

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. К. Паносян

Новый азотфиксирующий вид Actinomyces

(Представлено С. К. Карапетяном 2 III 1945)

Как известно, Actinomyces, или лучистые грибки являются одними из наиболее распространенных в природе микроорганизмов, составляя 20—30%⁽¹⁾ микрофлоры в одной только почве. Они принимают активное участие в процессах круговорота веществ.

Ряд исследователей⁽²⁾ утверждает, что некоторые актиномицеты связывают атмосферный азот, другие отрицают этот факт⁽³⁾.

Проведенные нами исследования подтверждают правильность первой точки зрения. При изучении микрофлоры солончаковых почв нами было обнаружено, что наряду с азотобактером имеется немало видов Actinomyces, которые в процессе своей жизнедеятельности превращают значительное количество свободного азота в органический. Они представляют интерес также тем, что по своим морфологическим свойствам отличаются от описанных до сего времени видов лучистых грибов.

Для выделения и изучения группы актиномицетов солончаковых почв нами были использованы следующие питательные среды:

1. *Синтетическая среда* — дистиллированной воды — 1000 cm^3 , K_2HPO_4 — 0,5 г, MgCO_3 — 0,5 г, NaCl — 0,5 г, KNO_3 — 1 г, сахарозы — 2,5%, Fe_2SO_4 — 0,001 — мел в избытке и агара — 2%.

2. *Почвенный агар* — почвенной вытяжки* — 1000 cm^3 , K_2HPO_4 — 0,3 г, KNO_3 — 0,5 г (в некоторых случаях без KNO_3), глицерин — 10 г (иногда можно его заменить 10 г сахарозы), мел в избытке и 2% агара. $\text{pH} = 7,4 - 7,6$.

Хотя на почвенном агаре актиномицеты растут сравнительно нормально, однако рост их не типичен, а на синтетической среде они или вовсе не растут или же растут очень слабо; при этом клетки их сморщиваются, гифы укорачиваются, следовательно лучистость уменьшается и начинается раннее спорообразование. Предполагая, что спорообра-

* 1 кг садовой почвы, разведенной в 1 литре воды, выдерживается в автоклаве в течение получаса под давлением 1 атмосферы, затем фильтруется после обработки тальком.

зование начинается из-за неблагоприятных условий питания, мы несколько изменили состав вышеупомянутых сред. С целью получения питательных сред с концентрацией солей, близкой к таковой для солончаковых почв, садовая почва была заменена солончаковой, причем для каждого вида актиномицетов бралась специфическая для нее солончаковая почва. К почвенной вытяжке прибавлялось 0,5% K_2HPO_4 и 1% глицерина или 1% маннита, который может быть заменен 1% сахаразы, 2% агара и следами мела.

После вышеописанного изменения состава питательных сред, из солончаковых почв удалось выделить азотфиксирующие актиномицеты и подробно изучить как их количественное содержание в почве, так и морфологические и физиологические свойства.

В процессе исследования выяснилось, что в солончаковых почвах с различным физико-химическим составом и различной концентрацией солей, количество обитающих актиномицетов не одинаково. Более того, количество актиномицетов находится в тесной зависимости от изменения концентрации солей, связанного с изменением влажности различных слоев почвы.

Актиномицеты в процессе развития приспосабливаются к условиям определенной засоленности; повышение или понижение концентрации солей сильно сказывается на их развитии, приводя к гибели или перемещению в слои с более подходящей для их развития концентрацией.

Изменению количества азотфиксирующих актиномицетов в различных слоях солончаковой почвы выражены в таблице 1.

Таблица 1

Количество Actinomyces в 1 г почвы в миллионах

Вид солончаков	Глубина слоя в см	Весной				Летом				Осенью			
		Влажн. почвы в % от влагосмк.	% раств. солей	pH	Количество Actinomyces	Влажн. почвы в % от влагосмк.	% раств. солей	pH	Количество Actinomyces	Влажн. почвы в % от влагосмк.	% раств. солей	pH	Количество Actinomyces
Корковый	0—15	60	0,6	7,4	4,5	20	1,5	7,8	2,0	30	1,0	7,6	2,2
	15—30	40	1,3	8,0	2,5	36	0,5	7,6	5,0	45	1,2	7,2	4,3
Пухлый	0—15	50	1,5	7,8	3,0	25	2,5	8,2	1,4	33	2,0	8,0	1,8
	15—30	40	2,4	8,4	1,8	35	1,6	8,0	2,5	46	1,4	7,8	2,0
Мокрый	0—15	65	2,8	8,0	2,0	40	4,6	8,6	0,8	45	4,0	8,4	1,0
	15—30	45	4,21	8,6	1,5	45	3,8	8,2	1,8	50	3,2	3,2	1,6

Как видно из таблицы, весной, когда вследствие увеличения атмосферных осадков соли, смываясь, перемещаются из верхних слоев почвы в нижние, количество актиномицетов в последних уменьшается, в верхних же слоях, наоборот, в связи с уменьшением концентрации солей количество их увеличивается. Летом наблюдается обратное явление: в нижних слоях количество актиномицетов увеличивается, а в верх-

них сильно уменьшается. Это, повидимому, связано с увеличением концентрации солей вследствие испарения воды, что очевидно приводит к перемещению их из верхних слоев в нижние.

При исследовании нами было выделено несколько штаммов актиномицетов, которые в процессе своей жизнедеятельности в той или иной степени фиксируют азот. Один из наиболее интенсивно фиксирующих азот штаммов был изучен более подробно.

Для определения степени азотфиксирующей способности, указанный штамм был высеян как на питательные среды, приготовленные из соответствующей почвенной вытяжки, так и на питательную среду Эшби^{*}. Количество азота определялось^{**} по их росту на указанных средах. В качестве контроля на тех же средах выращивались *Azotobacter*, выделенный нами из солончаков, и общеизвестный *Azotobacter chroococcum*.

Интенсивность фиксации азота вышеупомянутыми микроорганизмами выражена в таблице 2.

Таблица

К у л ь т у р ы	Питат. среды	Количество азота в мг в 100 см раствора										
		До опыта	Чер. 4 дня		Чер. 8 дн.		Чер. 12 дней		Чер. 16 дней		Чер. 20 дн.	
			После опыта	Прибав.	После опыта	Прибав.	После опыта	Прибав.	После опыта	Прибав.	После опыта	Прибав.
Azotobacter chroococcum	Почв. выт.	0,58	1,42	0,84	2,04	1,46	4,38	3,80	6,85	6,27	7,31	6,73
	Эшби	—	0,85	0,85	2,17	2,17	16,25	16,25	18,34	18,34	20,17	20,1
Azotobacter из солончака	Почв. выт.	0,58	2,52	1,94	4,17	3,59	14,32	13,74	16,25	15,67	18,72	18,1
	Эшби	—	0,09	0,09	0,28	0,28	0,75	0,75	2,17	2,17	2,36	2,36
Actinomyces из солончака	Почв. выт.	0,58	0,67	0,09	1,38	0,80	5,85	5,27	8,31	7,73	12,24	11,6
	Эшби	—	0,03	0,03	0,04	0,04	0,42	0,42	0,80	0,80	0,70	0,70

Как видно из таблицы, актиномицет, обитающий в солончаках, обладает довольно большой азотфиксирующей способностью, причем, активность азотфиксирующей способности возрастает на питательной среде, приготовленной из солончаковой почвенной вытяжки. На этой среде он фиксирует свободный азот в органический с такой же интенсивностью, как *Azotobacter*.

Эти два организма, приспособляясь к условиям высокой засоленности, приобрели способность фиксировать азот. Наоборот, при развитии на синтетических средах они фиксируют свободный азот с меньшей интенсивностью. Безусловно большое значение имеет здесь

* Состав питательной среды Эшби—вода—100 см³, NaCl—0,02 г, CaSO₄—0,01 г, MgSO₄—0,02 г, K₂HPO₄—0,02 г, маннит—2 г, мел—0,5 г.

** Азот определен по методу Кьельдаля.

концентрация солей питательной среды, что доказывается ростом *Azotobacter chroococcum* (табл. 2). Азотфиксирующий актиномицет при росте на солончаково-почвенном агаре дает колонию диаметром в 5—7 мм, окруженную желтой твердой каймой, шириной в 1 мм, слабо бархатистую, густеющую к центру. Бархатистый налет в краях колонии светлого оттенка, к центру буреет.

Бархатистое тело актиномицета под микроскопом представляется в виде клетки с короткими разветвлениями без перегородок. В центральной части разветвлений отмечаются темные тельца, окрашиваемые ядерными красками.



а. Общий вид колонии.
б. то же под микроскопом при малом увеличении,
в. часть колонии под микроскопом при увеличении 600 $\times$
д. спорообразование.

Иногда между двумя разветвлениями появляется опухоль, имеющая вид полукруга, на которой образуются цепочковидные овальные споры (см. рис.). Зрелая спора, отделяясь от цепочки, на питательной среде удлиняется и дает боковые придатки, последние в свою очередь разветвляются и образуют мицелий лучистого грибка.

При культивировании на обыкновенном почвенном агаре рост актиномицета солончака ослабляется, ветки уменьшаются и сморщиваются, в них образуются перегородки, и они начинают походить на скопление палочковидных бактерий. Отмечается раннее спорообразование.

Актиномицет из солончаков развивается исключительно в аэробных условиях; способен усваивать азот органических и неорганических соединений, однако хорошо развивается и при отсутствии этих веществ; использует углерод различных органических соединений, напр., глюкозы, сахарозы, глицерина, маннита, отчасти также клетчатки, крахмала и пр.

На безазотистых питательных средах при разложении 1 г сахара связывает 8—12 мг элементарного азота. Нитраты не восстанавливает.

Этот актиномицет принадлежит к группе актиномицетов почвы, описанной Краинским ⁽⁴⁾, Ваксманом ⁽⁵⁾, Куртисом ⁽⁶⁾, Дрекслером ⁽⁷⁾, Миллером и Бурром ⁽⁸⁾ и др.

По Красильникову (^{3, 11}), некоторые общие свойства идентичны с таковыми у *Actinomyces albus*. Однако по способности к спорообразованию и к фиксации свободного азота, выделенный нами актиномицет резко отличается от него и других почвенных *Actinomyces*.

Таким образом, описанный нами актиномицет может считаться новым видом. Будучи обитателем солончаковых почв, последний имеет специфические морфологические и физиологические свойства, почему и, в отличие от известных почвенных актиномицетов, мы называем его *Actinomyces azotophilus*.

Сектор микробиологии
Академии Наук Арм. ССР
Ереван, 1945, январь.

Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Ազոտ կապող մի նոր տեսակ—*Actinomyces*

Հայաստանի աղուտ հողերից մենք մեկուսացրինք մի նոր տեսակ ճառագայթասունկ—*Actinomyces*, որը, ապրելով հողի բարձր աղայնության պայմաններում, ունի յուրահատուկ մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական, ինչպես նաև գազային ազոտով սնվելու հատկություններ: Որովհետև մինչև այժմ նկարագրված *Actinomyces*-ներն այդ հատկանիշները չունեն, ուստի մենք նպատակահարմար գտանք այդ նոր տեսակի ճառագայթասունկը անվանել *Actinomyces azotophilus*.

H. Panossian

A New Azote Fixing Species of *Actinomyces*

From the alkaline soils of Armenia we have isolated a new kind of *Actinomyces* which living under the high alkaline conditions, has a specific morphological and physiological, as well as capability of nourishment of gaseous nitrogen a quality which are absent in the *Actinomyces* studied up to the present time. For that reason we thought reasonable to call it *Actinomyces azotophilus*.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Hiltner и К. Störmer. Studien über die Bacterienflora des Ackerbadens etc. Arb. Biol. Abt. K. Gesundheitsam, S. 443, 1903.
2. P. Emesson. Soil Science, V, 3, p. 215, 1917.
3. Н. А. Красильников. Лучистые грибки и родственные им организмы—*Actinomycetales*. 1938.
4. А. Краинский. Журн. опытно. агрономии, т. XIV, стр. 255, 1913.
5. S. Waksman. Soil Science, V. 8, p. 71, 1919.
6. S. Waksman. а R. Curtus. Soil Science, V. 1, p. 99, 1916.
7. Ch. Drochsler. Botanical Gasette, V. 67, p. 65, 147, 1919.
8. W. Miliard а S. Burr. Ann. Appl. Biol., V. 13, p. 580, 1926.
9. H. Conn. N. V. Agr. Exp. Sta, Tochn. Bull. № 60, 1917.
10. H. Ienson. Soil Science, V, 30, p. 59, 1930.
11. А. Бачинская и А. Петросян, Микробиология, т. VI, в. 7, стр. 868, 1937.