

М. В. ФЕДОРОВ

ИНТЕНСИВНОСТЬ ФИКСАЦИИ АЗОТА АТМОСФЕРЫ АЗОТОБАКТЕРОМ НА РАЗНЫХ ИСТОЧНИКАХ УГЛЕРОДА

(Представлено академиком А. А. Рихтером 26 XI 1944)

Многочисленные исследования различных авторов бесспорно показали, что азотобактер может фиксировать азот атмосферы в весьма значительных количествах. Однако до сих пор, несмотря на наличие большого числа гипотез (1-8), не удалось точно установить, каким образом осуществляется этот процесс в культурах данного микроорганизма. Нам кажется, что излагаемый ниже материал позволяет по-новому подойти к анализу данного процесса.

Мы попытались установить, влияет ли структура органического вещества, используемого азотобактером в качестве источника углерода и энергии, на продуктивность связывания азота атмосферы. С этой целью был поставлен ряд опытов в эрленмейеровских колбах объемом по 300 мл. В каждую колбу вносилось 100 мл минеральной среды для азотобактера и такое количество органического вещества, чтобы концентрация его равнялась $\frac{1}{6}$ моля (органические кислоты использовались в форме натриевых солей). Во всех вариантах опыта была установлена реакция, соответствующая рН=6,98, путем добавления небольших количеств фосфатного буфера Зеренсена с меняющимися отношениями между KH_2PO_4 и Na_2HPO_4 . Инфекция *Azotobacter agile* осуществлялась добавлением 1 мл суспензии его (налет бактерий с одной пробирки с косым агаром взбалтывался в 100 мл стерильной водопроводной воды). Опыт продолжался 2 месяца. За этот срок почти всюду органическое вещество было целиком использовано бактерией. По окончании опыта было произведено определение общего азота по Кьельдалю. Полученные результаты приведены в таблице.

Как можно видеть из приведенных цифр, между структурой используемого органического вещества и продуктивностью фиксации азота у *Azotobacter agile* имеется определенная зависимость. Углеводы и близкие к ним соединения (глицерин и др.), легко окисляющиеся в культурах *Azotobacter agile*, дают довольно близкую продуктивность как на граммолекулу вещества, так и на 1 г содержащегося в нем водорода. Чем выше содержание водорода, тем, обычно, выше продуктивность фиксации азота. Так, на глюкозе она составляет 1476, на манните — 1632 мг/граммолекулу. Внедрение в молекулу вещества дополнительных атомов кислорода дает обратный результат и приводит к сокращению продуктивности фиксации азота, что легко видеть, сравнивая фиксацию азота на янтарной, яблочной и винной кислотах, а также на молочной и пировиноград-

Продуктивность фиксации атмосферного азота
в концентрации $\frac{1}{8}$ моля (органические)

Источники углерода	Количество вещества в 100 мл среды в г	Используй. в-ва бактерией за время опыта в г	Фиксировано азота атмосферы в мг		
			на все в-во в отд. культурах	на все в-во в среднем	на 1 грамм-молекулу в-ва
Глюкоза	3,00	3,00	25,0	24,61	1476,6
	3,00	3,00	24,22		
Маннит	3,03	3,03	26,42	27,39	1643,4
	3,03	3,03	28,35		
Глицерин	1,53	1,53	17,08	16,59	995,4
	1,53	1,53	16,10		
Этиловый спирт	0,767	0,767	6,63	5,45	327,0
	0,767	0,767	4,27		
Пропиловый спирт	1,00	1,00	3,90	4,26	255,6
	1,00	1,00	4,62		
Уксусная кислота	1,00	1,00	4,06	4,13	247,8
	1,00	1,00	4,20		
Гликолевая кислота	1,27	1,27	5,72	5,42	325,8
	1,27	1,27	5,12		
Молочная кислота	1,50	1,50	9,45	9,23	553,8
	1,50	1,50	9,00		
Пировиноградная кислота	1,47	1,47	5,81	6,14	368,4
	1,47	1,47	6,46		
Янтарная кислота	1,97	1,97	13,16	14,38	862,8
	1,97	1,97	15,60		
Яблочная кислота	2,23	2,23	7,98	7,97	478,2
	2,23	2,23	7,97		
Фумаровая кислота	1,93	0,71	8,09	8,14	488,4
	1,93	0,53	8,19		
Винная кислота	2,50	2,50	8,52	8,24	494,4
	2,50	2,50	7,96		
Масляная кислота	1,47	1,47	16,04	15,24	914,4
	1,47	1,47	14,44		
Бензойная кислота	2,42	2,42	23,24	23,95	1437,0
	2,42	2,42	24,66		
Хинная кислота	3,25	3,25	27,25	28,35	1701,1
	3,25	3,25	29,45		

Azotobacter agile на разных источниках углерода
кислоты использованы в форме натриевых солей)

Химическая структура вещества	Фиксировано азота атмосферы в мг					Теплота сгорания вещества в ккал
	на 1 г водо- рода, содер- жащегося в в-ве	на 1 г водоро- да радикала без водорода гидроксила и карбоксила	на 1 г общего углерода в в-ве	на 1 г углеро- да радикала (без карбок- сильной груп- пы)	на 1 ккал хи- мической ис- энергии ис- пользованно- го в-ва	
$\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_4\text{CHO}$	123,0	211,0	20,5	20,5	2,1	674,0
$\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}$	117,4	205,4	22,8	22,8	2,2	728,1
$\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$	124,4	198,0	27,6	27,6	2,05	397,4
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	54,7	60,0	13,6	13,6	1,0	328,0
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	32,0	36,0	7,1	7,1	0,53	484,1
CH_3COOH	61,7	83,0	10,3	20,6	1,18	209,6
CH_2OHCOOH	81,4	162,0	13,6	27,0	2,0	166,8
$\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$	92,3	141,0	15,4	23,0	1,70	325,9
CH_3COCOON	92,1	123,0	10,2	15,3	1,40	260,0
$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{COOH} \end{array}$	143,8	216,0	18,0	36,0	2,40	356,9
$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{COOH} \\ \\ \text{CHOHCOOH} \end{array}$	79,7	160,0	9,97	20,0	1,50	320,1
$\begin{array}{c} \text{CHCOOH} \\ \\ \text{CHCOOH} \end{array}$	122,1	244,0	10,17	20,4	1,53	320,3
$\begin{array}{c} \text{CHOHCOOH} \\ \\ \text{CHOHCOOH} \end{array}$	82,4	247,2	10,3	20,6	1,8	281,1
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$	114,3	130,0	19,0	25,4	1,75	524,8
$\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$	239,6	287,2	17,1	20,0	2,0	772,1
$\text{C}_6\text{H}_7(\text{OH})_4\text{COOH}$	141,8	243,0	20,2	23,6	2,0	845,0

ной кислотах. Однако из этого правила, повидимому, имеются исключения. Так, например, на гликолевой кислоте фиксация азота оказалась выше, чем на уксусной, хотя следовало ожидать обратного. Отсюда следует, что на ход окислительного процесса, видимо, влияет не только богатство данного вещества водородом, но и легкость его дальнейшего превращения под влиянием окислительных ферментов, а также ряд других свойств этого вещества.

Весьма своеобразно ведут себя вещества, содержащие только первичную спиртовую группу (этиловый и пропиловый спирт). Несмотря на богатство их водородом и наличие в них значительного запаса химической энергии, они являются плохими источниками энергии для азотфиксирующей активности азотобактера.

Повидимому, с поверхностной активностью этих соединений связан подобный результат, так как простая насыщенность соединения водородом не является препятствием для продуктивного связывания азота атмосферы. Это легко видеть при сравнении фиксации азота на пропиловом спирте и на масляной кислоте.

Наконец, совершенно особое положение занимают циклические соединения. На бензойной кислоте продуктивность фиксации азота на 1 г содержащегося водорода по крайней мере в два раза больше, чем на глюкозе, манните или органических кислотах с прямой цепью. Еще выше она на хинной кислоте. Поскольку превращение последней связано с образованием бензольных производных, видимо, не только дегидрирование, но и дегидратация вещества, связанная с образованием ненасыщенных связей, повышает продуктивность фиксации азота.

Расчеты фиксированного азота атмосферы на 1 г общего водорода в веществе и 1 г водорода радикала (без водорода гидроксильной и карбоксильной групп) дают весьма непостоянные величины и указывают, что прямой зависимости здесь не наблюдается. Расчеты фиксированного азота атмосферы на 1 г общего углерода в веществе дают также пестрые результаты и указывают и здесь на отсутствие закономерности. Более удовлетворительные результаты получаются при пересчете на 1 г углерода радикала (без карбоксила). В большинстве случаев на 1 г углерода радикала фиксировано от 20 до 25 мг азота атмосферы. Меньшая продуктивность получилась только для поверхностно активных веществ. Столь близкая продуктивность фиксации азота на различных источниках углерода показывает, что этот процесс тесно связан с превращениями углерода радикала. Это положение подкрепляется и расчетами продуктивности фиксации азота на 1 ккал химической энергии использованного вещества. Как можно видеть из таблицы, в большинстве случаев на 1 ккал фиксируется около 2 мг атмосферного азота.

Московская сельскохозяйственная академия
им. К. А. Тимирязева

Поступило
26 XI 1944

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. Blom, *Biochem. Z.*, **134**, 385 (1928). ² J. Blom, *Centralbl. Bakteriol.*, II Abt., **84**, 60 (1931). ³ D. Burk, *Biochem. J. (USSR)*, II, 312 (1937). ⁴ С. Костычев, А. Рыскальчук и О. Швецова, *Тр. отд. с.-х. микроб. Гос. ин-та опыт. агрономии*, **1**, 91 (1926). ⁵ С. Костычев и А. Шелюмова, *Изв. АН СССР, сер. биол.*, стр. 662 (1931). ⁶ O. Loew and Aso, *Centralbl. Bakt.*, II Abt., **22**, 452 (1909). ⁷ J. Stoklasa *Centralbl. Bakt.*, II Abt., **21**, 484 (1908). ⁸ S. Winogradsky, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, **48**, 269 (1932).