

М. В. ФЕДОРОВ

**ВЛИЯНИЕ НА ФИКСАЦИЮ АЗОТА АТМОСФЕРЫ АЗОТОБАКТЕРОМ
ВЕЩЕСТВ, РЕАГИРУЮЩИХ С КАТАЛИЗАТОРОМ ФИКСАЦИИ
АЗОТА КАК С ОСНОВАНИЕМ**

(Представлено академиком А. А. Рихтером 4 VIII 1946)

Катионы тяжелых металлов оказывают угнетающее влияние на фиксацию азота атмосферы азотобактером даже в сравнительно малых концентрациях⁽⁴⁾. Такое влияние их обусловливается, повидимому, тем, что они изменяют дисперсность катализатора фиксации азота за счет взаимодействия с его карбоксильной группой. В связи с этим представлялось интересным установить, как будут влиять на фиксацию азота соединения, способные вступить в реакцию с катализатором как с основанием.

Для решения этого вопроса были поставлены опыты с борной, молибденовой, фосфорно-молибденовой и тимонуклеиновой кислотами. Все опыты ставились на питательной среде для азотобактера (наша модификация) с 1,8 г инвертного сахара на 100 мл среды. После стерилизации среда заражалась 1 мл суспензии *Azotobacter agile* и ставилась в термостат с температурой 30°С на 15 дней. По истечении этого срока в среде производились определения неиспользованного сахара (по Бертрану), общего азота (по Кьельдалю) и числа выросших клеток азотобактера (методом прямого счета под микроскопом). Результаты анализов приведены в таблице.

Как можно видеть из приведенных цифр, небольшие концентрации борной кислоты весьма значительно стимулируют процесс фиксации азота. При 0,0005 моля этого вещества в среде интенсивность фиксации азота атмосферы на 40% выше контроля. Повидимому, борная кислота вступает в химическое взаимодействие с катализатором фиксации азота и дает соединение, обладающее большей дисперсностью, что приводит к увеличению активной поверхности катализатора и к повышению продуктивности связывания азота атмосферы. Бор давно уже привлекает внимание исследователей в качестве важного микроэлемента. Его стимулирующее влияние на активность клубеньковых бактерий было отмечено еще в 1925 г. Бренчли и Торнтоном⁽¹⁾, а на активность азотобактера — нами⁽²⁾. Однако в том и другом случае вопрос не был достаточно расчленен, и истинная природа воздействия бора оставалась неизвестной. Только теперь можно считать установленным, что малые дозы бора могут взаимодействовать с ферментами клетки и давать соединения более дисперсные, чем исходное состояние этих ферментов в клетке. В силу этого они усиливают интенсивность дыхания и фиксации азота.

Молибденовая кислота при концентрации в 0,001 моля еще сильнее активизирует фиксацию азота атмосферы азотобактером, чем борная кислота. При этой дозе данного вещества в растворе фиксация

Влияние на фиксацию азота атмосферы азотобактером борной, молибденовой, фосфорно-молибденовой (натриевая соль) и тимонуклеиновой кислот

Концентрация кислоты в среде в молях	Использовано сахара в г	Интенсивность использования сахара в % от контроля	Фиксировано азота атмосферы в мг			Интенсивность фиксации в % от контроля	Число выросших клеток азотобактера
			на 1 г сахара в отдельной культуре	на 1 г сахара в среднем	на 1 г-моль гексоз		

Борная кислота

Контроль без борной кислоты	1,54	100,0	7,89	7,90	1 402,0	100,0	1,6 · 10 ¹⁰
	1,49		7,91				
0,0001	1,58	102,6	8,76	8,58	1 544,4	110,1	1,62 · 10 ¹⁰
	1,53		8,40				
0,0005	1,53	102,6	11,61	10,90	1 962,0	140,0	1,41 · 10 ¹⁰
	1,58		10,19				
0,001	1,41	98,0	,80	8,15	1 467,0	104,5	1,28 · 10 ¹⁰
	1,53		7,50				
0,005	1,58	102,6	7,89	7,98	1 416,0	101,0	1,84 · 10 ¹⁰
	1,53		8,06				
0,01	0,99	62,4	6,70	6,77	1 216,6	86,7	1,48 · 10 ¹⁰
	0,90		6,85				

Молибденовая кислота

Контроль без молибденовой кислоты	1,80	100,0	8,0	7,65	1 377,0	100,0	6,24 · 10 ¹⁰
	1,67		7,31				
0,0001	1,67	100,0	12,50	12,65	2 277,0	161,7	7,11 · 10 ¹⁰
	1,80		12,81				
0,0005	1,67	96,3	13,10	13,14	2 365,2	171,8	5,97 · 10 ¹⁰
	1,67		13,17				
0,001	1,58	92,8	13,09	13,24	2 383,2	173,9	6,78 · 10 ¹⁰
	1,62		13,39				
0,005	0,59	31,0	3,10	3,36	604,8	43,8	1,13 · 10 ¹⁰
	0,59		3,71				

Фосфорно-молибденовая кислота (натриевая соль)

Контроль без фосфорно-молибденовой кислоты	1,08	100,0	7,28	7,61	1 369,8	100,0	—
	1,08		7,93				
0,00001	1,67	154,7	13,66	13,89	2 500,2	182,5	—
	1,67		14,13				
0,0001	1,62	150,0	14,11	14,13	2 550,6	186,1	—
	1,62		14,23				
0,001	1,58	144,0	14,44	15,03	2 705,2	197,4	—
	1,53		15,62				
0,01	1,53	141,7	11,80	12,07	2 172,6	158,5	—
	1,53		12,33				

Тимонуклеиновая кислота

Контроль без тимонуклеиновой кислоты	1,80	100,0	8,32	8,31	1 495,8	100,0	—
	1,80		8,30				
0,00001	1,67	92,8	8,24	8,44	1 519,2	101,5	—
	1,67		8,64				
0,0001	1,67	91,9	8,20	8,04	1 447,2	97,0	—
	1,65		7,87				
0,001	1,67	92,2	8,42	8,75	1 575,0	105,3	—
	1,63		9,08				
0,0025	1,67	92,1	11,88	11,82	2 17,6	162,3	—
	1,62		11,66				

азота на 73,9% выше, чем в контроле. Еще более эффективные результаты дает фосфорно-молибденовая кислота. Если при 0,001 моля молибденовой кислоты в среде фиксация азота атмосферы была на 73,9% выше, чем в контроле, то при наличии такой же концентрации фосфорно-молибденовой кислоты она поднялась до 97,4% выше контроля. Повидимому, фосфорно-молибденовая кислота еще легче взаимодействует с катализатором фиксации азота как с основанием и дает комплексные соединения, обладающие большой активной поверхностью. В результате не только возрастает интенсивность фиксации азота атмосферы на 1 г использованного сахара, но сильно ускоряется и окисление сахара в актах дыхания. Благодаря этому возрастает и скорость роста азотобактера (эта культура закончена на 10-й день вместо 15-го дня обычно).

Так как в этом опыте интенсивность дыхания азотобактера оказалась на 50 % выше, чем в контроле, то имеются основания полагать, что вещества, реагирующие с ферментами как с основаниями, ускоряют не только фиксацию азота атмосферы, но и дыхание. Повидимому, и ферменты дыхания содержат в своем составе вещества, реагирующие с вышеуказанными анионами в качестве оснований. Их природа также коллоидна, и от степени дисперсности этих коллоидов зависит, видимо, их фактическое участие в катализе. Поэтому можно предполагать, что положительное влияние таких микроэлементов, как молибден и бор, связано в первую очередь с их воздействием на физико-химическое состояние ферментов клетки и их активность, что приводит к ускорению всех процессов в организме, в том числе и процессов синтеза новой живой протоплазмы. Весьма вероятно, что влияние бора и молибдена на растения такое же, как и на микроорганизмы.

Связь активирующего действия этих кислот с изменением дисперсности катализатора фиксации азота может быть подтверждена и данными опыта с тимонуклеиновой кислотой, которая, как известно, повышает устойчивость белка в растворе и оказывает на фиксацию азота такое же влияние, как и эти кислоты.

При концентрации тимонуклеиновой кислоты в среде в 0,0025 моля фиксация атмосферного азота поднялась на 62,3% выше контроля. Несмотря на наличие в питательной среде 52,5 мг связанного азота тимонуклеиновой кислоты, азотобактер фиксировал 20,02 мг азота атмосферы на 1,67 г использованного сахара (в среде найдено 72,52 мг азота). Отсюда следует, что азот тимонуклеиновой кислоты совершенно недоступен азотобактеру и что взаимодействие тимонуклеиновой кислоты с катализатором фиксации азота однотипно с действием борной и молибденовой кислот и приводит к образованию соединений с более высокой степенью дисперсности. Данные этих опытов дают нам также прямое доказательство того, что аминная группа катализатора фиксации азота, через которую могут реагировать все рассмотренные выше вещества, прямого участия в фиксации азота атмосферы не принимает.

Московская сельскохозяйственная
академия им. К. А. Тимирязева

Поступило
4 VIII 1946

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ W. Brenchley and H. Thornthorn, Proc. Roy. Soc., B, 98, 373 (1925).
² М. Федоров, Микробиология, 13, В. 1 (1944). ³ М. Федоров, ДАН, 43, № 8, 603 (1945); 49, № 8, 629 (1945); 49, № 9, 702 (1945). ⁴ М. Федоров, ДАН, 51, № 1, 61 (1946).