

Биолог. журн. Армении, 3 (55), 2003

УДК 579.64.580.71

ԴԻԱԶՈՏՐՈՖՆԵՐԻ ԱՉՈՏՖԻՔՍԱՑԻԱՅԻ ԽԹԱՆՈՒՄԸ ԱՉՈՏՖԻՔՍՈՂ ՍԱՆԻՏԵՐԻ ՀԱՄԱԿԵՑՈՒԹՅՈՒՆՈՒՄ ԶԱՐԳԱՑՈՂ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԿՈՂՄԻՑ

Վ.Գ. ՆԻԿՈՂՈՍՅԱՆ, Ի.Բ. ԲԱՂՂԱՍԱՐՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 378510, ք. Արմավյան

It was shown, that in the communities of nitrogen-fixing microbes occurs stimulation of nitrogen-fixation at the presence of some bacteria, accompanying diazotrophs.

Микробный симбиоз - диазотрофы - азотфиксация - азотобактер

Մեր նախորդ ուսումնասիրություններից պարզվել էր, որ բնության մեջ տարբեր տեսակների պատկանող դիազոտորոֆները համատեղ զարգանալով ավելի շատ N_2 են ֆիքսում, քան առանձին [1]: Հացազգիների արմատային զոնայից և տարբեր հողերից մեկուսացված 240 ազոտֆիքսող մանրէների համակեցությունների (ԱՄՀ) փորձարկումներից պարզվեց, որ 1-2 դիազոտորոֆ պարունակող համենատարբար պարզ կազմ ունեցող համակեցություններում ևս նկատվում է N_2 -ի ֆիքսման մեծ ակտիվություն, որը չի պահպանվում նրանց կոմպոնենտներն առանձին զարգանալիս: Նման ԱՄՀ-ներում դիազոտորոֆներին սովորաբար ուղեկցում են 2-9 տարբեր տեսակների պատկանող բակտերիաներ, որոնցից շատերը լաբորատոր պայմաններում բազմակի վերացանքներից հետո պահպանվել են տարիներ շարունակ:

Դեռ վաղ ժամանակներից հայտնի է, որ դիազոտորոֆների ազոտֆիքսացիան ավելի ինտենսիվ է ընթանում այլ բակտերիաների հետ համատեղ զարգանալիս, օրինակ *Azotobacter*-ը ցելյուլոզա քայքայող սպորավոր բակտերիաների հետ: Վերջինս, ինչպես պարզվել է հետազայում, նպաստում է նաև ազոտֆիքսող *Mycobacterium*-ի N_2 -ի ֆիքսման ակտիվության մեծացմանը [2]: *Mycobacterium*-ի ազոտֆիքսացիայի խթանմանը նպաստում են նաև նրան ուղեկցող բակտերիաները [3]: Կան տեղեկություններ, որ դիազոտորոֆների ազոտֆիքսացիան ինտենսիվ է ընթանում սնկերի և շաքարասնկերի հետ համատեղ զարգանալիս [7]: Վերջերս կատարված ուսումնասիրությունները հաստատում են նաև *Bradyrhizobium*-ի N_2 -ի ֆիքսացիայի խթանումը *Pseudomonas fluorescens*-ի հետ համատեղ զարգանալիս [8]:

Բերվածից ելնելով նպատակահարմար գտանք ուսումնասիրել Հայաստանում մշակվող հացազգիների արմատային զոնայից մեր կողմից մեկուսացված համենատարբար պարզ կազմ ունեցող *Azotobacter* պարունակող ԱՄՀ-ները, որին և նվիրված է սույն հաղորդումը:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների նյութ են հանդիսացել հարյուրավոր ԱՄՅ-ներից ընտրված *Azotobacter* պարունակող 15 համակեցությունները, որոնք աչքի են ընկել իրենց N_2 -ի ֆիքսման մեծ ակտիվությամբ ու կայունությամբ:

Փորձերի ընթացքում օգտագործվել են էշբիի և Վինոգրադսկու հեղուկ և ագարային սննդամիջավայրերը: Կուլտուրաների իդենտիֆիկացիան կատարվել է Բերգեի որոշիչներով [5, 9], իսկ ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը՝ ացետիլենային եղանակով, որի մանրամասն նկարագրությունը մեր կողմից ներկայացվել է նախկինում [4]: Ստացված տվյալների վիճակագրական մշակումը կատարվել է ըստ Պլիսինսկու [6]:

Արդյունքներ և քննարկում: *Azotobacter* պարունակող փորձարկված 15 ԱՄՅ-ների ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ համակեցության պայմաններում այդ դիազոտրոֆն ավելի շատ ազոտ է ֆիքսում, քան առանձին: Փորձարկված նման ԱՄՅ-ներից երեքի մաքուր և խառը կուլտուրաների ազոտֆիքսացիան ներկայացված է աղ. 1-ում:

Աղյուսակ 1. *Azotobacter* պարունակող ԱՄՅ-ների մաքուր և խառը կուլտուրաների ազոտֆիքսացիան ($M \pm n$)

ԱՄՅ-ներ	Փորձի տարբերակները	Կրկնություններ (n)	Պենիցիլինի սրվակներում ֆիքսված ազոտը, մգ/10 օրում
AcXII-I	Հ	5	$0,54 \pm 0,04$
	Ա	3	$0,43 \pm 0,00$
A26	Հ	8	$1,10 \pm 0,04$
	Ա	8	$0,53 \pm 0,07$
A65	Հ	6	$1,37 \pm 0,06$
	Ա	6	$0,51 \pm 0,05$

Ճանրություն: Հ – համակեցություն (խառը կուլտուրա), Ա – *Azotobacter* (մաքուր կուլտուրա):

Հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ A65 համակեցությունը *Azotobacter*-ի մաքուր կուլտուրայի համեմատ մոտ 2,5 անգամ ավելի շատ ազոտ է ֆիքսում, նպատակահարմար գտանք *Azotobacter*-ից և նրան ուղեկցող հինգ այլ բակտերիաներից կազմված այդ համակեցությունն ուսումնասիրել ավելի մանրամասն:

Ինչպես ցույց տվեցին փորձերը, A65 համակեցությունում *Azotobacter*-ին ուղեկցող բակտերիաներն առանձին N_2 չեն ֆիքսում (աղ. 2):

Չնայած դրան, Յ-2 և Յ-3 ուղեկցող բակտերիաներն առանձին դիազոտրոֆի հետ համատեղ զարգանալիս տարբեր չափերով նպաստում են ազոտֆիքսացիային, իսկ այդ երկուսի առկայության դեպքում մոտ երեք անգամ ավելանում է *Azotobacter*-ի ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը: Ինչպես ցույց տվեցին փորձերը, N_2 -ի ֆիքսման ակտիվությանը չեն նպաստել M-1, M-2, M-3 ուղեկցողները, չնայած չի բացառվում նրանց մասնակցությունն ու որոշակի դերը ԱՄՅ-ն մետաբոլիզմի պրոցեսում:

Azotobacter-ի ֆիքսման խթանումը Յ-2 և Յ-3-ի կողմից մեր կողմից դիտվում է որպես մանրէների սիներգիստ փոխհարաբերության դրսևորում, որը ձևակերպվել է էվոլյուցիոն զարգացման ընթացքում, տարբեր բակտերիաների համատեղ կենսագործունեության պայմաններում:

Ուսումնասիրություններից պարզվեց, որ A65 ԱՄՅ-ում զարգացող Յ-2 և Յ-3 բակտերիաներն իրենց տաքսոնոմիական հատկանիշներով համապատասխանում են Բերգեի որոշիչներում նկարագրված *Flaviobacterium*

ցեղին, սակայն զգալիորեն տարբերվել են այնտեղ նկարագրված այդ ցեղի հայտնի տեսակներից: Ստորև բերված են նշված բակտերիաների հիմնական հատկանիշները:

Աղյուսակ 2. A65 ՍՄՀ մաքուր և խառը կուլտուրաների ազոտֆիքսացիան (n=3)

Տարբերակներ	Պենիցիլինի սրվակներում ֆիքսված ազոտը, մգ/10 օրում
A65 ՍՄՀ	1.48±0.06
A65 Az	0.54±0.07
Յ-2	0
Յ-3	0
M-1	0
M-2	0
M-3	0
A65 Az+Յ-2	0.78±0.04
A65 Az+Յ-3	1.51±0.01
A65 Az+Յ-2+Յ-3	1.60±0.08
A65 Az+M-1	0.62±0.07
A65 Az+M-2	0.63±0.05
A65 Az+M-3	0.67±0.11
A65 Az+M-1+M-2+M-3	0.56±0.04
A65 Az+Յ-2+Յ-3+M-1+M-2+M-3	1.33±0.06

Ծանոթություն: Յ - էշբիի վրա զարգացող բակտերիա, M - ՄՊԱ-ի վրա զարգացող բակտերիա, Az - ազոտորակտեր:

Flaviobacterium sp. Յ-2-ի բջիջներն անշարժ ծողեր են 0,8-2x0,4-0,5μ չափերով, առաջացնում է թույլ արտահայտված կապսուլա:

Գաղութները էշբիի սննդամիջավայրում 2,5-3,5մմ մեծության են, կլորավուն, քիչ ուռուցիկ, հարթ մակերեսով ու եզրերով, սպիտակավուն, փայլուն, առաջացնում են կավիճի տարալուծման զոնա: ՄՊԱ-ի վրա գաղութները մանր են, սպիտակավուն փայլուն: Աերոբ է, ժելատինը չի լուծում, թույլ պեպտոնացնում է կաթը, նիտրատները չի վերականգնում, օսլան չի հիդրոլիզում, օգտագործելով գլյուկոզան ու քսիլոզան առաջացնում է թթու, զարգանում է 3% NaCl-ի պայմաններում, առաջացնում է դիհիդրօքսիացետոն, ացետիլմեթիլկարբիմիլ չի առաջացնում, կազեինը չի տարալուծում, 45°-ի պայմաններում չի զարգանում, աճում է pH 5-ում, յուրացնում է ցիտրատը:

Flaviobacterium sp. Յ-3-ն իր հիմնական հատկանիշներով նմանվում է վերևում նկարագրված բակտերիային: Սակայն *Flaviobacterium sp.* Յ-3-ը կավիճը չի տարալուծում, կաթը փոփոխության չի ենթարկում, իսկ ՄՊԱ-ի վրա գաղութները կարմրավուն են:

Ամփոփելով կատարվածը, կարելի է եզրակացնել, որ Հայաստանում մշակվող հացազգիների արմատային զոնայի ՍՄՀ-ներում N₂ ֆիքսացիայի խթանում տեղի է ունենում ինչպես տարբեր դիագնոստիկների համատեղ զարգացման [1], այնպես էլ ազոտի ֆիքսման ունակությունից զուրկ, դիագնոստիկների ուղեկցող որոշ բակտերիաների առկայության պայմաններում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Նիկողոսյան Վ.Գ. Ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսատորների էկոլոգիան, կենսաբանական առանձնահատկությունները և նշանակությունը. Դոկտորական ատենախոսության սեղմագիր, Արույան, 1998.
2. Калининская Т.А. Микробиология, 36, 2, 345-349, 1967.
3. Львов Н.П., Любимов В.И. Изв. АН СССР, сер. биол. 2, 250-256, 1965.
4. Никогосян В.Г. Биолог. журн. Армении, 34, 3, 269-274, 1981.
5. Определитель бактерий Берджи, 1, 1997.
6. Плохинский Н.А. Математические методы в биологии, М., 1978.
7. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация, М., 1986.
8. Шабает В.П., Смолин В.Ю., Ширшова Л.Т. Почвоведение, 8. 980-987, 1998.
9. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1, 1984.

Ստացվել է 17.IV.2000