

Биолог. журн. Армении, 3 (55), 2003

УДК 579.64:631.46

## ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА И АКТИВНОСТЬ АЗОТФИКСАЦИИ СООБЩЕСТВ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

В.Г.НИКОГОСЯН, И.Б.БАГДАСАРЯН

*Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян*

Communities of nitrogen-fixing microorganisms (CNM) are characterized by stability, nitrogen fixation activity and competitiveness and are also effective for difficult of access carbon compounds displaying in spite of this high nitrogen fixation activity.

*Азотфиксация - несимбиотические азотфиксаторы - целлюлоза - инулин*

Известно, что свободноживущие азотфиксаторы, в том числе и азотобактер в качестве источника углерода, используют углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты и углеводороды [1, 3, 4]. Однако такие источники углерода, как целлюлоза, инулин, масляная кислота и т.д., с трудом, или вовсе не усваиваются как многими микроорганизмами, так и несимбиотическими азотфиксаторами. Поскольку известно, что все важнейшие природные процессы осуществляются микробными сообществами сложного состава [2, 5, 7], нетрудно заключить, что труднодоступные соединения углерода при метаболизме некоторыми микроорганизмами могут превращаться в доступные соединения для других микроорганизмов. С этой точки зрения, следует особо отметить стимулирующее действие целлюлозоразлагающих, маслянокислых и других почвенных микроорганизмов на азотобактер [4, 9].

Исходя из приведенных предпосылок, интересно было исследовать использование различных источников углерода и активность азотфиксации выделенных нами сообществ азотфиксирующих микроорганизмов (САМ), отличающихся высокой азотфиксирующей активностью.

Настоящее сообщение посвящено изучению этого вопроса.

**Материал и методика.** Объектами исследования являлись САМ А42 и А65, выделенные из каштановых почв и ризоплана пшеницы (Арагацотн, 1989г.), а также А26, выделенные из бурых почв Араратской долины (Чарбах, 1991г.). Состав и активность азотфиксации исследованных азотобактеросодержащих САМ в течение длительного лабораторного хранения не изменились.

Исследования проводили на жидкой среде Виноградского следующего состава (г/л):  $K_2HPO_4$  - 0,3,  $MgSO_4$  - 0,3,  $NaCl$  - 0,3,  $MnSO_4$  - 0,005,  $FeSO_4$  - 0,005,  $(NH_4)_2 MoO_4$  - 0,05,  $CaCO_3$  - 3,3, сахаразы - 10. Вместо сахаразы в качестве источника углерода использовали целлюлозу, лактозу и инулин.

Нитрогеназную активность определяли ацетиленовым методом [6].

**Результаты и обсуждение.** Исследования показали, что при использовании целлюлозы, инулина и лактозы активность азотфиксации у испытанных САМ больше, чем у азотобактера при раздельном культивировании. Это особенно хорошо проявляется у сообществ А26 и А65 при использовании целлюлозы и лактозы (табл. 1).

Таблица 1. Использование различных источников углерода и активность азотфиксации азотобактерсодержащих САМ

САМ, диазотрофы		Варианты	Нитрогеназная активность, н.моль $C_2H_2$		
			V день	XII день	XX день
А26	Сообщество	ВВ	0	0	0
		С	9000	>10000	>10000
		Ц	3200	4000	6000
		И	8000	>10000	>10000
		Л	3100	4500	8500
	<i>Azotobacter</i>	ВВ	10	25	25
		С	5500	9000	>10000
		Ц	0	0	0
		И	2700	3000	7000
		Л	1200	2700	3000
А65	Сообщество	ВВ	150	400	600
		С	7000	>10000	>10000
		Ц	4800	6300	7500
		И	3600	>10000	>10000
		Л	500	4000	>10000
	<i>Azotobacter</i>	ВВ	200	380	580
		С	3000	>10000	>10000
		Ц	250	2000	2400
		И	2500	6000	8000
		Л	150	1900	3000

Условные обозначения: ВВ-водопроводная вода, С-сахарозосодержащая жидкая среда Виноградского (контроль), Ц-целлюлозосодержащая среда, И-инулинсодержащая среда, Л-лактозосодержащая среда.

Приведенные данные свидетельствуют также о том, что нитрогеназная активность иногда замечается и в вариантах с водопроводной водой. Интересно отметить, что это явление замечается и при использовании дистиллированной воды. На наш взгляд, причиной этого может быть наличие слизи в посевном материале, которая, как известно, при углеродном голодании может быть использована азотобактером [8]. Не исключается также наличие следов углерода в посевном материале, частичный автолиз компонентов САМ при инкубации в неблагоприятной среде и т.д.

Учитывая то обстоятельство, что изученные САМ А26 и А65, кроме азотобактера, содержат также по пять сопутствующих бактерий, можно

заклучить, что указанные бактерии способны превратить испытанные источники углерода в более доступные соединения, которые, в свою очередь, могут благоприятствовать увеличению активности азотфиксации диазотрофов.

В дальнейшем было изучено САМ А42, которое имеет сложный состав. Результаты проведенных исследований показали, что отдельные диазотрофы в этом сообществе из родов *Azotobacter*, *Bacillus* и *Klebsiella* при развитии в различных углеродсодержащих средах фиксируют меньше азота, чем при совместном культивировании или в САМ вместе с сопутствующими бактериями диазотрофов (табл. 2). Отметим также, что это явление, которое напоминает синергетическое взаимоотношение микроорганизмов, нами обнаружено и у ряда САМ, выделенных из корневой зоны пшеницы и ячменя. Полученные данные свидетельствуют также о том, что из испытанных источников углерода штамм *Bacillus* использовал только инулин, а штамм *Klebsiella* ни один из них не усваивал.

Таблица 2. Использование различных источников углерода и активность азотфиксации САМ А42

САМ. дiazотрофы	Варианты	Нитрогеназная активность, н.моль $C_2H_4$		
		V день	XII день	XX день
А42	ВВ	200	250	250
	С	>10000	>10000	>10000
	Ц	4900	7500	7500
	И	3300	4500	6500
	Л	100	800	1800
<i>Azotobacter</i>	ВВ	0	0	0
	С	4100	4300	7000
	Ц	800	900	1300
	И	1700	4000	4300
	Л	20	230	1400
<i>Klebsiella</i>	ВВ	0	0	0
	С	300	1000	1500
	Ц	0	0	0
	И	0	0	0
	Л	0	0	0
<i>Bacillus</i>	ВВ	0	0	0
	С	600	1100	2000
	Ц	0	0	0
	И	700	1400	1400
	Л	0	0	0
<i>Azotobacter</i> + <i>Klebsiella</i> + <i>Bacillus</i>	ВВ	900	1000	1200
	С	5000	800	>10000
	Ц	1200	2400	2700
	И	4000	8000	>10000
	Л	10	500	500

Примечание: Сообщество, кроме диазотрофов, содержало также три сопутствующие бактерии, у которых не обнаружена активность азотфиксации.

Учитывая сказанное, можно заключить, что САМ, которые характеризуются устойчивостью, активностью азотфиксации и конкурентоспособностью, эффективны также при усвоении труднодоступных углеродных соединений, проявляя при этом высокую активность азотфиксации. Эти САМ могут играть большую роль в естественных биоценозах в условиях наличия труднодоступных соединений углерода в среде.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Квасников Е.И., Ключникова Т.М., Нестеренко О.А., Писарчук Н.И. Докл. АН СССР, 208, 3, 714-726, 1973.
2. Кондраков Г.В., Верховцева Н.В., Кумбьякин Д.А. Сб. тез. науч. конф. студ. аспирантов и мол. ученых. Ярославль, 1997. Ярославль, 133-135, 1997.
3. Мальцева Н.Н., Карпушин Н.А. Микробиология, 38, 6, 1012-1016, 1969.
4. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М., Наука, 1968.
5. Уморов М.М. Ассоциативная азотфиксация, М., Изд-во МГУ, 1986.
6. Hardy R.W., Holsten R.D., Jochson E.K., Burns R.C. Plant Physiol, 43, 1185-1207, 1968.
7. Kennedy Ann C., Cewin Virginia L. Soil Sci. 162, 9, 607-617, 1997.
8. Proctor M.N. Nature, 184, 4703, Suppl., 25, 1934-1935, 1959.
9. Remeale J. Ann. Inst. Pasteur. 111, 3, 149-154, 1966.

Поступила 28.III.2002