстрактом садовой почвы и маннитом бактерия образует слабо морщинистые, хрупкие колонии желтоватого тона. Под микроскопом колонии светложелтые с блестящими пильчатыми прозрачными краями; центральная часть более темножелтоватая и непрозрачная.

На этой питательной среде бактерии более мелкие, попарно соединенные клетки; «симплазмовидных» скоплений здесь больше и процесс образования «симплазмы» начинается раньше. Зернистость клеток более слабая.

На мясопептонном агаре культура растет очень слабо и морщин не образует. Налет образуется слизистый с блестящей гладкой поверхностью, а иногда текучий. Края колоний слабо зазубрены. Клетки бактерий имеют форму очень маленьких шариков, часто встречаются парами, группировок дают мало. На бульоне хлопьев и мути не образуют. Только на поверхности раствора появляется очень слабая пленка.

На мясопептонной желатине обнаруживается очень слабый рост; желатину не разжижает, а на ее поверхности образует светложелтые колонии с гладкими краями, немного слизистые, слабо морщинистые. Цвет колоний постепенно желтеет; форма клеток почти та же, что и на мясопептонном агаре. Молоко под влиянием культуры не изменяется. Лакмус—молоко просветляется на 20-й день.

На картофеле растет хорошо. Колонии здесь образуются желтоватые, слабо морщинистые, довольно твердые первоначально, но затем делаются хрупкими. С возрастом культуры замечается ее ослизнение, теряется морщинистость и бактериальный налет буреет.

Маннит, глицерин, крахмал, глюкоза разлагаются с образованием углекислоты. Лактоза видоизменяется очень слабо.

Как видим, наша бактерия № 6 по многим признакам от-

личается от описанных Бейеринком (Beijerinck, 1902, 1903, 1908) видов *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter agile*, описанных Липманом (Lipman, 1903, 1904) *Azotobacter vine-Landii*, *Azotobacter Beijerinckii*, Ленисом (Löhnis, 1909) *Azotobacter woodstownii*.

Принимая во внимание это обстоятельство, мы считаем целесообразным эти бактерии назвать *Azotobacter araxii*. Специфические морфологические и биологические свойства этой формы, несомненно, нужно приписать длительному воздействию на микроорганизмы питательного режима засоленных почв.

При изучении азотобактера было замечено, что с ним всюду в значительном количестве присутствуют также слизистые бактерии типа *Bact. radiobacter*.

Мы нашли необходимым выделить чистую культуру этого микроба и изучить его особенности. Эти бактерии лучше росли на питательных средах с содержанием глицерина.

Для выяснения количества слизистых бактерий в почве нами были использованы следующие питательные среды.

I		II	
Экстракта садовой почвы	— 100 см ³	Экстракта изучаемой засоленной почвы	— 100 см ³
Фосфорнодвукальневой соли	— 0,05 г	Фосфорнодвукальневой соли	— 0,05 г
Глицерина	— 1,0 г	Глицерина	— 1,0 г
М е л а	— следы	М е л а	— следы
Агар-агара	— 2,0 г	Агар-агара	— 2,0 г

Для подсчета количества слизистых бактерий делались посе́вы из стотысячного и миллионного разведения почвы на агаровые пластинки. Чашки Петри выдерживались в термостате 7—10 дней при 28—30°, после чего были подсчитаны образовавшиеся колонии. Эта работа повторена несколько раз и в отношении засоленных почв различных типов, после чего были выведены средние числа, которые и приведены в таблице 3.¹

¹ В таблице приведены данные относительно количества слизистых бактерий засоленных почв Эвджиларского района.

Таблица 8

Количество слизистых бактерий в засоленных почвах (в миллионах на 1 г почвы)

Характер солончака	Глубина слоя в см	Питательная среда	
		Экстракт-агар садовой почвы	Экстракт-агар засол. почвы
Корковый	3—25	10,0	17,0
	25—50	7,0	12,0
Мокрый	0—25	4,2	11,9
	25—50	2,5	6,2
Пухлый	0—25	6,2	14,0
	25—50	4,6	8,2
Мокро-пухлый комплексный	0—25	9,3	16,4
	25—50	6,2	9,3

Как видим из данных этой таблицы, мокрые солончаки беднее других засоленных почв слизистыми бактериями. Как мы уже отметили выше, в этих солончаках количество хлоридов довольно велико и, повидимому, они действуют на радиобактер сильно депрессирующе. При уменьшении хлоридов, в солончаках количество радиобактера увеличивается. Вполне естественно, что наличие радиобактера в почвах зависит и от степени влажности—чем влажнее почва, тем их больше и наоборот. Это явление обнаруживается во всех типах солончаков. Замечено также, что количество радиобактера сильно уменьшается на глубине 25—50 см.

Микроскопическое изучение показало, что клетки бактерий представляют собой короткие палочки, иногда с острыми округленными концами; среди них (в редких случаях) встречаются также и клетки овальной формы.

В литературе имеются указания, что многие из слизистых бактерий способны использовать элементарный азот и превращать его в органический азот. С целью проверить азотофиксацию, мы предприняли соответствующее исследование выделенных нами слизистых бактерий. Опыты показали, что этой способностью обладают далеко не все слизистые бактерии. Наше внимание привлек штамм № 23, который выделялся из

ряда слизистых бактерий своей способностью к интенсивности фиксации азота. Это обстоятельство побудило нас к подробному изучению морфологических и биологических свойств этого штамма, тем более, что он постоянно сопутствует азотобактеру.

Слизистая бактерия № 23 представляет собой короткую толстую палочку, длиной в 0,9—2,3 μ , шириной в 0,7—1,0 μ . Она подвижна, большей частью одиночная, в редких случаях встречается парами, а иногда и группами. Клетка яйцеобразная: один конец более острый, другой—тупой. Клетки подобной формы, в большинстве случаев, появляются при развитии бактерий на агаре с солончаковым экстрактом. При развитии же на агаре с экстрактом садовой почвы эта форма клетки исчезает: клетка делается более тонкой и длинной. В последнем случае клетки делаются мельче и конец их закругляется.

На агаре с солончаковым экстрактом и глицерином образует грязно-беловатые, слизистые, бугристые, блестящие нитекучие колонии с гладкими краями и гладкой поверхностью. Под микроскопом в чашках Петри у колоний видны слабо разрезанные края, центральная часть непрозрачна. Цвет—светло-желтый. Клетка бактерии немного яйцеобразна.

При старении культуры в клетках появляются окрашивающиеся фуксином зернышки. Анилиновой краской клетка окрашивается хорошо.

На агаре с экстрактом садовой почвы и глицерином в начальной стадии отмечается очень слабый рост, который постепенно усиливается. Клетки теряют свою форму, приобретая вид коротких мелких палочек. Подвижность их усиливается.

Развиваясь на мясопептонном агаре, культура делается светложелтой, ближе к грязно-белому цвету, образуя слизистые, расплывающиеся колонии.

В бульоне образуется муть, а на поверхности его—слабая нежная пленка. С возрастом культуры на дне пробирки оседает слабый осадок.

На мясопептонной желатине вырастают слабо слизистые колонии светложелтого цвета с зазубренными краями. Желатину не разжижает.

На картофеле культура развивается хорошо. Рост слизистый, цвет вначале грязно-беловатый, а иногда культура при

старении делается бурой. Вначале картофель цвета не меняет, но когда культура буреет, картофель окрашивается в коричневый цвет. При росте на картофеле клетки бактерий более крупны и длинноваты.

В молоке развивается слабо. В течение 3—4 недель молоко свертывает очень слабо; сгусток получает светложелтый цвет. Лакмус—молоко обесцвечивает в течение 4-х недель и то очень слабо.

Лактозу, сахарозу, глюкозу, галактозу и крахмал культура хотя и разлагает, но газообразование получается очень слабое.

По ряду своеобразных признаков, описанная нами бактерия отличается от *Bact. radiobacter* и близких к ней бактерий, описанных Ленисом и Гансеном (Löhnis a. Hansen, 1921), почему мы находим целесообразным описанную нами бактерию рассматривать как вариант упомянутого микроба.

ЛИТЕРАТУРА

- Бачинская А. и Петросян А.— 1937. О взаимоотношениях между *Azotobacter chroococcum* и актиномицетами. Микробиология, т. VI, вып. 7.
- Вернер А. Р.— 1945. О солестойкости азотобактера. ДАН СССР, т. 47, № 4.
- Войткевич А. Ф. и др.— 1933. Основы с/х микробиологии. М.—Л.
- Генкель П. А. и Захарова Н. Д.— 1927. Материалы по микробиологии почв Троицкого округа Уральской области. Тр. Пермского Биол. инст., т. II, в. 4, ч. 2.
- Паносян А. К.— 1930. К биологии *Bact. azotobacter*. Изв. Госунта Арм. ССР, № 5.
- Паносян А. К.— 1948. Микробиологическая характеристика солончаков Армянской ССР в связи с вопросом их освоения. Ереван.
- Сабанин Д. А. и Генкель П. А.— 1927. О распространении азотобактера в почвах Троицкого округа Уральской области. Природа и сельское хозяйство засушливо-пустынных областей СССР, № 1—2.
- Ashby— 1907. Some observations on the assimilation of atmospheric Nitrogen by a free living soil organism *Azotobacter chroococcum* Beijerinck Jour. Agr. So., v. 2.
- Baumgartel— 1926—1929. Landw. Jahrbuch, Bd. 56 u. Bd. 70.
- Beijerinck M. W.— 1901. Uelden oligotrophile Mikroben. Zentr. für Bakt., Abt. 11.

- Beijerinck M. W.*—1902. Über die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. *Ibid.*, IX.
- Beijerinck M. W.*—1908. Fixation of free atmospheric Nitrogen by *Azotobacter* in pure culture. Distribution of this Bacterium. *Proc. K. Akad. Wetensch.*, VI. Amsterdam.
- Bokor R.*—1928. Die Microflora des saik (Alkali) Boden mit Rücksicht auf ihre Fruchtbarmachung. *Erdeszeti Kiserleten*, 30, Sopron.
- Greaves L. E.*—1916. The influence of salts on the bacterial activities of the soil. *Soil Sc.*, v. 2.
- Greaves L. E.*—1922. Influence of salts on bacterial activities of soil. *Bot. gaz.*, № 3.
- Greaves L. E., Gartner K. G. and Lund Jeppa.*—1922 a. Influence of salt on azotification in Soil. *Soil sc.*, v. 6.
- Lipman C. B.*—1903–1904. Experiments on the transformation and fixation of Nitrogen by bacteria. *N. Y. Agric. Exp. St. Ann.*, Rpt. 24 and 25.
- Lipman C. B.*—1912. Toxic effects of alkali salts in soil on soil bacteria. I. Amonification. II. Nitrification. *Zentr. für Bakt., Abt. II, Bd. 3*, a Bd. 33.
- Lipman C. B.*—1912a. The distribution and activities of bacteria in soils of the arid regions. *Univ. Calif. Bull. Agr. St. Sc.*, 1.
- Lipman C. B.*—1913. Antagonism between anions as effecting amonification in soils. *Zentr. für Bakt., Abt. II, Bd. 36*.
- Löhnis F.*—1905. Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien. *Zentr. für Bakt., Abt. II, Bd. 14*, № 18/20.
- Löhnis F., and Westerman T.*—1908. Über Stickstofffixierende Bakterien. IV. *Zentr. für Bakt., Abt. II, Bd. 22*, № 7/10.
- Löhnis F. and Hansen*—1921. Nodula bacteria of leguminous plants. *Journ. Agr. Res.*, v. 20.
- Singh T. M.*—1918. Toxicity of „alkali“ salts. *Soil sc.*, v. 6.
- Skinner C. E.*—1928. The fixation of nitrogen by *Bacterium aerogenes* and related species. *Soil sc.*, v. XXV, № 3.
- Stoclasa J.*—1908. Beiträge zur Kenntnis der chemischen Vorgängen bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch *Azotobacter* und *Radiobacter*. *Zentr. für Bakt., Abt. II, Bd. 21*.
- Telegdy-Kovast L. de*—1927. The influence artificial zeolites on the nitrogen fixation by *azotobacter* cultures. *Kiserletuge Kozlemenyeck*, 30, 52, Budapest.
- Winogradsky S. W.*—1925. Etude sur la microbiologie du sol sur la methode. *Ann. Inst. Past.*, № 4.

2. 4. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

ԱՂՈՒՏ ՇՈՂԵՐԻ ԱԶՈՏՈՐԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԸ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Աղուտ կամ սոլոնչակ հողերի միկրոֆլորայի բնութագրամբ զբաղվել են շատ հետազոտողներ, սակայն նրանցից և է մեկը աղուտների մեջ բնակվող միկրոօրգանիզմների ու նրանց աանձին ֆիզիոլոգիական խմբերի կենսական պրոցեսները ճիշտ կարողացել բնութագրել: Հետազոտողներից ոմանք բերում են այնպիսի տվյալներ, որոնք չեն համապատասխանում այլ հետազոտողների տվյալներին: Դա մասամբ պետք է բացատրել բանով, որ գիտնականներից ամեն մեկը, մյուսներից անկախ, իրառել է ուսումնասիրման տարբեր մեթոդիկա: Աղուտ հողերի միկրոֆլորան ուսումնասիրող մասնագետները բոլոր դեպքերում օգտագործել են սովորական լաբորատոր ստանդարտ սննդայութեր, որոնք իրենց կազմով խիստ տարբերվել են աղուտ հողերի սննդամիջավայրի բնույթից. դրանով էլ պետք է բացատրել նրանց տվյալներում եղած մատնանշումները այն մասին, թե աղուտները շատ աղքատ միկրոֆլորա ունեն և առանին ֆիզիոլոգիական խմբերի միկրոֆլորայի կենսական պրոցեսներն ստանդարտ սննդանյութերի մեջ թույլ են ընթանում:

Մենք, չհամաձայնելով նման հիմնավորումների հետ, սկսել ենք ավելի խորը և բազմակողմանիորեն հետազոտել Հայաստանի աղակալած հողերի միկրոֆլորայի կազմն ու նրա մեջ տնող առանձին ֆիզիոլոգիական խմբերի կենսական պրոցեսների ինտենսիվությունը:

Մենք այս հոգվածում բերում ենք մեր հետազոտությունների այն տվյալները միայն, որոնք վերաբերում են աղուտների ազոտորակտերների քանակին և նրանց կենսական պրոցեսների ակտիվությանը:

Մեր աշխատանքների ընթացքում հիմք ենք ընդունել աղուտի, որպես սննդամիջավայրի, բնույթը և հենց աղուտ հողից պատրաստված սննդանյութերի վրա ուսումնասիրել ենք ազոտ կապող բակտերիաների առանձնահատկությունները. այդ աշխատանքները մեզ հնարավորություն տվին նախ՝ ապացույցելու, որ աղակալած հողերն զգալի քանակությամբ ազոտորակ-

տերներ են պարունակում և նրանք, խիստ հարմարված լինելով աղուտի բարձր աղայնության պայմաններին, ունեն շատ յուրահատուկ մորֆոլոգիական ու ֆիզիոլոգիական առանձնահատկություններ և երկրորդ՝ այդ ազոտոբակտերներն աղուտ հոգում դարգանալիս մեծ ինտենսիվությամբ օդից զազային ազոտ յուրացնելով՝ հոգում ազոտային օրգանական նյութեր են ավելացնում:

Մեր մեկուսացրած և ուսումնասիրած ազոտոբակտերներն ոչ միայն ունեն յուրահատուկ մորֆոլոգիական ու ֆիզիոլոգիական հատկանիշներ, այլև դրանցից երկու տեսակի՝ № 6 և № 2 շտամների բակտերիաները շատ խիստ ադապտացված են աղուտի բարձր աղայնության պայմաններին և էապես տարրերվում են տարրեր տիպի կուլտուրական հոդերում. բնակվող մինչև այժմ՝ նկարագրված ազոտոբակտերներից. ահա թե ինչու մենք նպատակահարմար համարեցինք № 6 շտամի բակտերիան անվանել *Azotobacter araxii*, իսկ № 23 շտամինը՝ *Bact. radiobacter*-ի այլատեսակ: