

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ НЕСИМБИОТИЧЕСКИХ АЗОТФИКСАТОРОВ В КОРНЕВОЙ ЗОНЕ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

В.Г. НИКОГОСЯН, И.Б. БАГДАСАРЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, Абовян

Изучены несимбиотические азотфиксирующие микроорганизмы из корневой зоны бобовых растений, произрастающих в различных районах Армении. Выявлено, что в ризосфере, ризоплане, а также в стерильных клубеньках люцерны и клевера *Azotobacter* имеет большое распространение. Показано также, что корни пшеницы, как и бобовых растений являются благоприятной средой для развития различных несимбиотических азотфиксаторов.

Աւսումնասիրվել են Հայաստանի տարբեր վայրերում աճող թիթեռնածաղկավոր բույսերի արմատային գոնայի ոչ սինթիտիկ ազոտֆիքսող մանրէները: Պարզվել է, որ փորձարկված առվույտի և երեքնուկի ռիզոսֆերայում, ռիզոպլանում, ինչպես նաև ստերիլ պալարներում *Azotobacter*-ը մեծ տարածում ունի: Ցույց է տրվում, որ ինչպես ցորենի, այնպես էլ թիթեռնածաղկավոր բույսերի արմատները նպաստավոր սննդամիջավայր են հանդիսանում ոչ սինթիտիկ ազոտֆիքսատորների զարգացման համար:

Nonsymbiotic nitrogen-fixing microorganisms from the root zones of leguminous plants grown up in different regions of Armenia are studied. It was revealed that *Azotobacter* is widely distributed in the rhizosphere, rhizoplan as well as in the sterile tubers of lucernes and clevers. The wheat roots and leguminous plants are shown to be a favourable medium of growth for different nonsymbiotic nitrogen-fixers.

Несимбиотические азотфиксаторы - люцерна - клевер - ризоплан

Известно, что бобовые растения, которые не образуют клубеньков, способны, как и другие растения, питаться связанными формами азотных соединений [4]. Важная роль свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов в жизни небобовых растений также хорошо известна [4, 10]. Показано, что благотворное воздействие несимбиотических азотфиксаторов на растения обусловлено как способностью этих микроорганизмов фиксировать N_2 , так и синтезом разнообразных растактивирующих веществ [4, 8, 12, 13].

Из приведенного можно заключить, что несимбиотические азотфиксаторы могут играть большую роль и в питании бобовых растений, особенно когда последние не образуют клубеньков. Поэтому выявление наличия и исследование особенностей несимбиотических азотфиксаторов в корневой зоне бобовых растений представляют большой экологический и биоценологический интерес. Есть данные о роли свободноживущих асимбиотических бактерий в азотном питании люцерны [7, 14]. Имеются также исследования, касающиеся распространенности несимбиотических азотфиксаторов в корневой зоне бобовых растений Армении [2]. Однако следует отметить, что в литературе мы не нашли сведений о характере пространственного взаимоотношения между бобовыми растениями и несимбиотическими азотфиксаторами, в то время как указанное взаимоотношение с небобовыми растениями изучалось во многих работах.

Так, было показано, что азотфиксирующие бактерии способны заселять межклетники пшеницы, а *Clostridium sp.* и *Agrobacterium radiobacter* - гистосферу этого растения. Имеется аналогичное указание в отношении *Azotobacter* [3, 6, 11, 15].

Исходя из приведенных предпосылок, интересно было выяснить, существует ли такое взаимоотношение между бобовыми растениями и несимбиотическими азотфиксаторами.

Настоящее сообщение посвящено исследованию этого вопроса.

Материал и методика. Использовали образцы почв и корни люцерны, клевера, эспарцета и пшеницы, произрастающих в различных районах Армении.

Микрофлору ризосферы исследовали методом Красильникова, а в ризоплане - методом Березовой [9].

Изучение несимбиотических азотфиксаторов проводили на жидких и агаризованных средах Эшби и Виноградского.

Количество азотобактера и олигонитрофилов определяли методом накладывания определенного количества почвы (50 мг) и корней (5 мм) на агаризованную среду Эшби в чашках Петри. В некоторых случаях многократно отмытые корни растений в течение 1-2 суток выдерживали в стерильных чашках Петри при температуре 28°.

Влияние корней растений на активность азотфиксации несимбиотических азотфиксаторов, развивающихся в ризоплане, определялось ранее нами описанным методом [1]. Активность азотфиксации в жидкой среде Виноградского определяли ацетиленовым методом [5].

Результаты и обсуждение. При исследовании несимбиотических азотфиксаторов корневой зоны бобовых растений мы считали целесообразным собрать образцы из местностей, смежных с пшеничным полем.

Исследования показали (табл. 1), что в корневой зоне бобовых и злаковых растений, обрабатываемых на разных полях одной и той же местности, несимбиотические азотфиксаторы широко распространены. Олигонитрофилами особенно богат ризоплан исследованных растений. Следует указать на большое распространение азотобактера в ризосфере бобовых растений. Наиболее ярко это выражено на смежных полях близ г. Абовяна, где распространенность азотобактера в ризосфере люцерны, клевера и пшеницы составляла 100%. Азотобактером богат также ризоплан. В Паракаре ризоплан клевера богаче азотобактером, чем ризоплан пшеницы. Следует особо отметить большое количество азотобактера в стерильных клубеньках бобовых растений. В клубеньках люцерны, культивируемой на смежных полях близ г. Абовяна процент азотобактера составляет 15, а в клубеньках клевера, культивируемого на полях Паракара, - 24.

Исходя из полученных данных, интересно было исследовать также развитие микрофлоры ризоплана и гистосферы в отмытых корнях люцерны и клевера и выяснить, являются ли корни бобовых растений благоприятной средой для развития азотобактера, как это ранее было доказано в случае пшеницы [6].

Исследования показали (табл. 2), что в многократно отмытых корнях опытных растений после выдержки в течение 1-2 суток в стерильных чашках Петри в результате структурного изменения состава корневой микрофлоры азотобактер стал доминирующим видом и обеспечил 20-100%-ный рост как пшеницы, так и люцерны и клевера.

Таблица 1. Распространенность несимбиотических азотфиксаторов в корневой зоне бобовых и злаковых растений, %

Местность	Растение, почва	Олигонтрофиллы		
		Азото- бактер	Кальций- разлагаю- щие	Другие микроорга- низмы
Арагатская обл., г. Арташат	неризосферная, бурая	20	30	50
	ризосфера клевера	100	0	0
	ризоплан клевера	4	92	4
	стерильный клубенек клевера	0	100	0
	ризосфера люцерны	100	0	0
	ризоплан люцерны	30	70	0
	стерильный клубенек люцерны	16	80	4
	ризосфера пшеницы	100	0	0
	ризоплан пшеницы	50	50	0
Армавирская обл., с. Паракар	неризосферная, бурая	20	20	60
	ризосфера клевера	100	0	0
	ризоплан клевера	20	70	10
	стерильный клубенек клевера	24	76	0
	ризосфера пшеницы	100	0	0
	ризоплан пшеницы	8	92	0
Котайкская обл., г. Абовян	неризосферная, каштановая	100	0	0
	ризосфера люцерны	100	0	0
	ризоплан люцерны	20	80	0
	стерильный клубенек люцерны	15	85	0
	ризосфера клевера	100	0	0
	ризоплан клевера	0	80	20
	стерильный клубенек клевера	2	94	4
Гагаринская обл., г. Гавар	неризосферная, чернозсм	0	30	70
	ризосфера эспарцета	4	70	26
	ризоплан эспарцета	0	100	0
	стерильный клубенек эспарцета	0	100	0
	ризосфера пшеницы	10	40	50
	ризоплан пшеницы	0	98	2

Приведенные данные свидетельствуют о том, что корни как исследованной ранее нами пшеницы, так и изученных бобовых растений, являются благоприятной средой для развития несимбиотических азотфиксаторов.

Таблица 2. Развитие азотобактера на агаризованной среде Эшби в отмытых и выдержанных корнях

Местность	Растение	Количество азотобактера, %	
		в отмытых корнях	в отмытых и выдержанных (1-2 дней) корнях
Арагатская обл., г. Арташат	клевер	3	20
	люцерна	30	100
	пшеница	50	100
Арагатская обл., Аинтап	люцерна	0	60
	пшеница	30	100
Армавирская обл., Паракар	клевер	20	100
	пшеница	8	100
Котайкская обл., г. Абовян	клевер	0	80
	люцерна	2	90

Интересно отметить также, что в корневой зоне пшеницы, люцерны и клевера из одной и той же местности доминируют несимбиотические азотфиксаторы из родов *Azotobacter*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Klebsiella* и *Agrobacterium*.

В литературе имеются указания на то, что корни растений благоприятствуют увеличению активности азотфиксации несимбиотических азотфиксаторов ризоплана [10]. Следует отметить, что аналогичные результаты получены и для исследованных нами бобовых и злаковых растений (табл.3).

Таблица 3. Влияние корня на нитрогеназную активность сообществ несимбиотических азотфиксаторов ризоплана и гистосферы

Местность	Растения	Варианты	Активность нитрогеназы, н моль/8 дней
Арагатская обл., г. Арташат	клевер	СНА	6200 (6400)
		СНА+корень	6800 (8100)
	люцерна	СНА	4200 -
		СНА+корень	6700 -
	пшеница	СНА	4600 -
		СНА+корень	7700 -
Арагатская обл., Димитрово	клевер	СНА	6000 (6100)
		СНА+корень	6600 (7000)
	пшеница	СНА	3800 -
		СНА+корень	4500 -
Армавирская обл., Акналич	люцерна	СНА	3700 (8300)
		СНА+корень	4000 (9200)
	пшеница	СНА	2200 -
		СНА+корень	3400 -

Примечание: СНА – сообщество несимбиотических азотфиксаторов; в скобках указаны данные после 1-2 суток выдержки; «-» - нет данных.

Исходя из того, что несимбиотические азотфиксаторы синтезируют разнообразные ростактивирующие соединения и имеют большое распространение и тесную ассоциативную связь с корнями люцерны и клевера, можно заключить, что в природных условиях несимбиотические азотфиксаторы играют большую роль и в деле питания бобовых растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Երկրորդական Վ. Գ. Հայաստանի կենսաբ. հանդես*, 51, 1-2, 120-123, 1988.
2. *Փանոսյան Դ. Կ. Սբնդիրտային ազոտի կենսաբանական ֆիքսացիան Հայկական ՍՍՀ-ում*, Երևան, 250, 1975.
3. *Волкогон В.В.* Микробиол. журн., 62, 2, 51-68. 2000.
4. *Мишустин Е.Н., Шильникова В.К.* Биологическая фиксация атмосферного азота, М., Наука, 325, 1968.
5. *Никогосян В.Г.* Биолог. журн. Армении, 34, 3, 269-274, 1981.
6. *Никогосян В.Г.* Доклады НАН Армении, 95, 4, 267-270, 1995.
7. *Павлова-Иванова Л.К., Баканчикова Т.И., Кортунова Е.Ю.* Микробиология, 64, 3, 387-392, 1995.
8. *Сандрак Н.А.* Внеклеточные метаболиты азотобактера, Кишинев, 95, 1978.
9. *Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.П.* Практикум по микробиологии, М., 1972.
10. *Умаров М.М.* Ассоциативная азотфиксация, М., Изд-во МГУ, 133, 1986.
11. *Чумаков М.И., Горбань В.В., Ковлер П.Е. и др.* Микробиология, 61, 1, 92-103, 1992.
12. *Kundu B.S., Gaur A.C.* Plant and Soil, 57, 2-3, 223-230, 1980.
13. *Okon Y., Kapulnik Y.* Plant and Soil, 90, 1-3, 3-16, 1986.
14. *Roper M.M., Gault R.R., Smith N.A.* Biol. and Biochem. 27, 4-5, 467-471, 1995.
15. *Tippanover C.M., Reddy T.K.* Ramachandra. Curr. Sci. (India) 58, 23, 1342-1343, 1989.

Поступила 05.V.2001