

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. К. Папоян и В. Г. Туманян

Симбиоз между дрожжами и азотобактериями

(Представлено С. К. Карапетяном 13 V 1947)

Дрожжи и азотобактерии принадлежат к сравнительно хорошо изученным группам микроорганизмов. Как дрожжи, так и азотобактерии обладают целым рядом ценных биологических свойств и потому с давних пор привлекают внимание ученых. Уже на заре развития микробиологии исследователи начали заниматься и с тех пор неустанно занимаются изучением биологических особенностей этих организмов. Однако, несмотря на это, названные группы микроорганизмов имеют ряд очень важных биологических свойств, и по сей день не изученных достаточно подробно. Из этих свойств можно отметить, например, характерные взаимодействия между организмами двух различных групп, развивающихся в одной и той же питательной среде. Эти взаимодействия имеют большое значение для жизнедеятельности обеих групп организмов и регулирования их биологических процессов.

Хотя взаимодействие между азотобактериями и некоторыми другими бактериями несколько выяснено, однако между дрожжами, тем более из группы *Torula*, и азотобактериями оно совершенно не изучено. Как известно, оба эти организма в почве живут в одной и той же питательной среде, и, следовательно, совершенно невозможно, чтобы они действовали независимо друг от друга.

Данная работа посвящена изучению биологических свойств взаимодействия, существующего между этими очень важными группами организмов при их совместном развитии.

Некоторые сведения о взаимодействии между развивающимися в почве микроорганизмами мы находим в работах Бейеринка и ван-Дельдена⁽¹⁾.

Омельянский⁽²⁾ показывает, что при совместной деятельности бактерий различных физиологических групп жизненные процессы этих бактерий протекают более интенсивно. Позднее Новогрудский⁽³⁾ доказал, что когда ряд гнилостных бактерий развивается совместно с азотобактериями, то они взаимно помогают друг другу. Бачинская и Пет-

росян⁽¹⁾ отмечают, что при совместном развитии микроорганизмов различных групп не только более интенсивными становятся те или другие физиологические процессы, но и резко изменяются характерные морфологические признаки клеток.

Во время изучения азотобактерий почвы мы заметили, что часто им сопутствуют дрожжи типа *Togula*, притом на определенных почвах. Интересно отметить, что при совместном существовании их количество несравненно возрастает и наоборот. Для выяснения этого взаимодействия мы провели ряд экспериментальных работ. Объектом для наших исследований явились *Azotobacter chroococcum*, выделенный из наших почв, и *Togulopsis armeniaca*, описанный П. Саруханян⁽²⁾.

Для их выращивания были взяты следующие питательные среды:

I		II	
1. Почвенный экстракт	100,0 см ³	1. Почвенный экстракт	100,0 см ³
2. K ₂ HPO ₄	0,05%	2. Суперфосфат	1,5%
3. Сахароза	1,5%	3. Сахароза	1,5%
4. Мел	следы	4. Мел	следы
III		IV	
1. Почвенный экстракт	100,0 см ³	1. Почвенный экстракт	100,0 см ³
2. K ₂ HPO ₄	0,05%	2. Суперфосфат	1,5%
3. Сахароза	1,5%	3. Сахароза	1,5%
4. (NH ₄) ₂ SO ₄	1,0%	4. (NH ₄) ₂ SO ₄	1,0%
5. Мел	следы	5. Мел	следы

Кроме того параллельно было приготовлено четыре других питательных среды, почти такого же состава, лишь с той разницей, что сахароза была заменена маннитом в количестве 1%.

Кроме упомянутых восьми питательных сред, было приготовлено восемь других по типу первых лишь с той разницей, что почвенный экстракт был заменен питьевой водой.

Упомянутые среды были разлиты по 50 см³ в колбы Эрленмейера, емкостью в 250 см³, которые после закупорки натою для стерилизации были выдержаны в автоклаве при 115° в течение 15 минут.

После стерилизации питательные среды при комнатной температуре были заражены азотобактериями и тогулами как в отдельности, так и совместно. Зараженные колбы были выдержаны в термостате при 28—30°.

Через три дня, в течение следующих четырех дней ежедневно в один и тот же час, при помощи счетной камеры Томаса-Цейса подсчитывалось количество азотобактерий и торул.

Результаты подсчета резюмированы в нижепомещенной таблице.

Количество Азотобактерий хроококци и Тотилопси армениаса в 1 см³ питательной среды на почвенном экстракте (в миллионах)

Характер питательной среды	Azotobacter chroococcum				Totulopsis armeniaca				Azot. chrooc и Totul. armeniaca			
	Дни после опыта											
	4	5	6	7	4	5	6	7	4	5	6	7
I	6,67	49,40	61,7	29,0	3,3	6,7	5,37	3,65	8,1	108,1	253,5	186,4
									10,7	115,2	302,2	93,7
II	7,65	31,8	26,7	24,0	12,3	25,3	49,4	29,4	11,8	86,72	180,5	78,8
									21,3	97,81	195,9	82,6
III	10,74	43,7	38,8	40,5	10,7	22,7	60,13	57,47	18,7	53,84	106,8	83,6
									31,8	162,35	221,18	164,2
IV	9,34	21,4	35,8	30,6	18,6	34,3	61,4	37,7	15,6	74,2	131,1	119,2
									22,1	101,3	215,2	152,5
V	8,37	18,67	29,4	16,1	2,47	2,125	2,41	2,75	13,4	93,2	201,2	122,4
									15,8	106,8	268,7	113,6
VI	5,26	16,7	30,2	25,1	11,65	25,80	42,6	21,8	18,7	82,6	170,0	102,0
									25,3	125,6	272,1	174,8
VII	10,31	29,8	46,7	37,2	8,3	33,4	70,7	54,7	16,2	95,4	186,2	95,4
									22,4	142,8	235,6	173,5
VIII	8,25	17,8	39,6	34,7	11,25	26,1	63,82	42,7	16,7	99,2	163,5	88,7
									21,3	174,8	216,3	149,6

Коэффициент размножения

I	5,85	43,3	54,1	25,4	3,11	6,32	5,06	3,44	7,10	94,6	222,3	163,5
									10,10	108,6	285,1	78,9
II	6,71	27,9	23,4	21,05	11,6	23,8	46,6	27,7	10,3	76,07	158,3	69,1
									20,1	91,8	184,8	77,9
III	9,42	38,3	34,03	35,5	10,1	21,4	56,7	54,2	16,4	47,2	93,6	73,3
									30,0	153,1	208,6	154,9
IV	8,19	18,7	31,4	26,8	17,5	22,9	57,9	35,5	13,7	65,09	115,0	104,5
									20,8	95,5	203,0	143,8
V	7,34	16,3	25,7	14,1	2,33	2,004	2,27	25,9	11,7	81,8	176,5	107,8
									14,9	100,7	253,4	107,1
VI	4,61	14,6	26,5	22,2	13,8	24,3	40,2	20,5	16,4	72,4	149,1	89,6
									23,8	118,5	256,6	164,9
VII	9,04	26,1	40,9	32,6	7,83	31,5	66,7	51,6	14,1	83,7	163,3	33,6
									21,1	134,7	222,2	163,6
VIII	7,28	15,6	34,7	30,4	10,6	24,6	60,2	40,3	14,6	87,01	143,4	77,8
									20,1	164,9	204,1	141,1

* Числителем указано количество азотобактерий, знаменателем — дрожжей.

Результаты совместного развития Azotobacter Chroococcum и Torulopsis armeniaca. Прежде всего было замечено, что при совместном развитии дрожжей и азотобактерий на поверхности питательной жидкости обрезаются довольно толстая и плотная пленка без пузырьков газа. В жидкости, наряду с помутнением, появляются зерновидные хлопья и на дне колбы образуется обильный осадок. Это является следствием, главным образом, громадного количества клеток, образующихся в результате неимоверно быстрого размножения *Azotobacter chroococcum* и *Torulopsis armeniaca* при их совместной жизнедеятельности. Из числовых данных, подытоженных в приведенной таблице, ясно видно, что как *Azotobacter chroococcum*, так и *Torulopsis armeniaca* прекрасно развиваются в приготовленных нами питательных средах. Коэффициент их размножения значительно повышается с первого по четвертый день, с пятого же дня интенсивность размножения постепенно падает. При этом коэффициент их размножения повышается несравненно сильнее при их совместной жизнедеятельности в той же питательной среде. Так, например, если в условиях развития в различных питательных средах коэффициент размножения *Azotobacter chroococcum* на третий день повышается в 23—54 раза, то при совместной жизнедеятельности с *Torulopsis armeniaca* повышение коэффициента размножения достигает до 115—256 раз. У *Torulopsis armeniaca* мы наблюдаем подобную же картину. Если на тех же средах коэффициент размножения одного *Torulopsis armeniaca* повышается в 37—60 раз, то при совместном развитии с *Azotob. chroococcum* повышение достигает до 200—280 раз. Это само по себе является доказательством того, как велика сила взаимодействия этих двух организмов.

Особенно сильна эта связь на питательных средах, совершенно новых для изучаемых организмов. Например, на питательных средах из почвенного экстракта они в отдельности развиваются сравнительно хорошо, а в условиях водных питательных сред—несравненно слабее. Но если в последних случаях они действуют совместно, то их жизнедеятельность выражается не так слабо. Наоборот, даже в условиях водных питательных сред, при совместном развитии, их коэффициент размножения несравненно повышается.

Замечаемое в таблице понижение коэффициента размножения упомянутых организмов объясняется, во-первых, накоплением ядовитых веществ в питательной среде вследствие их обмена и, во-вторых, уменьшением количества питательных веществ в жидкости. Оно выражается в обильном осадке, появившемся в растворе уже на четвертый день. Последний весьма легко можно отделить от жидкости даже простой фильтрацией. Указанное характерное свойство может иметь большое хозяйственное значение при использовании этих двух организмов.

Симбиотическая связь Azotobacter chroococcum и Torulopsis armeniaca. Как известно, взаимодействие микроорганизмов при их совместном развитии может выразиться в трех формах: симбиоза, если

эти организмы взаимно помогают друг другу, антагонизма, если тормозят друг друга, и метабиоза, если выделения одного из них служат пищей для другого.

Наблюдение за течением совместной жизнедеятельности азотобактерий и дрожжей и подробное ее изучение показали, что эта связь безусловно носит симбиотический характер.

Известно, что основным свойством азотобактерий является их способность связывать свободный азот в органический. Известно также, что этот процесс интенсивнее протекает при развитии азотобактерий с другими организмами. Объяснение этого явления отчасти находим в работах Stoclasa⁽¹⁾. По данным этого автора, вспомогательная роль *Bact. radiobacter* заключается в том, что последний будто бы производит денитрификацию, и, следовательно, в почве образуется свободный азот, который будучи *in statu nascendi* с легкостью используется со стороны азотобактерий. По нашему мнению Stoclasa нельзя применить для объяснения симбиотической связи особенно в отношении *Azotobacter chroococcum* и *Torulopsis armeniaca*. В этом случае *in statu nascendi* находится не азот, а образовавшийся в результате жизнедеятельности *Torulopsis armeniaca* водород. По Костычеву⁽²⁾ ассимиляция азота происходит путем редукции, т. е. при ассимиляции азота получаются не окислы азота, а аммиак; следовательно, выделяя водород при превращении сахарозы, дрожжи особенно благоприятствуют азотобактериям в образовании аммиака. Действительно, когда азотобактерии развиваются вместе с дрожжами, в питательной среде, в большом количестве образуются газы, главным образом водород, однако этот водород немедленно исчезает в растворе, после чего появляются аммиак и аммиачные соединения. Очень вероятно, что последние образуются в процессе жизнедеятельности азотобактерий путем соединения азота с водородом. Кроме того, в растворе образуется, также за счет распада сахарозы, маннит, который, как известно, легко усваивается азотобактериями.

Таким образом, вполне определенно можно сказать, что, выделяя в процессе жизнедеятельности водород и маннит, *Torulopsis armeniaca* способствует азотобактериям в превращении ими элементарного азота в органический. Когда для подтверждения этого положения мы удалили из питательной среды образовавшиеся водород и маннит, то заметили, что жизненные процессы азотобактерий приостановились и в данной среде белков не накопилось. Со своей стороны азотобактерии оказывают большую помощь *Torulopsis armeniaca* именно азотистыми веществами, синтезированными из элементарного азота, водорода и безазотистых органических соединений. *Torulopsis armeniaca* не развивается в среде, лишенной подобных азотистых веществ.

Как видим, между азотобактериями и дрожжами существует симбиоз, имеющий чрезвычайно большое значение для этих двух микроорганизмов, принадлежащих к различным физиологическим группам.

Общезвестно, что как азотобактерии, так и дрожжи имеют большую хозяйственную ценность, следовательно, совместное действие этих двух организмов, ведущее к повышению их производительности, может иметь исключительно большое значение.

Հ. Կ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ ԵՎ Վ. Գ. ՅՈՒԿԱՆՅԱՆ

Սիմբիոզ ամօրատուիկների եւ ազոտաբակտերիաների միջեւ

Շարատասուենկ *Torulopsis armeniaca*-ն և ազոտաբակտերիա *Azotobacter chroococcum*-ը, տարբեր կազմ ունեցող սննդատու միջավայրում համատեղ զարգանալիս, ինչպես ցույց են տալիս մեր փորձերը, միշտ էլ սիմբիոզի մեջ են գտնվում: Վերջինս արտահայտվում է նրանով, որ *T. armeniaca*-ն իր կենսական պրոցեսներում, անազոտ ածխածնային նյութերի ձեռփոխումից առաջացրած ջրածնով և մաննիտով նպաստում է *Azotobacter chroococcum*-ի ազատ ազոտն օրգանական ազոտի վերածման պրոցեսին, իսկ ազոտաբակտերիան էլ իր սինթեզած ազոտային նյութերով արագացնում է *Torulopsis armeniaca*-ի կենսազորձունենությունը: Նման համատեղ գործունեության արդյունքը լինում է այն, որ օրգանական ազոտով խիստ ազքատ միջավայրում մեծ քանակությամբ արժեքավոր սպիտակուցային նյութեր են կուտակվում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. А. А. Бачинская и А. П. Петросян. Микробиология, 6, в. 7, 368, 1937.
2. С. П. Костычев. Физиология растений, 1933. 3. Д. М. Новогрудский. Микробиология, 2, 237, 1933. 4. В. Л. Омелянский. Архив биол. наук, 9, в. 2, 198, 1918.
5. П. Г. Саруханян. Изв. АН Арм. ССР (сер. ест. наук), № 3, 1944. 6. Beijerinck und Van-Delden. Centrbl. f. Baktr., II Abt., Bd. 9, p. 3, 1912. 7. Stoclasa. Centrbl. f. Baktr., II Abt., Bd. 21, p. 500, 1906.