ЛИТЕРАТУРА

1. *Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Джакуджян Н. Дж.* Биолог. ж. Армении, *34*, 1, 1981.
2. *Давтян М. А., Бунятян Г. Х., Геворкян Д. Н., Петросян Л. А.* Вопросы биохимии мозга, 6, 1970, Ереван.
3. *Давтян М. А., Геворкян М. Л.*, Биолог. ж. Армении, *33*, 9, 1980.
4. *Северин Е. С., Курочкин С. Н., Кочеткова С. Н.* Успехи биол. химии, *15*, 1974.
5. *Ber E., Muszynska G., Chechova D.* Bull. Acad. Polon. sci. ser. sci biol., *26*, 10, 1978.
6. *Hirsch—Kolb H., Greenberd D. M.* J. Biol. Chem., *243*, 6123, 1968.
7. *Means G. E., Feeney R. E.* In: Chemical modification of proteins, Holden—Day, Inc., 1971.
8. *Mora J., Tarrab R., Martuselli J., Soberon G.* Biochem. J., *96*, 588, 1965.
9. *Muszynska G., Severina L., Lobereva L.* Acta Biochem. polon., *192*, 109, 1972.
10. *Mahirad A., Heggi J., Toth J.* Acta Biochim. Biophys., *2*, 19, 1967.
11. *Ornstein L., Davis B.* J. Deliv at the soc. for the Study of Blood at the New-Jork Acad. Med., 1959.
12. *Porembska Z.* Tissues. Enzymes, *15*, 198, 1973.
13. *Spande T. F., Witkop B. W.* In: Methods in enzomology, ed thrs C. H. W., N.-J., London: Acad. Press. 7, 498, 1967.
14. *Weil L.* Arch. Biochem. Biophys., *110*, 57, 1965.
15. *Wright L. C., Body C. J., Hide R. W.* phytochemistry *20*, 2641, 1981.

Поступило 3.X 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 6, стр. 507—511, 1986 УДК 576.851.151

ВЛИЯНИЕ АГАРА НА АЗОТФИКСИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ АЗОТОБАКТЕРА

В. Г. НИКОГОСЯН

Институт микробиологии АН Армянской ССР, г. Абовян

Аннотация — Показано, что наличие агара в питательной среде способствует заметному повышению азотфиксирующей активности азотобактера, максимум которой проявляется при концентрации агара 0,5—1,0%. Азотобактер, выращенный на агаризованных средах, обладает в два раза большей азотфиксирующей активностью, чем на жидкой среде. Существенные изменения происходят также в динамике нитрогеназной активности в зависимости от характера питательной среды.

Անոտացիա — Յույց է տրված, որ սննդամիջավայրում ագարի ներկայությունը նպաստում է ազոտաթթուների ազոտի ֆիքսման ակտիվության նկատելի բարձրացմանը, որի մաքսիմումն ի հայտ է գալիս ագարի 0,5—1,0% խտության դեպքում. Ագարային միջավայրում ուսնկված ազոտաբակտերի ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը հեղուկ միջավայրի համեմատ երկու անգամ ավել է։ Էական փոփոխություններ են տեղի ունենում նաև նիտրոգենազային ակտիվության դինամիկայում՝ կախված սննդամիջավայրի բնույթից։

Abstract — It has been shown that the presence of agar in nutritious medium notably promotes the increase of nitrogenfixation activity of azotobacter, the maximum of which is revealed in case of 0.5—1.0 per cent agar concentration.

Agar, grown on agarized media, has a twice higher nitrogen-fixing activity than that on liquid medium. Significant changes take place also in the dynamics of nitrogenase activity in dependence on the nutritious medium.

Ключевые слова: азотобактер, агар, нитрогеназная активность.

Установлено, что коллоиды, в том числе и агар (0,1—0,5%), способствуют связыванию азота [1, 6, 7]. Предполагается, что N_2 и O_2 адсорбируются на поверхности агара, тем самым способствуя развитию азотобактера. Ряд авторов отрицают положительное влияние агара на процесс азотфиксации азотобактера [6, 7].

В литературе нет сведений о влиянии широко используемой в исследовательской практике концентрации агара (1,5—2,0%) на азотфиксирующую активность азотобактера.

Мы задались целью изучить влияние агара на нитрогеназную активность азотобактера, что представляет теоретический интерес и имеет важное значение при оценке азотфиксирующей способности различных штаммов азотобактера.

Материал и методика. Эксперименты проводились на штаммах *Az. chroococcum* — 6111, 6154, 6164, 6166, 6167, *Az. agile* 6391, *Az. vinelandii* 6117, *Az. nigricans* 6307 (из коллекции культур ИНМИА АН АрмССР), а также на ранее полученных нами из *Az. chroococcum*, шт. 6111 стрептомицин—(С-4, С-6) и тетрациклинустойчивых (Т-25) мутантах азотобактера [3, 4].

Культуры выращивали в течение 7 дней в 35 мл питательных сред Виноградского, Федорова и Эшби в колбах емкостью 250 мл и в 3 мл в пенициллиновых флаконах емкостью 15 мл. Влияние различных концентраций агара (0,1; 0,5; 1; 2, 3, 5, 7, 10%) изучали в среде Виноградского.

Азотфиксирующую активность определяли ацетиленовым методом [8] и по общему азоту (Кьельдаль) в динамике развития культур, количество восстановленного ацетилена—методом газовой хроматографии [4], используя для расчетов активности фиксации азота коэффициент 3 [2].

Результаты и обсуждение. На обычных агаризованных средах (1,5—2%) азотфиксирующая активность *Az. chroococcum*, *Az. agile*, *Az. vinelandii* и *Az. nigricans* примерно в два раза выше, чем в жидкой среде. При этом на агаризованной среде максимум активности наблюдается в 1—2-й, а в жидкой среде на 4—5-й день (табл. 1).

В зависимости от концентрации агара в питательной среде существенные изменения происходят также в динамике азотфиксации в процессе роста культуры. При высоких концентрациях его максимум нитрогеназной активности наблюдается в первые сутки, при низких—на 4—5-й день (рис.).

Исследования показали, что наиболее высокая нитрогеназная активность проявляется при 0,5—1,0%-ной концентрации агара в среде (табл. 2).

Сравнительно высокая азотфиксирующая активность штамма, выращенного на агаризованных средах, не обусловлена более интенсивным усвоением источника углерода, ибо в жидких средах также наблюдается их 90—100%-ное усвоение. Кроме того, не всегда имеется корреляция между интенсивностью азотфиксации и усвоением источника углерода.

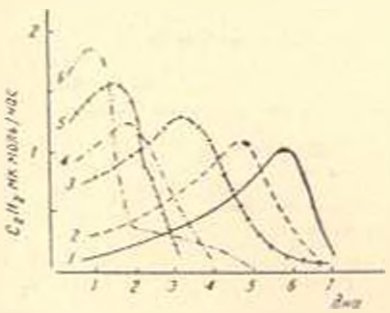
Таблица 1. Нитрогеназная активность азотобактера на различных агаризованных и жидких средах (мкМ C_2H_2/9 дней во флаконах пенициллина)

Виды и штаммы азотобактера		Питательная среда	Питательные среды		
			Эшби	Виноградского	Федорова
Az. chroococcum	6111	агаризованная*	79.2	114.0	151.0
		жидкая	35.0	85.0	98.1
Az. chroococcum	Т—25	агаризованная	62.1	127.5	115.1
		жидкая	27.4	78.0	80.0
Az. agile	6391	агаризованная	60.0	118.0	113.0
		жидкая	22.1	65.3	71.0
Az. vinelandii	6117	агаризованная	63.4	123.4	95.0
		жидкая	28.6	67.1	61.0
Az. nigricans	6307	агаризованная	50.0	105.4	85.1
		жидкая	17.0	49.0	35.0

* содержание агара 1.5—2.0%

Возможны случаи, когда при повышении азотфиксирующей активности на 20—30%, интенсивность усвоения углеводов среды частично падает [7].

Благоприятное действие агара на нитрогеназную активность азотобактера, вероятно, связано с изменением физических свойств среды, вызванным различными количествами агара. Повышение его



Динамика активности нитрогеназы Az. chroococcum 6111 в зависимости от концентрации агара в среде 1—без агара; с агаром—2—0.1%; 3—0.5%; 4—1%; 5—3%, 6—10%.

Таблица 2. Азотфиксирующая активность азотобактера с различным содержанием агара (среда Виноградского, мкМ C_2H_2/7 дней)

Штаммы		Агар, %								
		0	0.1	0.5	1	2	3	5	7	10
Az. chroococcum	6111	69.6	82.6	110.0	79.2	88.8	76.8	72.0	74.4	72.0
Az. chroococcum	С—6	62.4	79.2	86.4	110.0	91.2	96.0	84.0	72.0	67.2
Az. chroococcum	С—4	76.8	88.8	100.0	88.8	86.4	76.8	74.4	74.4	76.8

концентрации в среде способствует усилению контакта клеток с атмосферой, что приводит к интенсификации развития и азотфиксации азотобактера (рис.). Однако абсолютное количество азота, связанного в

процессе роста культуры, не коррелирует с повышением концентрации агара в среде. Оптимальным является, как указано выше, 0,5—1%-ное содержание агара (табл. 2).

Существенное влияние на жизнедеятельность азотобактера в агаризованных средах оказывает характер посева. В случае применения глубинного способа посева азотобактер связывает заметно большее количество азота, чем при поверхностном посеве. Изменяется также динамика нитрогеназной активности азотобактера: при глубинном посеве максимум ее обнаруживается на 2—3-и сутки, что связано с отсутствием роста культуры в первые сутки на поверхности питательной среды, в случае поверхностного посева в этот период уже происходит бурный рост культуры.

Аналогичные данные о влиянии агара на связывание азота азотобактером получены также при определении азотфиксирующей способности культур по общему азоту (табл. 3). Однако абсолютное количество фиксированного азота на агаризованной среде при определении его по Кьельдалю несколько ниже, чем при определении ацетиленовым методом, что связано, вероятно, с неполным связыванием фиксированного азота со средой.

Таблица 3. Интенсивность азотфиксации различных штаммов *Az. chroococcum* (среда Виноградского в колбах)

Штаммы		Питательная среда	Количество связанного азота в 35 мл среды, мг	
			методом Кьельдаля	ацетиленовым методом
Az. chroococcum	6111	агаризованная	11.0	17.3
		жидкая	7.1	7.0
Az. chroococcum	С—6	агаризованная	11.0	12.7
		жидкая	9.0	6.0
Az. chroococcum	С—4	агаризованная	10.7	13.4
		жидкая	8.3	5.5
Az. chroococcum	6166	агаризованная	7.6	9.7
		жидкая	7.8	5.6
Az. chroococcum	6167	агаризованная	8.1	13.7
		жидкая	5.8	5.3
Az. chroococcum	6154	агаризованная	8.5	14.0
		жидкая	1.8	3.0
Az. chroococcum	6164	агаризованная	8.5	11.3
		жидкая	7.4	5.2

Обнаруженная разница, возможно, обусловлена коэффициентом пересчета (в наших опытах 3), который в зависимости от культур и условий культивирования может изменяться [5, 9].

Таким образом, наличие агара в питательной среде оказывает существенное влияние на азотфиксирующую активность азотобактера. Наиболее оптимальной концентрацией является 0,5—1,0%.

По сравнению с жидкой средой обычно применяемая в исследовательской практике среда с содержанием агара 1,5—2,0% также значительно усиливает азотфиксирующую активность азотобактера. Зависимость последней от концентрации агара более наглядна при определе-

ния ее ацетиленовым методом. Полученные результаты важно учитывать при оценке азотфиксирующей способности азотобактера.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Блинков Г. И.* Азотобактер и его значение для высших растений. Томск, 1959.
2. Методические рекомендации по получению новых штаммов клубеньковых бактерий и оценка эффективности. Л., 1979.
3. *Никогосян В. Г.* Биолог. ж. Армении, *32*, 9, 1979.
4. *Никогосян В. Г.* Биолог. ж. Армении, *34*, 3, 1981.
5. *Панкратова Е. М.* Изв. АН СССР, сер. биол., 2, 1979.
6. *Рубенчик Л. И.* Азотобактер и его применение в сельском хозяйстве. Киев, 1960.
7. *Федоров М. В.* Биологическая фиксация азота атмосферы. М., 1952.
8. *Hardy R. W., Holsten R. D., Jackson E. K., Burns R. C.* Plant Physiol., *43*, 8, 1963.
9. *Hardy R. W., Burns R. S., Holsten R. D.* Soil Biol. and Biochem., 5, 1973.

Поступило 12.VI 1984 г.