

ՀԱՅԱԶԳԻՆԵՐԻ ՌԻԶՈՂԼԱՍՈՒՄ ԴԻԱԶՈՏՐՈՖՆԵՐԻ ՀԱՅՏՆԱԲԵՐՍԱՆ ԵՂԱՆԱԿ

Վ.Գ. ՆԻԿՈՂՈՍՅԱՆ

ՀՀ ԳԱՄ միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 378510, ք. Արուվյան

Դիագնոստիկա - ազոտաֆիքսատներ - ռիզոգլան - ցորեն

Ասոցիատիվ ազոտֆիքսացիայի հարցերը և բույսերի արմատային գոնայում զարգացող ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսատորները ներկայումս խորությամբ են ուսումնասիրվում աշխարհի շատ երկրներում [1,4]: Չնայած դրան, բույսերի արմատների ազոտֆիքսող մանրէների համակեցությունները (ԱՄՀ) և այնտեղ դոմինանտող տարբեր դիագնոստիկների էկոլոգիան անբավար և ուսումնասիրված: Դրա հիմնական պատճառներից մեկը համդիսանում է դիագնոստիկների հայտնաբերման և մեկուսացման պրոբլեմը: Այդ ուղղությամբ կատարված ուսումնասիրությունների ընթացքում սովորաբար մեծ ուշադրություն է դարձվել սելեկտիվ սննդամիջավայրերի կազմի ընտրությանը [2,11]: Որոշ հեղինակներ դիագնոստիկների հայտնաբերման նպատակով կատարել են բույսերի արմատների, ցողունների և տերևների միկրոսկոպիական անալիզ, որտեղից հետագայում հաջողվել է մեկուսացնել և ուսումնասիրել մի շարք նոր ազոտֆիքսատորներ [13]:

Ամիրաթեշտ է նշել, որ բույսի ռիզոգլանում զարգացող ԱՄՀ-ներից մի շարք դիագնոստիկների (*Azotobacter*, *Bacillus*, *Azospirillum*) մեկուսացումը անազոտ սննդամիջավայրերի վրա հաճախ նույնպես մեծ դժվարությունների հետ է կապվում, իսկ երբեմն էլ դառնում ուղղակի անհնար:

Սույն հաղորդումը նվիրված է դիագնոստիկների հայտնաբերման մեթոդին, որի միջոցով հացազգիների ռիզոգլանից մեզ հաջողվել է հեշտությամբ մեկուսացնել և ուսումնասիրել տարբեր դիագնոստիկների խառը կուլտուրաներ:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների նյութ է համդիսացել Հայաստանի գորշ հողերում մշակվող ցորենի, գարու և մի շարք վայրի հացազգիների արմատային համակարգն ու այնտեղ զարգացող ԱՄՀ-ները:

Փորձերի ընթացքում օգտագործվել են էշբի-ի, Վինոգրադսկու, Չապեկի, ՄՊԱ, իսկ *Azospirillum*-ի հայտնաբերման համար RC [12] սննդամիջավայրերը: Հետազոտվող բույսերի ռիզոսֆերայի միկրոֆլորան ուսումնասիրվել է Կրասիլնիկովի, իսկ ռիզոգլանը Բերյոզովայի եղանակներով [7]: Բազմակի անգամ լվացված բույսերի արմատները պահպանվել են Պեստրի ստերիլ թասերում 28°-ում 1-5 օր տևողությամբ: *Azotobacter*-ի քանակությունը որոշվել է էշբի-ի ազարային սննդամիջավայրի վրա որոշակի քանակությամբ արմատի կտորների (5մմ) տեղադրման մեթոդով: Ռիզոգլանում զարգացող ԱՄՀ-ների ազոտի ֆիքսման ակտիվության վրա բույսի արմատի ազդեցությունը որոշվել է հետևյալ ձևով: Դձ էշբի-ի հեղուկ սննդամիջավայր պարունակող պենցիլինի սրվակները մի դեպքում պարակվել են էշբի-ի ազարային սննդամիջավայրի վրա արմատի կտորների շուրջն աճած ազոտֆիքսող մանրէների կենսազանգվածով, իսկ մյուս դեպքում կենսազանգվածով և արմատի կտորներով:

Դիագնոստիկների իդենտիֆիկացիայի համար օգտագործվել են Բերգեի [9,10] որոշիչները: Ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը Վինոգրադսկու հեղուկ սննդամիջավայրում որոշվել է ագետիլենային եղանակով: Փորձերի ընթացքում համեմատության համար օգտագործվել է Մանրեների Սկանդաղորման Հանրապետական կենտրոնում պահպանվող *Azotobacter chroococcum* IHMIA B- 6111 շտամը:

Արդյունքներ և քննարկում: Հայաստանի ցածրադիր շրջանների հողերում *Azotobacter*-ը մեծ տարածում ունի: Սրանք հաճախ մեծ քանակությամբ են հանդես գալիս նաև այդ հողերում մշակվող որոշ բույսերի արմատային սիստեմում: Սակայն ինչպես ցույց տվեցին փորձերը, ցորենի արմատները բազմակի լվացումների ենթարկելիս, *Azotobacter*-ի քանակը կտրուկ նվազում է, իսկ վերջում երբեմն ուղղակի չի հայտնաբերվում (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Լվացված արմատներում պահպանված ազոտոբակտերի աճը էշբի-ի ազարային սննդամիջավայրի վրա (%)

Հող, շրջան	Բույս	Նմուշի համարը	Ոչ ռիզո-սֆերա-յին հող	Ռիզո-սֆերա-յին հող	Արմատներ			
					չլվաց-ված	լվաց-ված մեկ անգամ	լվաց-ված երեք անգամ	բազմա-կի լվաց-ված
Գորշ հող, Էջմիածին	ցորեն	1	100	100	36	8	4	0
		2	100	100	60	36	16	18
Գորշ հող, Արմավիր	ցորեն	1	100	100	36	22	6	0
		2	100	100	48	28	12	2
Գորշ հող, Էջմիածին	վայրի հացազ-գիներ	1	94	90	18	6	0	0
		2	100	100	4	0	0	0
		3	90	92	16	4	0	0

Հավանաբար, սա կարող է 3 պատճառների արդյունք լինել. 1 - *Azotobacter*-ն իրոք բացակայում է այնտեղ, 2 - ռիզոպլանի միկրոֆլորայի կազմում *Azotobacter*-ի քանակը շատ քիչ է, 3 - լվացումների հետևանքով ռիզոպլանի միկրոբային ցենոզում փոխվել է տարբեր տեսակների պատկանող մանրէների բնական հարաբերակցությունը: Հայտնվել են բույսի արմատի միջավայրում արագ աճող նոր դոմինանտ տեսակներ, որոնց առկայության պայմաններում *Azotobacter*-ը չի զարգանում: Մեր կարծիքով ամենահավանականը վերջին երկու պատճառներն են: Իրոք, կան տվյալներ, որ ցանքանյութի սկզբնական փոքր քանակների դեպքում մանրէային պոպուլյացիայի աճ առհասարակ տեղի չի ունենում [6]: Հայտնի է, որ բույսի արմատային արտազատումները և մահացած բջիջները մանրէների զարգացման համար նպաստավոր սննդամիջավայր են հանդիսանում [3], ինչպես նաև բույսի արմատները նպաստում են ռիզոպլանում զարգացող ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսատորների ազոտի ֆիքսման ակտիվության ավելացմանը [8]:

Ցորենի արմատի բարերար ներգործությունը ռիզոպլանում զարգացող մանրէների ազոտի ֆիքսման ակտիվության վրա հաստատվել է նաև մեր ուսումնասիրություններում (աղ. 2):

Մեզ առավել հետաքրքրել է փորձարկել ցորենի լվացված արմատներում ռիզոպլանի միկրոֆլորայի զարգացումը: Պարզվել է, որ բազմակի լվացված արմատները Պետրի ստերիլ թասերում մեկ օր պահպանելուց հետո, արմատային զոնայում տեղի ունեցած կառուցվածքային փոփոխության հետևանքով, *Azotobacter*-ը հանդես է եկել որպես դոմինանտ տեսակ (աղ. 3):

Աղյուսակ 2. Արմատի ազդեցությունը ռիզոպլանի ԱՄՀ-ների N_2 -ի ֆիքսման ակտիվության վրա

Հող, շրջան	Բույս	Նմուշի համարը	Տարբերակներ	Ֆիքսված ազոտը, մգ/ 3 օրում
Գորշ հող, էջմիածին	ցորեն	1	ԱՄՀ ԱՄՀ+արմատ	0,25 0,35
		2	ԱՄՀ ԱՄՀ+արմատ	0,12 0,65
Գորշ հող, Արմավիր	ցորեն	1	ԱՄՀ ԱՄՀ+արմատ	0,08 0,28
		2	ԱՄՀ ԱՄՀ+արմատ	0,10 0,22
Գորշ հող, Արմավիր	գարի	1	ԱՄՀ ԱՄՀ+արմատ	0 0,08
		2	ԱՄՀ ԱՄՀ+արմատ	0,02 0,14

Աղյուսակ 3. Բույսերի լվացված և պահպանված արմատների ազոտոբակտերի քանակը էշբի-ի ազարային սննդամիջավայրի վրա

Հող, շրջան	Բույս	Նմուշի համարը	Ազոտոբակտերի քանակը, %				
			Օրեր				
			1	2	3	4	5
Գորշ հող, էջմիածին	ցորեն	1	100	100	100	100	100
		2	100	100	100	100	100
Գորշ հող, Արմավիր	ցորեն	1	90	90	92	90	90
		2	100	98	100	100	100
Գորշ հող, էջմիածին	Վայրի հացազգիներ	1	2	0	0	0	0
		2	0	2	0	0	0
		3	0	0	0	0	0

Հետազայում մեծ քանակի *Azotobacter* պարունակող արմատի կտորները անագոտ սննդամիջավայրի վրա տեղադրելիս ապահովել են բակտերիաների 90-100% աճ: Այս երևույթը չի նկատվել նույն ցորենի դաշտում զարգացող վայրի հացազգիների մոտ:

Նշված եղանակով հացազգիների արմատային զոնայից մեզ հաջողվել է մեկուսացնել ոչ միայն *Azotobacter*, այլ նաև նրա հետ համատեղ զարգացող մի շարք դիագոստրոֆներ: Տարբեր դիագոստրոֆներ պարունակող երկու ԱՄՀ-ների կազմը ներկայացված է աղ. 4-ում:

Հետագա ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ նշված եղանակով ցորենի ռիզոպլանից մեկուսացված ԱՄՀ-ների ֆիքսման ակտիվությունը մոտ երկու անգամ գերազանցում է *Azotobacter chroococcum* ИНИА В-6111 շտամի ակտիվությանը:

Ներկայացված մեթոդի առավելությունը կայանում է հետևյալում.

Աղյուսակ 4. Դիագնոստիկայի համակեցությունների կազմը ցորենի ու գարու արմատային զոնայում

ԱՀ	Մեկուսացման վայրը, բույսը	Դիագնոստիկներ
A-66	Աշտարակի շրջան, ցորենի դիզոպլան	<i>Azotobacter armeniacus</i> <i>Bacillus</i> sp. <i>Azospirillum</i>
A-51	Աշտարակի շրջան, գարու դիզոպլան	<i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Agrobacterium radiobacter</i> <i>Flavobacterium</i> sp. <i>Azospirillum</i>

- հնարավորություն է ստեղծվում հայտնաբերել բույսի արմատներում զարգացող դիագնոստիկներ, որոնք այլ մեթոդների օգտագործման դեպքում չեն հաջողվում հայտնաբերել,

- մեթոդը հասարակ է, չեն պահանջվում բարդ կազմ ունեցող սննդամիջավայրեր և ուսումնասիրությունների համար երկար ժամանակ,

- ստեղծվում է տարբեր դիագնոստիկներին ուղեկցող այլ պոպուլյացիաների հայտնաբերման հնարավորություն,

- արմատների պահպանումը կատարվում է ստերիլ պայմաններում, հետևաբար բացառվում է կողմնակի մանրէներով միջավայրի վարակման հնարավորությունը:

Մեր կարծիքով ներկայացված այս մեթոդը կարող է օգտակար լինել այլ եղինակների նույնատիպ ուսումնասիրությունների համար:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Азотфиксация: Фундаментальные и прикладные аспекты. Мат. 10-ого междунар. конгресса по азотфиксации, 28 мая-3 июня 1995г., Санкт-Петербург, Россия. Микробиол. ж., 65, 5, 713-715, 1996.
2. Калининская Т.А., Редькина Т.В., Белов Ю.М., Инполитов Л.П., Кокунов А.В. Микробиология, 50, 5, 924-927, 1981.
3. Красильников Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. М., 1958.
4. Материалы 11-ого Международного конгресса по азотфиксации. Микробиол. ж., 60, 2, 105-109, 1998.
5. Никогосян В.Г. Биолог. журн. Армении, 34, 3, 269-274, 1981.
6. Печуркин Н.С. Популяционная микробиология. Новосибирск, 1978.
7. Теннер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.П. Практикум по микробиологии. М., 1972.
8. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация, М., 1986.
9. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Ed. Krieg N.R.). 1, Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1984.
10. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Ed. Sneath P.H.). 2, Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1986.
11. Dobereiner J. Plant and Soil. 110, 2, 207-212, 1988.
12. Kundy B.C. Plant and Soil. 57, 223-230, 1980.
13. Tippengavar C.M., Reddy T.K. Ramachndra. Curr. Sci. (India), 58, 23, 1342-1343, 1989.

Ստացված է 10.XI.1997