

пит репрессируют синтез фермента. Наиболее сильным репрессором является глюкоза, что согласуется с литературными данными. Репрессирующий эффект маннита проявляется через 4 ч инкубирования, тогда как в первые часы он оказывает слабиндуцирующее влияние.

B. subtilis в незначительной степени подвержен катаболитной репрессии, что делает данный продуцент альфа-амилазы весьма эффективным для практического использования.

Таким образом, изучаемый штамм *B. subtilis* является продуцентом альфа-амилазы (К. Ф. 3.2.1.1), характеризующейся декстринизирующей и осахаривающей активностями. Активность данного штамма находится на уровне или несколько превышает таковую известных продуцентов [1—3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Авт. свид. СССР, № 841351А.
2. Авт. свид. СССР, № 1031681.
3. Глемжа А. А., Люджос Л. Л., Петрова Л. Н. Микробные ферменты в народном хозяйстве. 131, 132, 166, 170, Вильнюс, 1985.
4. Мурыгина В. П. Автореф. канд. дисс., М., 1985.
5. Рашап Р. К., Юшкайте Э. А., Глемжа А. А. Прикл. биохим. и микробиол., 2, 225—232, 1981.
6. Рухлядьева А. П., Полюгалова Г. В. Методы определения активности гидролитических ферментов. 58—62, 81—86, М., 1981.
7. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall L. J. Biol. Chem., 193, 1, 265, 1951.
8. Nelson N. G. J. Biol. Chem., 53, 1, 375, 1944.
9. Patent Specification LO32, 199, 1965.
10. Somogyi M. A. J. Biol. Chem., 195, 1, 19, 1952.
11. Spencer-Martins J. and van-Vloten N. Eur. J. Appl. Microb., 4, 29—35, 1977.
12. Terui G., Okazaki M., Kinoshita S. J. Ferment. Technol., 45, 497, 1967.

Поступило 5.1 1987 г.

Микробиол. ж. Армения, т. 40, № 4, 280—285, 1987

УДК 579.61.631

АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

А. Д. НАЛБАНДЯН, К. Г. АГАДЖАНИН, И. М. САДЯН

Институт микробиологии АН Армянской ССР, г. Абовян

Аннотация — Показано, что внесение в субстрат больших доз минерального азота (1,0 и 1,2 нормы) подавляет азотфиксирующую активность, эффективность и клубенькообразование у клубеньковых бактерий. Оптимальной дозой азота является 0,25 от полной нормы при 60%-ной влажности и pH почвы 7,2.

Азотфиксирующая активность и эффективность клубеньковых бактерий выше в фазе цветения растений.

Անոտացիա — Բացահայտված է, որ հանրային ազոտի 1,0 և 1,2 նորմաները (100,2 մգ համապատասխանաբար) ճնշում են պայարարակերիաների ազոտ ֆիքսելիս ակտիվությունը, ֆեկտիվությունը, պայարարաշրջումը և համարվում հանրային ազոտի լրիվ նորմայի 0,25 % (20,05 մգ), իդի խոնավությունը 60 % և pH-7,2 պայմանները:

Գյուղատնտեսական ազոտ ֆերտիլիզատիվների և էֆեկտիվությունը
բարձր և բույսերի ազդեցության շրջանում:

Abstract — The high dosage of mineral nitrogen in substrata (83,5 and 100,2 mg of N per 1 kg of substratum) depresses nitrogen fixation activity, efficiency and nodule formation by Rhizobia.

The optimum dosage of nitrogen is 25 per cent to the normal, 60 per cent humidity and pH 7,2.

Nitrogen fixation activity and efficiency of nodule bacteria are higher in the phase of flowering.

Ключевые слова: клубеньковые бактерии, симбиотическая азотфиксация, азотфиксирующая активность, клубенькообразование.

Для изучения азотфиксирующей активности микроорганизмов, в том числе и клубеньковых бактерий, широко применяют ацетиленовый метод. С помощью этого метода в условиях симбиоза изучалась нитрогеназная активность клубеньковых бактерий люцерны, клевера с целью быстрого отбора эффективных штаммов [1, 7, 10]; показана зависимость нитрогеназной активности клубеньковых бактерий люцерны от штаммовых особенностей, состава питательных сред и метаболитов бобовых растений [3].

Известно, что при добавлении в субстрат больших доз азотных соединений сильно понижается азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий в симбиозе. Ряд авторов считают, что небольшие дозы (стартовые) минерального азота, внесенные до начала симбиотической азотфиксации, стимулируют этот процесс [4, 6]. Установлено также, что добавление минерального азота в подкормку ингибирует нитрогеназную активность клубеньков бобовых растений [12, 13, 14].

На азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в симбиозе с бобовыми растениями большое влияние оказывают температура, свет, влажность и pH почвы.

Вопрос о зависимости азотфиксирующей (нитрогеназной) активности от влажности и pH почвы в литературе освещен недостаточно.

Цель наших исследований состояла в изучении влияния различных доз минерального азота, влажности, pH почвы на азотфиксирующую активность и эффективность клубеньковых бактерий сои (*Rhizobium japonicum*), а также в отборе эффективных штаммов клубеньковых бактерий люцерны (*Rh. meliloti*), нута (*Rh. cicer*) и эспарцета (*Rh. simplex*).

Материал и методика. Работа выполнена в 1980—1981 гг. Изучали клубеньковые бактерии сои, шт. 5383, 5784, 5789 (выделены в 1972 году из почв Груз. ССР), нута, шт. 6042, 6046, 6050 (выделены в 1974 году из почв АрмССР), люцерны, шт. 5515, 5548, 5549, 5551 (выделены в 1982 году из почв АрмССР). Нитрогеназную активность и клубеньках изучали модифицированным методом, предложенным ВНИИСХМ [8]. Ориентативную активность выражали в «Молях C_2H_2 на 1 растение (средние данные 10 растений) в течение 1 часа.

Опыты ставили на стерильном речном песке, обогащенном средой Прянишникова, в 4-килограммовых вазонах. Повторность опытов 4-кратная.

Дозы азота: 0,25 нормы (20,85 мг), 0,5 (41,75 мг), 1,0 (83,5 мг) и 1,2 (100,2 мг) на 1 кг песка. Влажность — 40, 60, 80% от полной влагоемкости песка.

Для изучения влияния pH на нитрогеназную активность клубеньковых бактерий сои были использованы почвы с pH 6,0; 7,2 и 8,2.

Результаты и обсуждение. Данные табл. 1 показывают, что азотфиксирующая активность всех испытанных штаммов клубеньковых бактерий выше в фазе цветения, но уже в фазе предбутонизации (образование 3—5 настоящих листьев) в клубеньках проявляется азотфиксирующая активность. Высокой нитрогеназной активностью отличались штаммы клубеньковых бактерий нута 6049 и 6046, люцерны—5549 и сои—5784, 5783.

Таблица 1. Нитрогеназная активность клубеньковых бактерий в симбиозе

Штаммы клубеньковых бактерий		нМ C_2H_2 /растение/час	
		фаза предбутонизации	фаза цветения
нута	6042	630.0	720.0
	6046	151.0	770.0
	6050	252.0	432.0
	—	—	—
люцерны	5548	—	535
	5549	—	728
	5551	—	476
	5515	66.3	521.5
сои	5783	55.23	652.5
	5784	205.2	763.1
	5789	53.68	210.5

Примечание: (—)—отсутствие данных.

Изучение нитрогеназной активности в клубеньках эспарцета при спонтанном заражении показало, что в фазе цветения клубеньковые бактерии также проявляют высокую ферментативную активность (678,8 нМ C_2H_2 /раст./час); а в фазе предбутонизации она составляет 353,6 нМ C_2H_2 /раст./час. Подобные данные получены и другими исследователями [5, 9, 10, 11].

Результаты изучения влияния различных доз азота на азотфиксирующую активность и эффективность клубеньковых бактерий сои приведены в табл. 2. Видно, что в фазе предбутонизации внесение полной нормы минерального азота или 1,2 ее приводит к снижению азотфиксирующей активности клубеньков. В этот период на корнях растений образуется мало клубеньков. В фазе цветения растений с увеличением количества клубеньков повышается и их азотфиксирующая активность. В этой фазе роста растений азотфиксирующая активность клубеньков ниже при внесении в субстрат полной нормы азота и 0,5 ее, чем при 0,25. Только в одном варианте (полная норма азота) у штамма клубеньковых бактерий сои 5784 азотфиксирующая активность была выше, чем в вариантах с 0,25 и 0,5 нормы минерального азота.

Полученные данные показывают, что высокие дозы минерального азота угнетают азотфиксирующую активность клубеньков растений сои. Высокая азотфиксирующая активность отмечена при внесении небольших доз минерального азота (0,25) в фазе цветения растений сои.

Таблица 2. Влияние различных доз минерального азота на эффективность и нитрогенную активность клубеньковых бактерий сои

Штамы	Норма азот	Вес, г		Нитрогеназная активность, иМ C_2H_2 /раст. час
		зеленой массы	клубеньков	
Фаза проростания растений				
Контроль (без инокуляции)	0.25	8.28	0	0
	0.5	6.0	0	0
	1.0	15.0	0	0
	1.2	13.0	0	0
5784	0.25	15.0	5.6	205.2
	0.5	18.0	7.0	121.3
	1.0	15.5	1.8	107.8
	1.2	16.0	4.17	94.3
5789	0.25	12.5	4.0	53.68
	0.5	17.2	4.7	719.91
	1.0	15.0	2.7	94.72
	1.2	15.0	4.0	86.9
Фаза цветения				
Контроль (без инокуляции)	0.25	9.0	0	0
	0.5	18.0	0	0
	1.0	20.0	0	0
	1.2	23.0	0	0
5784	0.25	47.0	11.5	753.1
	0.5	20.0	6.0	121.0
	1.0	29.0	7.3	290.0
	1.2	26.0	11.0	
5789	0.25	25.0	3.5	210.5
	0.5	25.0	6.0	184.2
	1.0	16.0	5.2	620.9
	1.2	23.0	4.2	315.7

Подобные результаты получены Белимой [2], изучавшей ацетилен-восстанавливающую активность двух сортов клубеньков люцерны при внесении в субстрат различных доз минерального азота.

Изучение влияния влажности на эффективность и азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий сои показало, что при 60%-ной влажности субстрата вес зеленой массы растений и клубеньков больше, чем при 40- и 80%-ной. С увеличением веса клубеньков растений повышается их азотфиксирующая активность.

В табл. 3 приведены данные, показывающие влияние pH почвы на массу надземной части, клубеньков сои и их азотфиксирующую активность. Как в фазе бутонизации, так и в фазе цветения у растений сои, выращенных на почве с pH 7,2, вес зеленой массы и клубеньков сравнительно выше, чем у растений, выращенных на почвах с pH 6,0 и 8,2. Ферментативная активность у этих растений соответственно также высокая.

Таблица 3. Влияние pH почвы на эффективность и нитрогеназную активность клубеньковых бактерий сои

Штаммы	pH	Вес, г		Нитрогеназная активность, C ₂ H ₄ , растение/ час
		зеленой массы	клубеньков	
Фаза бутонизации				
Контроль (без инокуляции)	6.0	12.0	0	0
	7.2	10.0	0	0
	8.2	9.0	0	0
5784	6.0	12.5	3.9	157.9
	7.2	21.5	6.2	1078.8
	8.2	12.8	2.3	242.1
Фаза цветения				
Контроль (без инокуляции)	6.0	15.1	0	0
	7.2	19.0	0	0
	8.2	12.3	0	0
5784	6.0	35.0	4.0	765.1
	7.2	40.2	7.1	1263.0
	8.2	20.3	2.7	1084.1

Приведенные данные позволяют заключить, что высокие дозы минерального азота угнетают эффективность и азотфиксирующую активность. Оптимальной дозой азота является 0,25 нормы.

Эффективность и нитрогеназная активность штаммов повышается при увлажнении почвы на 60% от полной влагоемкости и pH 7,2; эти показатели выше в фазе цветения растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алисова С. И., Чундерова А. И. и др. Бюлл. ВНИНССХМ, 18, 2, 36—38, 1977.
2. Белица Н. И. В кн.: Связывание молекулярного азота клубеньковыми бактериями в симбиотических и культуральных условиях. Киев, 1984.
3. Бондарцева Г. А., Шемаханова Н. М. Изв. АН СССР, сер. биол., 5, 781—786, 1978.
4. Доросинский Л. М. Клубеньковые бактерии и нитрагин. М., 1970.
5. Доросинский Л. М., Афанасьева Л. М., Рибинштейн Г. В. Агрохимия, 8, 84—88, 1973.
6. Логинова Т. К. Сельское хозяйство за рубежом, 17, 3, 1979.
7. Мальцева Н. Н., Гриб Т. А. и др. Микробиол. ж., 47, 2, 101—103, 1985.
8. Методические рекомендации по получению новых штаммов клубеньковых бактерий и оценка их эффективности. Л., 1979.
9. Сабельникова В. И. В кн.: Клубеньковые бактерии в почвах Молдавии. Кишинев, 1974.
10. Шемаханова Н. И., Бондарцева Г. А., Илясова В. Б. Изв. АН СССР, сер. биол., 6, 917—918, 1976.
11. Garg F. C., Bansal R. K., Tauro P. Indian J. Microbiol., 21, 1, 74—75, 1981.
12. Manhart J. R., Wong P. P. Plant Physiol., 65, 3, 502—505, 1980.
13. Trinchant J. C., Pigaud J. Appl. and Environ. Microbiol., 44, 6, 1385—1388, 1982.
14. Skreletu V., Gaudiova A., Nemcova M. Folia Microbiol., 25, 2, 155—161, 1980.

Поступило 22 VIII 1986 г.