

- M.E., Holt J.G. The Williams and Willkins Co., Baltimore, 2, 1986.
7. Gordon R.E., Haynes W.C., Pang C.H.W. The Genus Bacillus. USD of Agriculture, Washington, D.C., 283, 1973.
8. Gilmour D.J. Commercial use of microbe extremophiles. Chem. and Ind., 9, 285-288, 1990.
9. Horikoshi K., Aikba T. Alkalophilic Microorganisms. A new microbial world. Tokyo: Springer Verlag, 215, 1982.

Ստացված է 05.V.1995

Бюлог. журн. Армения, 1-2 (49), 1996.

УДК. 579.64:631.46

KLEBSIELLA ՅԵՂԻ ԴԻԱԶՈՏՏՐՈՖՆԵՐԸ ԳԱՐՈՒ- ԱՐՄԱՏԱՅԻՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳՈՒՄ

Վ.Վ.ՆԱՐՈՒՆՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 378510, ք.Արուվյան

Ուսումնասիրվել է զարու արմատային համակարգից մեկուսացված *Klebsiella* ջեղին պատկանող ազոտֆիքսող 6 կուլտուրաների տեսակային կազմն ու ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը: Պարզվել է, որ մեկուսացված այդ բակտերիաներից 4-ը համեմատաբար մոտ են *K.planticola*, 1-ը՝ *K.oxytoca* տեսակներին, իսկ *Klebsiella* sp.-ն նկարագրվել է որպես նոր տեսակ:

Изучены видовой состав и активность азотфиксации 6 культур клебсиеллы, выделенных из корневой системы ячменя. Выявлено, что 4 культуры близки к виду *Klebsiella planticola*, 1 - *K.oxytoca*, а пятая *Klebsiella* sp. описывается как новый вид.

Different species and nitrogen fixing activity of 6 cultures of *Klebsiella* isolated from root system of barley were studied. The 4 cultures were identified as close to species *K.planticola*, 1 - as *K.oxytoca*. The strain of *Klebsiella* sp. was described as a new species.

Ազոտֆիքսացիա - արմատային համակարգ - զարի - *Klebsiella*.

Klebsiella-ն որպես ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսատոր հայտնի է մի շարք հեղինակների աշխատանքներից [5-7]։ Ցույց է տրվել, որ դաշտային փորձերում բրնձի սերմերը *K.pneumoniae*-ով մշակելիս ավելանում է բույսի չոր մասսան և ազոտի պարունակությունը [9]: Հայտնի է նաև, որ ազոտի ֆիքսման մեծ ակտիվություն նկատվել է շաքարեղեգի և մի շարք ասոցիատիվ դիագոտրոֆների, այդ թվում և *Klebsiella*-ի համակեցության պայմաններում [12]: *K.oxytoca* տեսակին պատկանող ազոտֆիքսատոր ցորենի արմատներից մեկուսացրել և ուսումնասիրել են ամերիկյան գիտնականները [10]: Սակայն ընդհանուր առմամբ անհրաժեշտ է նշել, որ բույսերի արմատային համակարգում զարգացող մի շարք դիագոտրոֆների համեմատ [1-3] *Klebsiella*-ն անհամեմատ քիչ է ուսումնասիրվել: Հայաստանի հողերում նրա առկայության մասին տեղեկություններ չկան:

Հացազգիների արմատային համակարգում զարգացող ասոցիատիվ դիագոտրոֆների ուսումնասիրման նպատակով նախկինում մեր կողմից մեկուսացվել էին հարյուրից ավելի ազոտֆիքսող մանրէների համակեցություններ, որոնցից մեզ հաջողվել է անջատել նաև *Klebsiella* ցեղին պատկանող մի շարք դիագոտրոֆներ: Սույն հաղորդումը նվիրված է նրանց ուսումնասիրությանը:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների նյութ է հանդիսացել զարու արմատային համակարգում վարգապող, ազոտֆիքսող մանրէների բարդ համակենցություններից (11°A^{100} , A^{10}) մեկուսացված 6 կուլտուրաները՝ շտամներ N 1-6

Բույսի արմատների նմուշները վերցվել են 1988-1990թթ. Հայաստանի ցածրադիր և ռաիսլենային տարբեր շրջաններից (Էջմիածին, Մասիս, Արմավիր):

Klebsiella-ի հայտնաբերման և ուսումնասիրման համար օգտագործվել են էշրիի, Վինոգրադսկու, Չուպեկի, ՄՊԱ, իսկ որոշ դեպքերում նաև GB [11] սննդամիջավայրերը:

Կուլտուրաների իդենտիֆիկացիան կատարվել է Բերգերի [6] որոշիչով, իսկ ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը Վինոգրադսկու հեղուկ սննդամիջավայրում որոշվել է սպեկտրոսկոպիկ եղանակով [8], որի մեթոդական մասը մեր կողմից ներկայացվել է նախկինում [4]:

Արդյունքներ և քննարկում: Ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ զարու արմատային համակարգից մեկուսացված վերոհիշյալ վեց կուլտուրաները *Klebsiella* ցեղին պատկանող տարբեր տեսակներ են:

Հայաստանի ցածրադիր վայրերում մշակվող զարու արմատային համակարգից (ռիզոպլան, ռիզոսֆերա) մեկուսացված 4 կուլտուրաները շտամներ N1-4 իրենց 10%-ում զարգանալու ունակության շնորհիվ տարբերվել են գրականությունից հայտնի ազոտֆիքսող *K. pneumoniae* տեսակից: Նշված կուլտուրաները իրենց մորֆոֆիզիոլոգիական ու բիոքիմիական առանձնահատկություններով համեմատաբար մոտ են Բերգերի որոշիչով նկարագրված *K. planticola* տեսակին, չնայած այդ կուլտուրայի ազոտի ֆիքսման ունակության վերաբերյալ տեղեկություն չի բերված: Ի տարբերություն որոշիչում նկարագրված այդ տեսակի, մեր կողմից փորձարկված բոլոր կուլտուրաները, ազոտֆիքսող մանրէների բարդ համակենցություններից մեկուսացնելուց հետո, օժտված են եղել ազոտի ֆիքսման ակտիվությամբ: Նրանց այդ հատկությունն է հայտ է եկել ինչպես աերոբ, այնպես էլ միկրոաերոֆիլ պայմաններում զարգանալիս: Իրենց այդ առանձնահատկություններով ու տաքսոնոմիական որոշ հատկանիշներով նշված կուլտուրաները հավանաբար *K. planticola* տեսակի նոր ենթատեսակներ, հնարավոր է նաև նոր տեսակներ են հանդիսանում:

Զարու ռիզոսֆերայից մեկուսացված են 2 կուլտուրա: Կուլտուրաներից մեկը շտամ N6 մասամբ համապատասխանում է նույն որոշիչում նկարագրված *K. oxytoca* տեսակին, որի ազոտի ֆիքսման հատկության վերաբերյալ, ինչպես նախորդ տեսակի դեպքում, տեղեկություններ չի բերված:

Մյուս կուլտուրան շտամ N5, իր մորֆոֆիզիոլոգիական ու բիոքիմիական մի շարք առանձնահատկություններով տարբերվել է նկարագրված բոլոր *Klebsiella*-ներից: Ստորև բերված են նրա հիմնական հատկությունները: Անշարժ ձողեր են 2,8-6,0x0,5-0,9 μ մեծությամբ, առաջացնում են կապսուլա (պատիժ), գաղութներն էշրիի սննդամիջավայրում կլոր են, 2-5մմ մեծության, բավական ուռուցիկ, հարթ մակերեսով ու եզրերով, սպիտակավուն, որոնք սովորաբար տարբեր ակտիվությամբ տարալուծում են կալիճը: Կուլտուրան ֆակուլտատիվ աերոբ է, ՄՊԱ-ում չի զարգանում, հիդրոլիզում է օսլան, դիհիդրոօքսիացետոն և ացետիլմեթիլկարբիմիդ չի առաջացնում, միտրատները չի վերականգնում, արաբինոզ և գլյուկոզ օգտագործելիս առաջացնում է թթու, մթնոլորտի ազոտը ֆիքսում է ինչպես աերոբ, այնպես էլ միկրոաերոֆիլ պայմաններում:

Այսպիսով, Հայաստանի հողերում ու հացազգիների արմատային համակարգում, բացի *Azotobacter*-ից, *Azospirillum*-ից և սպորավոր մի շարք բացիլներից *Klebsiella*-ի առկայությունը լրացնում է մեր պատկերացումը ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսացիայի մասին նոր տվյալներով, միաժամանակ ստեղծելով նրանց հետագա ավելի խորը ուսումնասիրությունների անհրաժեշտություն:

Հետագա փորձերը ցույց տվեցին, որ ուսումնասիրված *Klebsiella*-ի մաքուր կուլտուրաների մեծ մասը լաբորատոր պայմաններում դժվարությամբ են պահպանվում: Ինչպես ցույց են տալիս աղյուսակում բերված տվյալները, *K. planticola*

շտամներ N2 և N3 ազոտֆիքսող մանրէների համակեցություններից մեկուսացնելուց հետո, մեկ տարվա ընթացքում կորցրել են իրենց ազոտի ֆիքսման, իսկ հետագայում նաև զարգանալու ունակությունը: Նման երևույթ չի նկատվել *K. oxytoca* շտամ N6 և *Klebsiella* sp. շտամ N5 կուլտուրաների մոտ, որոնք պահպանել են իրենց զարգացումն ու ազոտի ֆիքսման մեծ ակտիվությունը լաբորատոր պայմաններում պահպանման հինգ տարիների ընթացքում: Դա հիմնականում պայմանավորված է ինչպես ազոտֆիքսող մանրէների համակեցության ներսում տարբեր պոպուլյացիաների միջև գոյություն ունեցող յուրահատուկ փոխհարաբերության ու սննդային կապերի բնույթով, այնպես էլ այնտեղ դոմինանտող դիազոտրոֆների և նրանց ուղեկցող այլ մանրէների տեսակային կազմով:

***Klebsiella* ցեղի դիազոտրոֆների զարգացումն ու ազոտֆիքսացիան երկարատև պահպանման պայմաններում.**

Տեսակներ	Կուլտուրաների համարները	Պենիցիլինի սովակներում ֆիքսված ազոտը, մոլ 9 օրում				
		մեկուսացումից հետո 1988թ	1989թ	1991թ	1993թ	1995թ
<i>Klebsiella planticola</i>	1	0,32	0,01	0	x	-
	2	0,10	0	x	-	-
	3	0,26	0	x	-	-
	4	0,14	0,15	0,11	0	0
<i>Klebsiella</i> sp.	6	0,32	0,30	0,32	0,33	0,28
<i>K. oxytoca</i> sp.	5	0,40	0,35	0,37	0,38	0,36

Ծանոթություն. 0-ազոտի ֆիքսման ակտիվություն չի հայտնաբերվել, x կուլտուրան հետազայում չի աճել:

Ստացված տվյալներից հավանաբար պետք է հետևեցնել, որ *Klebsiella* ցեղի ասոցիատիվ դիազոտրոֆները հանդես գալով հիմնականում ազոտֆիքսող մանրէների բարդ համակեցությունների կազմում, որոշակի դեր են խաղում ոչ սինթետիկ ազոտֆիքսացիայի պրոցեսում և նպաստում բույսերի ազոտային սննդառությանը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Восьмой восточно-европейский симпозиум по биологической азотфиксации "NITROGENFIX-92", 22-26 сентября 1992 года, Саратов, Россия. Микробиология, 62, 2, 359-363, 1993.
2. Глаголева О.Б., Злотников А.К., Умаров М.М. Микробиология, 64, 2, 201-204, 1995.
3. Натонский исследовательский семинар по азоспирилле и родственным микроорганизмам. Венгрия, Шарвар, 4-7 сентября 1994г. Микробиология, 64, 3, 430-432, 1995.
4. Пикогосян В.Г. Биол. журн. Армении, 34, 3, 269-274, 1981.
5. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация. М. 1986.
6. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, London, 1, 1984.
7. Cakmakci M., Luttu, Evans H.J., Seidler R.J. Plant and Soil, 61, 1-2, 53-63, 1981.
8. Hardy R.W., Burns R.S., Holsten R.D. Soil. Biol. and Biochem, 5, 47, 1973.
9. Nandi A.S., Sen S.P. Plant and Soil, 63, 3, 465-476, 1981.
10. Rennie R. J. Can. J. Microbiol., 27, 1, 8-14, 1981.
11. Seldin L., Van Elsas J.D., Penido Elisa G.G. Plant and Soil, 70, 249-255, 1983.
12. Vose P.B. Can. J. Microbiol., 29, 8, 837-850, 1983.

Ստացված է 12.XII.1995.