

М. В. ФЕДОРОВ

**ВЛИЯНИЕ НА ФИКСАЦИЮ АЗОТА АТМОСФЕРЫ
АЗОТОБАКТЕРОМ ВЕЩЕСТВ, УГНЕТАЮЩИХ ПРОЦЕССЫ
ГЛИКОЛИЗА**

(Представлено академиком А. А. Рихтером 3 VIII 1946)

Окислительные процессы при дыхании могут происходить различными путями. В одних случаях имеет место предварительное расщепление углеводов по типу спиртового брожения с последующим окислением образовавшихся продуктов, в других — прямое окисление шестичленной цепи гексоз без предварительного разрыва на трехуглеродные остатки. В зависимости от типа организма и окислительных условий среды может иметь место то один, то другой из указанных типов процесса. Поскольку фиксация азота атмосферы азотобактером находится в большой зависимости от характера параллельно совершающихся окислительных процессов⁽³⁾, представлялось интересным установить, какова будет ее продуктивность в тех случаях, когда гликолитическое расщепление сахара будет искусственно ограничено или совсем исключено. Такие опыты возможны при использовании веществ, отравляющих процессы гликолиза. В их присутствии анаэробные процессы расщепления сильно подавляются, а окислительные процессы кислородного дыхания остаются в силе. Как было показано Люндсгаардом⁽⁵⁾, моноиодуксусная кислота, например, не только не устраняет окислительных процессов с участием свободного кислорода, но даже, напротив, может их вызвать там, где они до этого не имели места. Исходя из этих данных и было предпринято исследование продуктивности фиксации азота в присутствии гликолитических ядов.

Первый опыт был поставлен с моноиодуксусной кислотой. Добавление ее производилось до концентрации 0,0001; 0,0005; 0,001 и 0,002 моля. Опыт ставился в колбах Эрленмейера, объемом на 300 мл. В каждую колбу наливалось 100 мл питательной среды для азотобактера (наша модификация) с 1,8 г инвертного сахара. После стерилизации среда инфицировалась 1 мл суспензии *Azotobacter agile* и ставилась в термостат с температурой 30°С на 18 дней. По окончании опыта в среде производились определения неиспользованного сахара (по Бертрану), общего азота (по Кьельдалю) и количества выросших клеток азотобактера (по методу прямого счета под микроскопом).

Результаты анализов приведены в табл. 1.

Как можно видеть из этих цифр, моноиодуксусная кислота не только подавляет анаэробные процессы, но, начиная с концентрации в 0,001 моля, на 30% тормозит и интенсивность кислородного дыхания. В этом отношении ее влияние на азотобактер совершенно аналогично с влиянием на *Aspergillus niger*, установленным Бариновой и Буткевичем⁽¹⁾. Однако, несмотря на значительное понижение интенсивности

дыхания, это вещество на процесс фиксации азота не оказало угнетающего влияния. Скорее, напротив: при значительных концентрациях моноодуксусной кислоты в растворе (0,001 моля) фиксация азота

Таблица 1
Влияние моноодуксусной кислоты на фиксацию азота атмосферы *Azotobacter agilis*

Концентрация моноодуксусной кислоты в среде в молях	Использовано сахара в г	Интенсивность использования сахара в % от контроля	Фиксировано азота атмосферы в мг			Интенсивности фиксации азота в % от контроля	Число выросших клеток азотобактера
			на 1 г сахара в отдельной культуре	на 1 г сахара в среднем	на 1 г-моль гекоз		
0,00 (контроль)	1,71	100,0	7,35	7,62	1 402,4	100,0	$3,4 \cdot 10^{10}$
	1,71		8,01				
0,0001	1,62	97,4	8,91	8,62	1 551,6	100,6	$5,4 \cdot 10^{10}$
	1,71		8,33				
0,0005	1,49	88,3	10,07	9,75	1 755,0	125,0	$3,86 \cdot 10^{10}$
	1,53		9,43				
0,001	1,12	69,6	9,00	8,55	1 539,0	109,8	$1,3 \cdot 10^{10}$
	1,26		8,10				

даже повысилась на 25%. Подобный результат позволяет сделать целый ряд существенных выводов.

Во-первых, становится вполне приемлемым предположение, что фиксация азота атмосферы не связана с обязательным расщеплением сахара по типу спиртового брожения. Она может осуществляться и при непосредственном окислении гекоз молекулярным кислородом, при котором возможно образование соединений с ненасыщенной связью.

Во-вторых, каталитическая поверхность, участвующая в фиксации азота, не инактивируется использованными дозами моноодуксусной кислоты (0,001 моля), несмотря на то, что каталитическая поверхность, участвующая в окислительных процессах при дыхании, при этих же дозах инактивируется на 30%.

В-третьих, между интенсивностью дыхания и интенсивностью фиксации азота, по видимому, прямой зависимости нет. Эти два процесса связаны в своем течении с различными каталитическими механизмами. При этом каталитический аппарат, участвующий в фиксации азота, в присутствии моноодуксусной кислоты работает более продуктивно, чем без наличия этого вещества в среде.

Поэтому становится вероятным предположение, что в ее присутствии окислительные процессы в клетке совершаются с образованием ненасыщенных соединений, радикалы которых, возможно, и акцептируют первичные продукты связывания азота атмосферы. Не входя в детальное рассмотрение цифрового материала в опытах с трибромуксусной кислотой, попутно отмечаем, что ее влияние в пределах доз 0,0001—0,002 моля совершенно аналогично с влиянием моноодуксусной кислоты. Интенсивность дыхания при дозе 0,002 моля этого вещества в растворе падает примерно на 20%, а интенсивность фиксации азота даже немного возрастает (на 17%). Столь близкий результат с двумя галоидзамещенными уксусной кислоты позволяет считать, что прямое окисление сахара молекулярным кислородом не отзывается на продуктивности фиксации азота. Поэтому следует думать, что процесс фиксации азота в первую очередь связан с ненасыщенными связями радикала, например, с карбонильными группами, а не с водородом, образующимся при

дегидрировании органического вещества. Если ранее, на основе энергетической зависимости фиксации азота от окисляемого органического вещества, мы склонны были полагать, что фиксация азота не связана с образованием аммиака в качестве первичного продукта, то теперь, после опытов с галогензамещенными уксусной кислоты, такое предположение становится еще более вероятным.

Кроме галогенных производных уксусной кислоты, было испытано влияние на фиксацию азота и фтористого натрия. Опыты с этим веществом ставились в колбах Эрленмейера на 300 мл. В каждую колбу наливалось 100 мл питательной среды для азотобактера с 1,8 г инвертного сахара. После стерилизации среда заражалась 1 мл суспензии *Azotobacter agile* и ставилась в термостат с температурой 30°С на 18 дней. По окончании опыта в среде были произведены соответствующие анализы, результаты которых приведены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние фтористого натрия на фиксацию азота атмосферы *Azotobacter agile*

Концентрация фтористого натрия в среде в молях	Использовано сахара в г	Интенсивность дыхания в % от контроля	Фиксировано азота атмосферы в мг			Продуктивность фиксации азота в % от контроля	Число выросших клеток азотобактера
			на 1 г сахара в отдельной культуре	на 1 г сахара в среднем	на 1 г-моль глюкоз		
0,00 (контроль)	1,61	100,0	8,66	8,32	1 497,6	100,0	4,5 · 10 ¹⁰
	1,50		7,98				
0,0001	1,71	108,9	9,35	9,21	1 657,8	112,7	6,16 · 10 ¹⁰
	1,71		9,06				
0,001	1,71	108,9	8,44	8,43	1 517,4	101,4	4,58 · 10 ¹⁰
	1,71		8,41				
0,01	1,58	101,9	9,90	9,89	1 780,2	118,9	4,38 · 10 ¹⁰
	1,62		9,87				

Приведенные цифры (табл. 2) показывают, что фтористый натрий, вплоть до концентрации в 0,01 моля, на процесс окисления сахара не оказывает угнетающего влияния. Даже, напротив, при концентрации в 0,0001 и 0,001 моля он повышает энергию окисления на 9% от контроля. Только более высокие дозы начинают подавлять процесс дыхания. Таково же влияние этого вещества и на фиксацию азота. При дозах в 0,0001 и 0,001 моля фиксация азота повышается на 12,7% от контроля, а при более высоких дозах начинается постепенное угнетение процесса. Такое действие фтористого натрия объясняется тем, что подавление гликолиза не влияет на скорость окислительных процессов потому, что в культурах азотобактера окисление сахара может происходить и без предварительного разрыва цепи углеродных атомов. При таком типе окисления, связанном, в первую очередь, с дегидрированием органического вещества, создаются условия, при которых связывание азота атмосферы осуществляется даже более интенсивно. Повидимому, дегидрирование влечет за собой появление ненасыщенных связей и карбонильных групп, которые и усиливают фиксацию за счет акцептирования первичных продуктов фиксации, образующихся при взаимодействии азота с катализатором фиксации азота. Если бы дело сводилось только к появлению активного водорода и дальнейшему восстановлению им азота до аммиака, то отвлечение больших доз водорода к орто-динитробензолу

должно было бы понизить фиксацию азота, а этого не наблюдается, что нами было установлено путем специальных опытов. Вероятнее всего, основа фиксации азота связана с образованием карбонильных групп в радикале, по месту которых и идет присоединение первичных продуктов фиксации с последующим переводом их в восстановленные азотистые соединения типа аминокислот и белковых веществ.

Сельскохозяйственная академия
им. К. А. Тимирязева,
Москва

Поступило
3 VIII 1946

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹С. Барнинова и В. Буткевич, *Микробиология*, 5, 768 (1936). ²В. Буткевич, *Микробиология*, 8, № 3—4 (1939). ³М. Федоров, *Микробиология*, 14, № 2 (1945); 14, № 3 (1945); *ДАН*, 48, № 8 (1945); 49, № 8 (1945); 49, № 9 (1945). ⁴М. Федоров, *Микробиология*, 15, № 1 (1946). ⁵E. Lundsgaard, *Bioch. Z.*, 220, 1 (1930); 250, 61 (1932).