

А. В. КИРАКОСЯН, Ж. С. МЕЛКОНЯН

НОВЫЕ РАЗНОВИДНОСТИ АЗОТОВАСТЕР AGILE ИЗ ПОЧВ АРМССР

В течение нескольких лет в Институте микробиологии АН велись исследования по распространению азотобактера в основных типах почв Армении. На протяжении этих работ было выделено много культур азотобактера для дальнейших изучений их экологических, физиологических и культурально-морфологических особенностей. Установлен, примерно, видовой состав азотобактера, распространенного в различных типах почв Армении.

В процессе выделения культур азотобактера, производимый посевом почвенных комочков на агаризованную среду Эшби, привлекли внимание некрупные колонии равномерной величины в виде пуговок, с возрастом буреющие, фиолетово-бурый пигмент выделялся также в среду. Чистые культуры, выделенные из этих колоний, морфологически были сходны с описанным в литературе видом *Az. agile*. Этот вид был выделен из бурых почв Армении, с высокостоящими грунтовыми водами. В других районах тот же тип почвы совершенно не содержал *Az. agile*. Он отсутствовал также в иных исследованных типах почв—каштановых, черноземных, луговых и лесных почвах. Нами выделено много культур типа *Az. agile* с разными культуральными свойствами. Все культуры многими свойствами были типичны для данного вида, но культуральными свойствами значительно отличались от него, поэтому было необходимо идентифицировать с описанными в литературе культурами.

Впервые Бейеринк [4] описал культуру *Az. agilis*, выделенную из воды канала, сильно подвижную, с крупными, прозрачной плазмой клетками и мелкими зернышками, образующую растворимый зеленый пигмент, в старых культурах иногда переходящий в темно-фиолетовый цвет. Ленис и Вестерман [12] *Az. agilis* отнесли к виду *Az. vinelandii*. Те же авторы описали культуру, под названием *Az. vitreum*, выделив его в отдельный вид. В дальнейшем Ленис и Смит [13] *Az. vitreum* считали вариантом *Az. agile*. Позднее Смит [14] нашел, что *Az. agile* и *Az. vinelandii* имеют общее происхождение. Джонс [8] считал, что *Az. agile* и *Az. vinelandii* не могут быть идентичны, так как первая культура на Эшби-агаре со временем образует черный пигмент, а вторая культура не образует. Клюйвер и ван Ринен [10, 11] также описали *Az. agile*, выделяющий в среду зеленый пигмент, со временем переходящий в коричневый цвет. С. Н. Виноградский [1] и Чан [15] считали основным отличием, имеющим таксономическое значение, отсутствие цистообразования у *Az. agile* и наличие его у *Az.*

vinelandii. По Бердже [5] *Az. agile* помимо воды встречается и в почве, в большинстве клетки подвижны, но бывают и неподвижные, выделяемый в среду пигмент зеленоватый или красноватый. К разновидностям *Az. agile* Н. А. Красильников [2] отнес *Az. vitreum* и *Az. agile* v. *jakutiae*. Иенсен [6] объединил *Az. agile* и *Az. vinelandii* в один вид, хотя подчеркнул их некоторые отличия, в том числе цистообразование у второй культуры и его отсутствие у первой. Иенсен [7] описал новый кислотоустойчивый вид азотобактера, и, ввиду крупности клеток, назвал его *Azotobacter macrocytogenes*. Однако из приведенного экспериментального материала видно, что эта культура идентична с *Az. agile* v. *jakutiae*. Л. И. Рубенчик [3] отнес *Az. agile* к роду *Azotobacter* Beijerinck, а *Az. vitreum* к виду *Az. vinelandii* приняв во внимание мелкие размеры обеих культур.

Культуры *Az. agile* имели сходную морфологическую структуру—крупные клетки, нежную плазму с мелкими зернышками, иногда с наличием вакуоли, характерные для данного вида.

Для идентификации местных штаммов с известными в литературе *Az. agile*, выделенные нами культуры многократно были очищены расеевом на агаризованную среду Эшби. В отношении культурально-морфологических особенностей при очищении культур было обнаружено разнообразие форм. Культуры были разделены на пять групп. Их более подробная характеристика приводится ниже, на среде Эшби-агар с сахарозой. Наблюдения за морфологическими изменениями культур производились в окрашенных фуксином и в живых препаратах с агаровой и жидкой среды Эшби.

I группа. В первые сутки очень слабый прозрачно-бесцветный рост, с пятых суток рост хороший, гладкая, выпуклая, блестящая, молочно-белая колония, консистенция плотная. Фиолетово-бурая пигментация среды начинается с третьей или четвертой суток. Характерна ранняя пигментация среды, особенно сильная под колонией. В большинстве колония не пигментирует, на 20 сутки она становится грязно-белой, а среда—фиолетово-бурой, иногда фиолетово-черной. Под колонией мел растворяется. В живых препаратах неподвижные зернистые монады, редко в небольшом количестве подвижные палочки.

До 4—5 суток в окрашенных препаратах зернистые монады равномерной величины до 3,2 μ в диаметре, встречаются и крупные—4,8 μ , цепочек много. Гомогенные палочки и кокки на протяжении всего развития встречаются редко. С 3—4 суток оболочки клеток уплотняются, зернистость постепенно исчезает и с 13—15 суток, иногда позже, появляются инцистированные клетки, которые в дальнейшем становятся преобладающей формой. Через месяц или больше можно видеть мелкие, очень старые, клетки не окрашенные, или слабо окрашенные, неправильной формы. Деление—перешнуровыванием. Гочогенные клетки грамположительны, зернистые клетки с нечетким результатом—грамотрицательные и грамположительные, окрашиваются светлее гомогенных. Активные азотфиксаторы на 1 г сахарозы связывают 8,5—10 мг азота. Примерно также фиксируется азот на среде с глюкозой.

II группа. Наиболее многочисленная и распространенная. В первые сутки рост слабый, прозрачный. Колонии характерны богатым ростом, слабо-морщинистые, зернисто-морщинистые или крупно-морщинистые. С 5—6 суток колония и среда начинают пигментировать, на 20—25 сутки колония бурая, а среда фиолетово-бурая различной интенсивности. Под колонией мел растворяется. В живых препаратах зернистые мо-

монады неподвижны, сравнительно редко встречаются подвижные палочки и менее подвижные кокки.

В окрашенных препаратах в первые сутки некрупные зернистые монады (рис. 1), на 3—4 сутки крупные зернистые монады или продолговатые, больше парные, много цепочек (рис. 2). Крупные монады в диаметре от 3,6 до 6,0 μ . Оболочки монад в даль-



Рис. 1. *Az. agilis* № 3—II группа. 1-суточная культура, зернистые монады. Увеличение 1:1125.



Рис. 2. *Az. agilis* № 3—II группа. 4-суточная культура, крупные зернистые монады и продолговатые клетки, цепочки. Увеличение 1:1125.

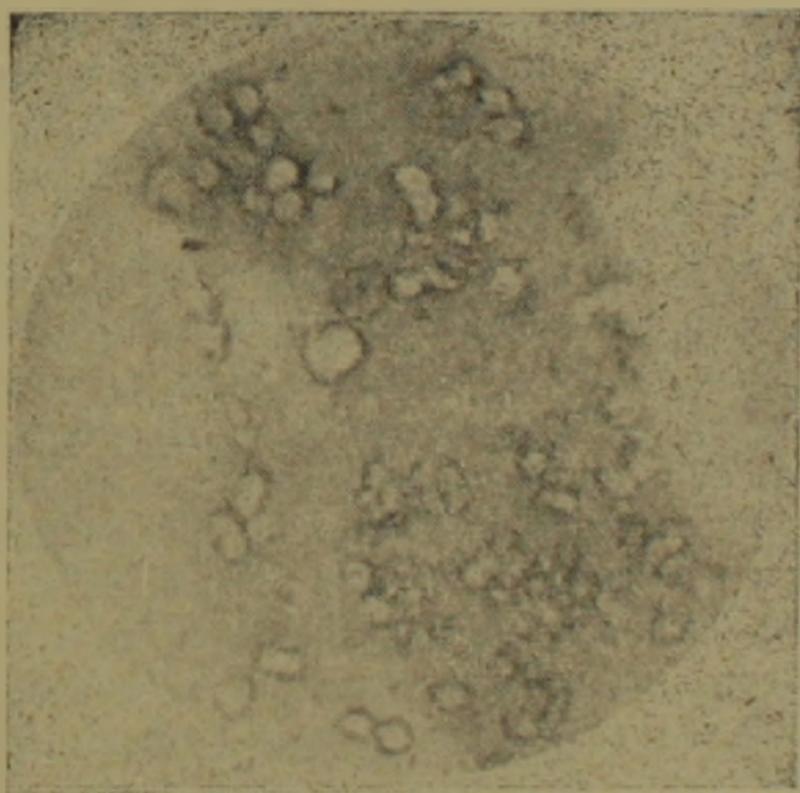


Рис. 3. *Az. agilis* № 3—II группа. 17-суточная культура, индурированные клетки. Увеличение 1:1125.

нейшем уплотняются, зернистость постепенно исчезает и клетки индурятся с 12—14 суток (рис. 3). Через 1—1,5 мес. преобладают индурированные, много также мелких, неокрашенных неправильной формы клеток. Деление перешнуровыванием. Гомогенные палочки и кокки грамположительны, зернистые клетки грамотрицательны, но есть и грамположительные. Активные азотфиксаторы, на 1 г сахарозы или глюкозы связывают от 7 до 12 мг азота.

III группа. Вначале слабый рост, прозрачная колония, затем рост хороший, не-

много выпуклый, далее стекающая и плоская колония. На 20 сутки колония грязно-белая, среда светло-фиолетово-бурая. Отличается плоской, вначале стекающей колонией, и очень слабой пигментацией среды. Позже консистенция колонии кожистая. Под колонией мел растворяется. В живых препаратах преобладают мелкие неподвижные кокки, но встречаются подвижные палочки. Цикл развития несколько иной, чем у первых двух групп. В первые сутки в окрашенных препаратах много гомогенных кокков, палочек, затем появляются некрупные зернистые клетки, инцистирование начинается с седьмых суток, через месяц преобладают сравнительно мелкие гомогенные кокки, палочки. Величина клеток значительно мельче, чем у двух первых групп. В двухсуточной культуре преобладают зернистые клетки величиной до 2—2,5 μ , более крупные очень редки. Деление перешнуровыванием. Гомогенные клетки грамположительны, зернистые грамотрицательны. Ассимилируют до 10 мг азота.

IV группа. В первые сутки слабо выпуклая, прозрачная, блестящая колония, далее стекающая, слабо молочная, с третьих суток с серовато-бурым оттенком. Рост вообще слабый, плоский, консистенция колоний до конца мягкая. С пятых суток появляется светло-розово-фиолетовая пигментация среды, которая затем темнеет, а через 1—1,5 мес. принимает бурый оттенок. Сильное растворение мела под колонией. Есть штаммы, не выделяющие в среду розово-фиолетовый пигмент. В живых препаратах кокки и палочки слабо подвижны.

В окрашенных препаратах - в первые сутки роста гомогенные кокки и продолговатые клетки, редко палочки, много вакуолированных, есть светлоокрашенные с 1 зернышком, клетки в скоплениях. Диаметр гомогенных вакуолированных кокков 1,9—3,5 μ , зернистых монадоподобных 2—3,6 μ . Со вторых суток увеличивается количество зернистых кокков с 2—3 зернышками, есть цепочки. На 8 сутки появляются инцистированные, с 15 суток только инцистированные. Скопления постепенно рассеиваются и на 12—13 сутки их не остается. Через 15 суток много неокрашенных неправильной формы мелких старых клеток. Деление перешнуровыванием. Гомогенные кокки грамположительны, зернистые—с очень светло-фиолетовой окраской. На 15 сутки ассимилируют 6,9 мг, а на 20 сутки 7,4 мг азота на 1 г сахара. Культуры своим ростом в виде гомогенных вакуолированных кокков в скоплениях и растворимым розово-фиолетовым пигментом, мягкой консистенцией колонии очень сходны с *Az. agile* v. *jakutiae*, а отличаются от последней интенсивностью пигментации среды, пигментацией колонии и цистообразованием.

V группа. В эту группу входят выделенные нами местные штаммы *Az. vitreum* которые описаны в литературе. Колонии местных штаммов прозрачные или полупрозрачные, сильно морщинистые или гладкие. В первые сутки колонии слизистые, затем консистенция плотная, с 5 суток богатый рост. Пигментация колоний и среды начинается с 7—9 суток, на 20 сутки колония черно-бурая, среда фиолетово-бурая или фиолетово-черная. Самая интенсивная пигментация наблюдается у культур данной группы. Под колонией мел растворяется. В живых препаратах в первые сутки—некрупные кокки, диплококки и подвижные палочки, затем все клетки неподвижны.

В первые сутки развития в окрашенных препаратах гомогенные кокки, палочки и кокки со светло-окрашенной плазмой, иногда капсулированные клетки. Со вторых суток характерны мелкие диплококки, сплюснутые в месте их соединения, со светло-окрашенной гладкой плазмой. В дальнейшем клетки в пакетах и скоплениях, окруженные обильной слизистой массой, от которых клетки освобождаются в старом возрасте. В молодых клетках у гладких форм этой группы зернышки встречаются редко, а у морщинистых—чаще и по 1—3 зернышка на 4—5 сутки. Позже зернышки исчезают, оболочки уплотняются, инцистированные клетки появляются на 4—5 сутки, но в большом количестве бывают на 13—14 сутки. Деление перешнуровыванием. У морщинистых форм *Az. vitreum* клетки крупнее, диаметр кокков 2,4—3,1 μ , у гладких форм—1,3—2,1 μ , но в обоих случаях имелись также более крупные кокки со светлой гладкой плазмой. Гомогенные кокки и палочки грамположительны, а кокки со светлой однородной плазмой окрасились в светло-фиолетовый цвет. В противоположность литературным данным о том, что *Az. vitreum* связывают азот в ничтожных количествах, мест-

ные штаммы являются активными азотфиксаторами: они ассимилируют от 8 до 10,7 мг азота.

Таким образом, местные культуры *Az. vitreum* сходны с описанными в литературе прозрачностью колоний и морфологическим строением. Физиологическими и культуральными свойствами они сходны с местными культурами *Az. agile*, поэтому следует их считать разновидностью *Az. agile*.

Следует подчеркнуть одну из общих характерных черт для всех групп местных культур, а именно,—в первые сутки консистенция колоний жидковато-слизистая, с 2—3 суток плотная, через 1—1,5 мес. становится кожистой, очень трудноотделимой от среды. Исключение составляют только культуры IV группы, консистенция которых остается мягкой до конца.

Ниже приводится отношение местных культур 5 исследованных групп *Az. agile* к различным питательным средам. На средах Эшби с маннитом и с глюкозой рост колоний почти одинаков с ростом их на Эшби с сахарозой, с незначительными отклонениями в форме и интенсивности роста колоний. Иногда замечается несколько более интенсивная пигментация на среде с маннитом. Желатиновая среда готовилась не на МПБ, а на среде Эшби с сахарозой, чтобы получить более нормальный рост культур. На данной среде культуры росли значительно слабее, чем на Эшби, но формы их соответственно сохранились, т. е. гладкие росли гладко, морщинистые—морщинисто. Интенсивность пигментации на Эшби—желатине также соответствовала пигментации на основной среде, только здесь колонии приобретали постепенно бурую окраску, а среда окрашивалась в розово-чайный цвет, с возрастом усиливающийся. Морщинистые формы особенно сильно пигментировали, наиболее сильно пигментировали морщинистые формы *Az. vitreum*. Ни одна культура желатин не разжижала. На Эшби с бензойнокислым натрием (0,25%) ни один штамм местных культур *Az. agile* не вырос. Клюйвер [10] и С. Н. Виноградский [1] также отмечали отсутствие роста *Az. agile* на этой среде. По-видимому, эта среда является очень характерной для идентификации данного вида. На Эшби с молочнокислым кальцием (0,25%) все местные штаммы растут слабо в виде гладкой буро-коричневой колонии, среда пигментирует слабо, между штаммами отклонения незначительные. На этиловом спирте (1%) местные штаммы растут слабо или очень слабо с кремовой или светло-бурой пигментацией, среда пигментирует также слабо. На картофеле (ломтики) все штаммы 5 групп не выросли. В течение 10 дней молоко не изменяется, далее постепенное изменение цвета и очень слабая пептонизация.

На МПА в основном колонии с бедным ростом, гладкие, плоские, кремовые с опалесцирующей поверхностью. Морщинистые штаммы на этой среде также растут морщинисто и пигментируют среду. На сусло-агаре местные штаммы всех групп *Az. agile* не растут, кроме культур IV группы, которые растут на сусле в виде сухой, плоской колонии светло-кремового цвета. На всех выше перечисленных средах исследованные

культуры сохраняют свой цикл развития с образованием цист, конечно, на разных средах с некоторыми различиями в величине, преобладанием той или иной формы клеток, протяженностью определенных фаз развития и т. д. Только на МПА они мало похожи на типичные формы, здесь клетки сильно измельчены, много гомогенных и теневидных клеток, зернистость также мелкая.

Таким образом, к приведенным выше средам изученные местные культуры *Az. agile* относятся почти одинаково, что свидетельствует об однотипности их физиологической функции.

С целью идентификации местных культур *Az. agile* параллельно были исследованы некоторые коллекционные культуры этого вида с зеленым пигментом: *Az. agile* 22-Д (получен из МГУ), *Az. agile* (ленинградский), *Az. agile* Н-1 (получен из Госунта Минска) и один штамм *Az. vinelandii* с зеленым пигментом (ИНМИ). Ввиду однотипности всех перечисленных культур, их рост на различных питательных средах был почти одинаков: на Эшби-агаре с сахарозой колонии всех культур вначале слизистые, прозрачные, со вторых суток молочные, стекающие. Рост не богатый, плоский, колония вначале светло-желто-зеленого оттенка, среда пигментирует зелено-желтым цветом. Отличия между культурами состоят в интенсивности роста колоний и пигментации среды.

На маинитной среде рост всех культур несколько слабее, чем с сахарозой, но характер роста почти одинаков на обеих средах. На среде с молочнокислым кальцием штаммы 22-Д и Н-1 растут слабо, а ленинградский штамм и *Az. vinelandii* вовсе не растут. На среде с бензойнокислым натрием все культуры растут слабо, штаммы 22-Д и *Az. vinelandii* пигментируют среду вначале в зелено-бурый, который затем переходит в фиолетово-бурый цвет. Штаммы Н-1 и ленинградский пигментируют среду в желто-зеленый цвет. На МПА все культуры растут одинаково слабо с плоской грязно-кремового цвета колонией. Также совершенно одинаково они растут на ломтиках картофеля—с плоской грязно-кремовой колонией и фиолетово-синей пигментацией среды. На сусло-агаре все культуры растут слабо с грязно-кремовой пигментацией, слабо выпуклой, иногда стекающей колонией. Все исследованные культуры на Эшби-сахароза-желатине растут слабо, в виде плоских стекающих молочных колоний, не выделяющих в среду никакого пигмента.

Как видно, отношение всех 4 культур к данным питательным средам и их культуральные особенности, с небольшими отклонениями, одинаковы. В живых препаратах в первый период развития у тех же культур наблюдается большое количество хорошо подвижных палочек, а к концу развития преобладают неподвижные кокки. В окрашенных препаратах со среды Эшби-агар с сахарозой морфологических отличий между 4 культурами не замечено. В первые сутки преобладают гомогенные вакуолированные кокки и палочки, есть зернистые клетки и капсулированные, далее увеличивается количество зернистых. С 3—4 суток появляются инцистированные клетки, на 10 сутки они преобладают, много крупных инцистированных с двойными контурами. С возрастом появля-

ются мелкие не окрашенные или слабо окрашенные неправильной формы старые клетки. Величина клеток в различные фазы развития несколько колеблется, но близка между перечисленными выше культурами. Так, величина гомогенных палочек примерно равна $2,4-3,6 \times 1,4-2 \mu$, а диаметр инцистированных клеток— $2,2-3,6 \mu$.

3 культуры *Az. agile*, на наш взгляд, представляют типичные *Az. vinelandii*, с характерными для этой культуры сильно подвижными гомогенными палочками, инцистированием клеток с возрастом, отсутствием типичных зернистых монадоподобных клеток. По-видимому, здесь также, как не однажды отмечалось в литературе (Клюйвер, Виноградский и др), имело место ошибочное причисление штаммов *Az. vinelandii* к виду *Az. agile*.

Нами были также изучены *Az. agile* v. *jakutiae* Krassilnikov и *Az. macrocytogenes* lensen. Последняя культура была получена от проф. Л. И. Рубенчика. Ввиду совершенной их идентичности, описания будут относиться к обеим культурам. Об идентичности *Az. macrocytogenes* с *Az. agile* свидетельствует также исследование Джонстона [9] флуоресцентным методом. Он установил, что обе эти культуры светят белым светом.

На агаризованной среде Эшби с сахарозой колония вначале слабо выпуклая, затем плоская стекающая слабо-молочная блестящая, позже с кремовым оттенком. Среда окрашивается в розово-фиолетовый, с возрастом фиолетовый цвет. Сильно растворяет мел в среде. Консистенция колоний мягкая до конца. На среде с маннитом такой же рост, что и с сахарозой. На средах с молочнокислым кальцием, бензойнокислым натрием и ломтиках картофеля обе культуры не дали роста. Описанная Лёнисом и Вестерманом [12] *Az. agile* (полученный ими от Бейеринка) также не рос на картофеле, на сусло-агаре вначале слабо-выпуклая грязно-белая, с возрастом плоская кремовая колония. На МПА грязно-белая или кремовая, плоская, пигментация среды. В живых препаратах—слабо подвижные диплококки, палочки.

На среде Эшби с сахарозой в окрашенных препаратах в первые сутки гомогенные кокки часто вакуолированные, диплококки, толстые палочки и веретеновидные клетки в скоплениях. Со 2—3 суток крупные кокки и продолговатые с светло окрашенной плазмой с одним или двумя зернышками, клетки остаются в скоплениях почти до конца. На всем протяжении сопутствуют или временами преобладают гомогенные кокки и палочки. Не инцистируются. Гомогенные кокки в диаметре— $1,7-2,5 \mu$, крупные кокки с зернышками— $2,6-3,4 \mu$. У *Az. macrocytogenes* клетки с зернышками немного мельче и реже встречаются. Окраска по Граму гомогенных клеток положительная, у зернистых клеток плазма окрашивается в светло-фиолетовый, зернышки в темно-фиолетовый цвет (так описывал и Иенсен). Обе культуры фиксируют азот в достаточном количестве. Надо полагать, что *Az. macrocytogenes* является синонимом *Az. agile* v. *jakutiae*.

Нами также была исследована культура *Az. agile* из коллекции микроорганизмов Дельфта, недавно любезно присланная нам кафедрой микробиологии проф. Дроздова из Высшей сельскохозяйственной школы Варшавы.

На среде Эшби-агар с сахарозой и глюкозой эта культура растет хорошо, колония молочная или слабо пигментирует, выделяет в среду вначале зеленый пигмент, который с возрастом культуры переходит в зелено-фиолетово-бурый цвет. На манните рост значительно слабее и среда пигментирует слабо-зеленым цветом. На Эшби с бензойнокислым натрием совершенно не растет, как и все исследованные нами культуры этого вида. На Эшби с молочнокислым кальцием растет слабо и среду пигментирует в слабо-зеленый цвет. На МПА и МПБ растет слабо. На картофеле рост небогатый, а на сусле богатый. На Эшби-желатине слабый рост без пигментации и без разжижения. В живых препаратах хорошо подвижные и неподвижные клетки как в свежих, так и старых культурах. С первых суток в окрашенных препаратах слабо зернистые и гомогенные кокки в густых скоплениях, на 3 сутки крупные, с хорошей зернистостью кокки 2,4—3,4 μ в диаметре и много продолговатых клеток. Со временем зернистость исчезает, клетки стареют, становятся угловатыми, но не инцистируются.

В таблице приведена сравнительная характеристика исследованных культур азотобактера.

В ы в о д ы

Все изученные местные штаммы азотобактера относятся к виду *Az. agile*. Основанием к этому служат крупные размеры, монадоподобная форма клеток с нежной плазмой и мелкой зернистостью, активная азотофиксация, характерное для данного вида отношение к ряду питательных сред. Так, отсутствие роста на средах с бензойнокислым натрием и на картофеле может считаться таксономическим признаком для *Az. agile*, о чем упоминается и в литературе. Розово-фиолетовая или фиолетово-бурая растворяющаяся пигментация на средах с сахарами и солями органических кислот, на наш взгляд, также типична для данного вида. Многие авторы, которые описывали культуры *Az. agile*, отмечали наличие растворяющегося пигмента с указанными выше оттенками. В тех случаях, когда культуры с зеленым пигментом, помимо других отличительных свойств, не выделяют фиолетово-бурого пигмента, по-видимому, они должны быть отнесены к *Az. vinelandii*, но не *Az. agile*. Ключвер [10] перечислил ряд авторов, которые, по всей вероятности, принимали *Az. vinelandii* за *Az. agile*.

Местные штаммы отличаются от описанных Бейеринком *Az. agile* отсутствием зеленого пигмента, неподвижностью монадоподобных клеток (хотя гомогенные палочки тех же культур часто подвижны) и наличием цистообразования. Надо полагать, что цистообразование не явля-

ется видовым признаком. По мнению же некоторых исследователей [1, 15], цистообразование имеет таксономическое значение.

Местные штаммы *Az. agile* имеют много общих свойств с описанной Бейеринком культурой, и, в то же время, значительно от нее отличаются, поэтому мы можем считать их разновидностью культуры Бейеринка и называть *Az. agile* Beijerinck var. *Armeniae*.

Культуры, входящие в IV группу, своими некоторыми свойствами более близки к *Az. agile* v. *jakutiae*. Проведенные нами сравнительные исследования показали, что *Az. agile* v. *jakutiae*, *Az. macrocytoges*, *Az. agile* дельфтский штамм и местные штаммы IV группы, несмотря на некоторые отличия их свойств, могут быть объединены в одну группу.

Штаммы азотобактера V группы прозрачностью колоний и морфологией клеток сходны с *Az. vitreum*, описанным Лёнисом и Вестерманом, поэтому считаем целесообразным дать то же название культурам V группы, хотя культуральными и физиологическими свойствами они больше близки к *Az. agile* и являются разновидностью последней. Местные штаммы этой культуры следует назвать *Az. vitreum* Löhnis u. Westermann var. *Armeniae*.

Условия почвы и климата, откуда были выделены местные штаммы *Az. agile* и *Az. vitreum*, по-видимому, придали им ту особую специфичность, о которой было сказано выше.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 14 VIII 1963 г.

Ա. Վ. ԿՐԱՎՈՍՅԱՆ, Ժ. Ս. ՄԵԼՔՈՆՅԱՆ

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀՈՂԵՐԻՑ ՄԵԿՈՒՍԱՑՎԱԾ AZOTOBACTER AGILE-Ի ՆՈՐ ԱՅԿԱՏԵՍԱԿՆԵՐ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հայաստանի հողա-կլիմայական պայմաններից մեկուսացրած *Azotobacter agile*-ի այլատեսակները հիմնական հատկութիւններով շատ նման են Բեյերինկի նկարագրած ազոտոբակտերի այդ տեսակին, սակայն մի շարք այլ կողմերով տարբերվում են նրանից: Դա հիմք է ծառայել տեղական պայմաններից մեկուսացրած կուլտուրաները համարել նրա այլատեսակները և անվանել *Az. agile* Beijerinck var. *Armeniae*:

Տեղական շտամները մորֆոլոգիական և կուլտուրալ որոշ հատկութիւնների տարբերութեան հիման վրա բաժանված են հինգ խմբի: Առաջին երեք խմբի կուլտուրաները յուրահատուկ են և միմյանց նման: Չորրորդ խմբի կուլտուրաները շատ մոտ են *Az. agile* v. *jakutiae*-ին, իսկ հինգերորդ խմբին պատկանողները նման են *Az. vitreum*-ին և անվանվել են *Az. vitreum* var. *Armeniae*:

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградский С. Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы. Изд. АН СССР, 1952.
2. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов, Изд. АН СССР, 1949.
3. Рубенчик Л. И. Азотобактер и его применение в сельском хозяйстве. Изд. АН УССР, 1960.
4. Beijerinck M. W. Centr. blatt. f. Bacter. Lwette Abt., 7, 561, 1901.
5. Bergey D. Of determinative bacteriology Sixt edition. Baltim., 1948.
6. Iensen H. L. Bacter. rew., 18, 4, 195, 1954.
7. Iensen H. L. Acta Agricul. Scandinav., 5, 2—3, 280, 1955.
8. Jones D. H. Centr. blatt. f. Bact., Ab., 2, 40, 170, 1912.
9. Gonstone D. Applied Microbiology, 5, 2, 1957.
10. Kluyver A. I. u. van Reenen W. I. Archiv f. Mikrob. 4, 2, 280, 1933.
11. Kluyver A. I. u. van den Bout M. F. Archiv f. Mikrob., 7, 3, 261, 1936.
12. Löhnis F. u. Westermann T. Cent. blatt f. Bacter., Zweite Abt., 22, 234, 1909.
13. Löhnis F. a. Smith N. R. J. Agr. Resear., 23, 401, 1923.
14. Smith N. R. J. Bact., 27, 1, 54, 1934.
15. Tchan I. T. Proc. Linn. Soc. of. N. S. W., 78, 83, 1953.

Сравнительные культурно-морфологические особенности азотобактера

Культуры азотобактера	Культуральные свойства					Морфологические свойства		
	Эшби-агар с сахарозой	Э-аг. с безкисл. Na	Сусло агар	Картофель ломтики	Эшби-желатин	Морфология клетки, подвижность	Цикл развития	Величина, диаметр в μ
Ag. agile, местные штаммы I и II группы	Хороший или богатый рост, плотная консистенция колоний, позже кожистая. Колония грязно-белая или бурая разной интенсивности	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Морщинистые или гладкие молочные колонии с возрастом бурящие. Среда чайно-розового цвета, у морщинистых форм значительно интенсивнее	Зернистые монады одиночные, парные и цепочки, гомогенные палочки единичны. Неподвижные, единичные подвижные палочки	Зернистые монады, затем незернистые с уплотненными оболочками, далее индистированные клетки. Позже изредка встречаются угловатые старые клетки.	3,2—6,0
Ag. agile, местные штаммы III группы	Хороший рост, вначале стекающая полупрозрачная, затем кожистая колония, грязно-белая. Среда пигментируется очень слабо	.	.	.	Гладкая, стекающая, полупрозрачная колония с возрастом грязно-матовая. Среда пигментируется очень слабым чайно-розовым цветом	Гомогенные палочки и кокки, зернистые монадоподобные. Неподвижны, но есть подвижные палочки	Гомогенные клетки вначале преобладают, затем зернистые монадоподобные, позже индистированные, в старой культуре много гомогенных.	2,0—2,5
Ag. agile, местные штаммы IV группы	Рост слабый, колония слизистая стекающая, до конца мягкая консистенция с серо-бурым цветом. Среда розово-фиолетовая, бурящая, с возрастом	.	Рост слабый, сухой плоский, с возрастом колония светло-кремовая	.	Рост слабый, стекающий, молочный, среда очень светло-чайно-розовая	Гомогенные вакуолированные кокки и продолговатые в скоплениях, монадоподобные со светлой плазмой 1—3 зернышками. Неподвижны, гомогенные слабо подвижны	Гомогенные кокки и продолговатые, вакуолированные, затем монадоподобные со светлой плазмой 1—3 зернышками, далее индистированные, цепочки. Позже старые угловатые клетки.	2,0—3,6
Ag. agile v. jakutiae Ag. macrocytopenes	Рост слабый, колония слизистая, стекающая, до конца мягкая, с возрастом светло-кремовая, среда розово-фиолетовая	.	Рост слабый плоский, кремовая колония	.	Рост слабый, стекающий, молочный. Среда очень светло-розовая	Гомогенные вакуолированные кокки в скоплениях, монадоподобные со светлой плазмой 1—2 зернышками, слабо подвижные гомогенные кокки и палочки	Гомогенные кокки, затем со светлой плазмой, до конца в скоплениях. Не индистированы. При развитии иногда преобладают гомогенные клетки	Гомогенные 1,7—2,5 с зернышками 2,6—3,4
Ag. vitreum, местные штаммы V группы	Богатый рост, прозрачная или полупрозрачная, морщинистая или гладкая колония темно-коричневого или черного цвета, консистенция плотная, затем кожистая. Среда фиолетово-черная	.	Роста нет	.	Богатый рост, морщинистый или гладкие вначале прозрачные колонии, затем бурые или черные. Среда фиолетово-черная	Гомогенные кокки, палочки цепочки, диплококки часто сплющены в месте соединения. Кокки со светлой плазмой без включений, иногда 1—8 зернышками. Неподвижны, гомогенные слабо подвижны.	Гомогенные затем светлой плазмой, клетки иногда с зернышками, далее индистированные в пакетах, окруженные слизистой массой.	Гладкие колонии 1,3—2,1. Морщинистые колонии 2,4—3,1
Ag. vitreum, по литературным данным	Прозрачная слизистая или полупрозрачная клейстерообразная, с белой или слабо-пигментированной колонией. Пигмент в среду не выделяет	.	.	Еле заметный рост	.	Шаровидные или слегка овальные, вакуолированные кокки, плазма светлая, однородная. Диплококки сплющены в месте соединения. Длинные цепочки. Неподвижные	Шаровидные со светлой плазмой без включений. Не индистированы.	1,5—2,0
Ag. agile дельфтский	Рост не богатый, пастообразный, грязно-молочная. Среда зеленая, затем зелено-фиолетово-бурая	Роста нет	Рост богатый, буро-желтоватая колония. Среда фиолетово-бурая	Рост слабый, колония грязно-кремовая. Среда фиолетово-бурая	Рост слабый, колония молочная. Среда не пигментируется?	Зернистые монады и продолговатые клетки в скоплениях. Сильно подвижные и неподвижные клетки	Зернистые монады, не индистированы. С возрастом зернистость исчезает, клетки угловатые старые.	2,4—3,36
Ag. agile 22—D Ag. agile H—1 Ag. agile ленинградский. Ag. vinelandii	Рост не богатый или слабый, стекающая молочная колония с возрастом светло-кремовая. Среда пигментируется зелено-желтым цветом	Рост слабый. Среда желто-зеленая у одних и зелено-фиолетово-бурая у других культур	Рост слабый, колония стекающая или слабо выпуклая, грязно-кремовая	Рост слабый плоский, колония грязно-кремовая. Среда фиолетово-синяя	Рост слабый, стекающий, молочный. Среда не пигментируется	Гомогенные кокки, палочки и слабо зернистые кокки. Гомогенные сильно подвижны.	Гомогенные клетки, слабо зернистые, затем индистированные, часто с двойными контурами крупные, с возрастом старые угловатые клетки	Палочки 2,4—3,6 \times 1,4—2,0. Кокки 1,7—3,0

Примечание: Все культуры желатин не разжижают.

