

логической продуктивности растительности удовлетворяет получение средней величины с точностью 10—15 %.

Максимальную фитомассу в обследованных нами реках образуют формации водно-болотной растительности (60—65 % всей фитомассы), среди которых наиболее продуктивны заросли манника большого (от 120,92 до 361,37 г/м² абсолютно сухого веса), тростника обыкновенного (232,5 г/м²), тростянки овсяничной (от 168,25 до 223,04 г/м²).

Для формаций погруженной растительности всех рек свойственны невысокие показатели фитомассы в пересчете на абсолютно сухой вес (у представителей семейства рдестовых 19,57—20,68, тогда как у представителей семейства злаков 38,75—39,19 % сух. в-ва). Это, вероятно, связано с особенностями жизни под водой, биологией этой группы растений и, следовательно, с их химическим составом. Так, формации рдестовидного создают фитомассу от 43,79 до 152,32, рдеста длиннейшего — 49,54 г/м². Незначительную фитомассу образуют и остальные представители погруженных растений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что продуктивность макрофитов левобережных притоков реки Припять невысока. Об этом можно судить и косвенным путем, поскольку этот показатель тесно связан с густотой зарослей.

Незначительный процент зарастания рек, низкая фитомасса макрофитов и высокое содержание биогенных элементов в растениях, как установлено авторами в специальных опытах, свидетельствуют о малой роли макрофитов в самоочищении указанных рек. В водах всех обследованных нами рек биогенные элементы присутствуют в концентрациях, значительно превышающих количества, которые могут быть поглощены скудной растительностью этих водоемов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шенников А. П. Экология растений.— М., 1950.
2. Катанская В. М. Высшая водная растительность континентальных водоемов. Методы изучения.— Л., 1981.
3. Распопов И. М.— В кн.: Микробиология и первичная продукция Онежского озера.— Л., 1973, с. 123.
4. Флора СССР.— Л., М.-Л., 1934—1964, т. 1—30.
5. Черепанов С. К. Сосудистые растения СССР.— Л., 1981.
6. Кокин К. А. Экология высших водных растений.— М., 1982.
7. Василевич В. И. Статистические методы в геоботанике.— Л., 1969.

УДК 576.851.155

О. И. КОЛЕШКО

МЕХАНИЗМ НЕГАТИВНОГО ВЛИЯНИЯ АММОНИЙНОГО АЗОТА НА БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНЫЙ СИМБИОЗ

В последнее десятилетие много внимания уделяется изучению механизма отрицательного действия повышенных концентраций аммонийного азота на продуктивность симбиотической азотфиксации. Установлено непосредственное влияние ионов аммония на регуляцию экспрессии *pit*-генов; синтез и активность ключевого фермента азотфиксации—нитрогеназы; клеточный метаболизм бактерий, связанный с образованием АТФ и НАД · Н₂, которые обеспечивают реакции связывания молекулярного азота энергией [1—3]. Однако, несмотря на достигнутые успехи, до настоящего времени крайне мало известно о причинах отсутствия симбиоза клубеньковых бактерий с бобовыми растениями в условиях повышенного содержания аммонийного азота. Сведения, имеющиеся в литературе по данному вопросу, противоречивы и не содержат убедительных экспериментальных подтверждений [4, 5]. В то же время быстрый рост химизации сельского хозяйства и широкое применение клубеньковых бактерий в качестве бактериального удобрения настоятельно требуют выяснения механизма негативного влияния минерального азота на формирование бобово-ризобиального симбиоза.

Учитывая ведущую роль бактерий в инфицировании растений, мы изучали влияние повышенных концентраций аммонийного азота на структурно-морфологические и симбиотические свойства клубеньковых бактерий.

Материал и методика

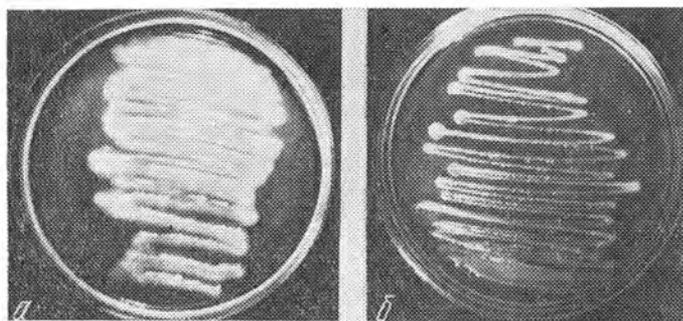
Объектом исследования служили активные производственные штаммы *Rhizobium leguminosarum* 209a, 245a, 250a, полученные из ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Бактерии выращивали на маннитно-дрожжевой среде. Источником аммонийного азота служил сернокислый аммоний. Стерильный раствор аммония вносили в расплавленную агаризованную среду в количестве 1—60 мМ, разливали в чашки Петри и засеивали клубеньковыми бактериями. В выросших культурах исследовали характер роста, наличие капсулы и консистенцию капсульной слизи, морфологию и размеры клеток.

Симбиотические свойства бактерий изучали в вегетационном опыте в условиях водной культуры с растениями гороха. Растения выращивали в питательной смеси Кнопа, содержащей 0,1 нормы азота. Сернокислый аммоний (1—30 мМ) вносили в сосуды с семидневными проростками гороха одновременно с инокуляцией их клубеньковыми бактериями. Показателем установления симбиоза бактерий и растений служило образование клубеньков, их размеры, количество и качество.

Результаты и их обсуждение

Изучение культурально-морфологических свойств клубеньковых бактерий, развивающихся на среде с различными уровнями аммонийного азота, позволило выявить существенные различия в характере роста колоний и структуре клеток. Морфологические изменения клеток и колоний отмечены при содержании 5—10 мМ аммонийного азота. Колонии гладкие, блестящие, но не растекающиеся по поверхности агара, как это имело место в контроле, т. е. на среде без аммония: капсульная слизь вязкой тянущейся консистенции. Колонии состояли из плейоморфных клеток. Наряду с типичными палочковидными клетками встречались разветвленные и неравномерно утолщенные формы со слабо выраженной капсулой. С увеличением концентрации аммония до 30—40 мМ рост задерживался. Колонии появлялись на сутки позже, чем в контроле. Как отдельные колонии, так и рост по штриху отличались компактностью и сухостью (рис. 1 а, б.) В колониях преобладали раздутые, уродливо ветвящиеся и искривленные клетки. Палочковидные клетки имели нетипичные размеры — 4,3 мкм вместо 2,6 мкм. При содержании в среде 50 мМ аммония рост очень слабый, колонии состояли из сферических протопластоподобных структур и структур неопределенной конфигурации. При 60 мМ рост клубеньковых бактерий отсутствовал.

Анализируя характер роста клубеньковых бактерий на агаризованной среде и морфологию клеток, можно сделать вывод, что аммонийный азот в повышенных концентрациях нарушает процессы биосинтеза кап-



Характер роста клубеньковых бактерий на маннитно-дрожжевой среде без аммонийного азота (а), с 10 мМ сернокислого аммония (б)

сильных полисахаридов и их экскрецию в виде внеклеточной слизи. Результатом этого является отсутствие характерного для клубеньковых бактерий слизистого роста на аммонийсодержащей среде, а также значительно меньшие (в 1,5—2 раза) размеры капсулы клеток. Причем подавление биосинтеза полисахаридов происходит при более низких концентрациях аммонийного азота, чем подавление роста.

Структурно-морфологические изменения клеток клубеньковых бактерий и в первую очередь изменения структуры капсулы и слизистых слоев, вызванные содержанием в среде высокого уровня аммонийного азота, являются одной из основных причин неспособности бактерий к симбиозу с бобовыми растениями. Проведенные нами исследования показали, что при содержании в смеси Кнопа 5 мМ сернокислого аммония образование клубеньков затягивается на 4—5 дней; при 10 мМ клубеньки либо совсем не образуются, либо образуются поздно, спустя 14 дней после инокуляции. По-видимому, образование их происходит после потребления растениями аммонийного азота. В этом случае клубеньки развиваются в нижней части корневой системы, они мелкие и число их незначительное. В наших опытах при 10 мМ образовалось 4 клубенька на растение. Диаметр их не превышал 1 мм. Содержащиеся в них бактерии были только палочковидной формы, бактеронды полностью отсутствовали, что свидетельствует об отсутствии азотфиксации в данных клубеньках. В контроле, т. е. в отсутствие аммония клубеньки появились через 7—8 дней после инокуляции. Через 20 дней число клубеньков на растение составляло 94 ± 11 . Клубеньки розового цвета, размерами 2,5—3 мм в диаметре располагались по всей корневой системе по 3—6 штук вместе. Бактерии в клубеньках на 90 % были представлены бактерондами вильчатой формы.

Сравнивая результаты опытов по влиянию повышенных концентраций аммонийного азота на структурно-морфологические особенности клеток клубеньковых бактерий и их симбиотическую активность, видим наличие тесной взаимосвязи между этими свойствами. К формированию эффективного симбиоза способны только бактерии с вполне сформированной капсулой и слизистыми слоями, которые являются не только фактором вирулентности и защиты бактерий от действия клеточного сока растений, но и своеобразным фактором адсорбции на корнях растений. Известно, что «узнавание» и начальное взаимодействие клубеньковых бактерий с клетками корня растения-хозяина осуществляется посредством взаимодействия лектинов растения и гликозильных рецепторов капсулы бактерий [6]. По данным работы [7], у вирулентных штаммов бактерий рода *Rhizobium* в капсульной слизи содержится гетерополисахарид, который способен к перекрестно-антигенной реакции с антигеном поверхности корня растения-хозяина. Лектины растений «узнают» эти поверхностные антигены, связывают их по типу антиген — антитело, обеспечивая таким путем специфическое прикрепление бактерий к поверхности корневого волоска. Затем следует инвагинация стенки волоска, развитие инфекционной нити и образование клубенька. Так как в условиях повышенного содержания аммонийного азота у бактерий снижается способность к продукции капсульных полисахаридов, то это, в свою очередь, приводит к снижению или полной утрате их антигенной специфичности и способности адсорбироваться на корнях соответствующих бобовых растений. Кроме того, имеются сведения, что при наличии в среде повышенных концентраций минерального азота растения продуцируют значительно меньше (в 30 раз) лектинов. Это также снижает возможность взаимодействия бактерий и растений и развитие симбиоза.

Таким образом, механизм отрицательного действия аммонийного азота на симбиотические свойства клубеньковых бактерий состоит в нарушении процессов биосинтеза капсульных полисахаридов и формирования полноценных поверхностных структур бактериальной клетки. Это лишает бактерии способности вступать в симбиоз с бобовыми растениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ludwig Robert A.—J. Bacteriol., 1978, v. 135, p. 114.
2. Kleiner D.—Arch. Microbiol., 1979, v. 120, p. 263.
3. Salminen S. O.—Biochim. et biophys. acta, 1981, v. 658, p. 1.
4. Шильникова В. К., Сидоренко О. Д., Эргашева Н. А.—Биол. науки. 1971, № 9, с. 78.
5. Гордеев Н. Я., Яковлева З. М.—Изв. АН СССР. Сер. биол., 1979, № 3, с. 466.
6. Dazzo Frank B., Hrabak Estelle M., Urbano Maria R.—Proc. 4 Int. Symp. Nitrogen Fixat., Canberra, 1980; Amsterdam e. a., 1981, p. 292.
7. Dazzo Frank B., Hubbell David.—Appl. Microbiol., 1975, v. 30, p. 1017.

УДК 579.6 : 577.1

Т. Е. ЛОБАНОК, Л. Ф. ИГНАТОВИЧ

РОСТ БАКТЕРИЙ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ НА ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЕ

Характерной особенностью микроорганизмов является разнообразие типов питания, что позволяет использовать для их культивирования различные питательные среды. При выборе сырья, используемого для выращивания микроорганизмов, исходят из принципов его дешевизны, безвредности и воспользованности. С этой точки зрения особый интерес представляет использование отходов различных производств и, в частности, отходов пищевой промышленности.

Некоторые отходы переработки пищевых продуктов (картофельная мезга, соковые воды картофеля, молочная сыворотка, меласса и др.) используются для выращивания микроорганизмов и получения микробного белка, другие скармливаются скоту в нативном виде или выбрасываются. К числу последних относится отход спиртового производства — барда.

Барда представляет собой сложную гетерогенную систему, состоящую из жидкой и твердой фаз, в состав которых входит целый комплекс соединений. Поскольку для изготовления спирта используются различные виды пищевого сырья, состав послеспиртовой барды неодинаков. Барда в среднем состоит из 90—96 % воды и 4—10 % сухих веществ, включающих клетчатку, гемицеллюлозу, крахмал, спирторастворимые сахара, декстрины, пентозы, пентозаны, жир, а также небольшие количества аминокислот и минеральных солей [1]. Ввиду того, что барда содержит все необходимые для роста микроорганизмов вещества, целью настоящей работы явилось изучение ее пригодности для использования в качестве питательной среды для культивирования бактерий, принадлежащих к различным таксономическим группам.

Материал и методика

Для выращивания бактерий в качестве жидкой питательной среды использовали пшеничную барду, которую разводили в четыре раза дистиллированной водой, после чего рН доводили до 7,2. Предварительно барду центрифугировали для освобождения от твердой фазы. Плотную питательную среду готовили путем добавления к отцентрифугированной и разведенной водой барде агар-агара (15 г на 1 л барды). Среды стерилизовали дробно путем двукратного автоклавирования при 0,5 атм по 20 мин.

Для контрольных посевов использовали жидкую полноценную питательную среду (АМП-бульон), приготовленную на основе аминокислотного пептона; до 1,8 л дистиллированной воды, рН 7,2; и агаризованную среду, так называемый рыбный агар (РА), приготовляемый из гидролизата кильки по стандартной прописи.

Для обогащения барды использовали две прописи солей, первая из которых (среда Канада) [2] включала: (г/л) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2,0; NaCl 0,5;