

Л. Н. ПШЕНИН

**AZOTOBACTER MISCELLUM — ОДИН ИЗ МАССОВЫХ ВИДОВ
РОДА AZOTOBACTER,
ОБИТАЮЩИХ В ВОДЕ ЧЕРНОГО МОРЯ**

Изучение видового состава культур, выделенных нами из черноморской воды, показало, что, кроме известных науке видов азотобактера (*Azotobacter chroococcum*, *Az. agile*, *Az. vinelandii*, *Az. nigricans*, *Az. beijerinckii* и др.), отмеченных в Черном море различными исследователями (Исаченко, 1914; Нечаева, 1926, цитировано по Сушкиной, 1949; Зарма, 1957; Пшенин, 1959), здесь обитает новый вид азотобактера, который мы описали и наименовали *Azotobacter miscellum*. Было интересно выяснить, насколько распространенным и массовым в Черном море является *Az. miscellum*. Задачей настоящей работы было показать на цифровых материалах полевых и лабораторных наблюдений широту распространения и частоту встречаемости нового вида по сравнению с прочими видами азотобактера, которые так же, как и *Az. miscellum*, были отмечены в посевах морской воды на безазотистые среды или выделены в культуру.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использованы данные собственных наблюдений над встречаемостью азотобактера в водной толще Черного моря, а также результаты многолетних микроскопических и визуальных наблюдений над культурами азотобактера и сведения о количестве выделенных из морской воды культур азотобактера различных видов. Полевые наблюдения проводились в глубоководных районах Черного моря по разрезам: Евпатория — район Босфора (западная часть, февраль 1956 г.) и Ялта — Батуми (восточная часть, август 1956 г.), а также в районе Филлофорного поля (северо-западная часть, август 1955 и июль 1956 гг.); в прибрежных участках моря (в районах Ялты, м. Херсонес, в Керченском проливе, Севастопольской бухте и Одесском заливе в разное время года).

Пробы воды отбирали с горизонтов 0 — 2000 м (табл. 1 и 2). В кислородной зоне пробы воды брали двумя способами, хорошо промытыми содержащимися до этого в порядке батометрами Нансена и прибором, снабженным склянками, предварительно простерилизованными в сушильном шкафу при 180° в течение двух часов (Родина, 1950). Пробы воды из приповерхностного слоя («нулевой горизонт») во всех исследуемых районах моря, кроме западной части, районов Ялты и м. Херсонес, отбирали специально изготовленным для этой цели металлическим черпаком с вставляющимся в него стерильным стаканом (Пшенин, 1963). Прибор и черпак, а также краны батометров

Встречаемость азотобактера (в том числе *Azotobacter miscellum*) в водной среде
(Результаты микроскопических и культуральных наблюдений над пробами)

Зо-на	Глубина, в м	Количество проб морской воды и посевов этими пробами в жидкие безазотистые среды					Количество проб и посевов морской воды, содержащих микроорганизмы, морфологически идентичные азотобактеру					В том числе кол-во организмов	
		Кол-во проб		Кол-во посевов пробами		Районы моря	Кол-во проб		Кол-во посе-вов пробами		Районы моря	Кол-во проб	
		батомет-рических	скляноч-ных	батомет-рическими	скляноч-ными		батомет-рических	скляноч-ных	батомет-рически-ми	скляноч-ными		батомет-рических	скляноч-ных
Кислородная	0	12	15	68	135	Зап., северо-зап., вост.; р-ны Ялты, м. Херсонес, Керченск. пролив, бухты, заливы	10	14	25	63	Зап., северо-зап., вост.; р-н м. Херсонес, Севастоп. бухта	7	11
	3, 5, 7	1	10	4	111	Северо-зап.; Керченск. пролив, Севастоп. бухта, Одесск. зал.	1	6	1	45	Зап., северо зап.; Севастоп. бухта, Одесск. зал.		4
	10	12	8	68	74	То же и зап.	6	7	10	33	Зап., северо-зап., р-н м. Херсонес	2	3
	14, 15	1	10	4	84	Северо-зап.; Керченск. пролив, Севастоп. бухта	1	7	3	21	Зап., северо-зап.	1	4
	20, 25, 35	17	3	113	24	Зап., северо-зап., вост.; р-ны Ялты и м. Херсонес	13	2	24	6	Зап., северо-зап., вост.; р-ны Ялты и м. Херсонес	6	1
	50, 60	22		117		Зап., вост.; р-ны Ялты и м. Херсонес	9		22		Зап., вост.; р-н м. Херсонес	4	
	75, 80	6		56		То же	7		13		Зап.; р-н м. Херсонес	2	
	100	9		55		Зап., вост.; р-ны Ялты	7		16		Зап., вост.; р-н Ялты	1	
	150	7		55		Зап. и вост.	4		9		Зап. и вост.	3	
Сероводородная	200	7		55		То же	6		15		То же	3	
	250	7		38		» »	4		11		» »	1	
	300	8		59		» »	6		11		» »	3	
	500	6		51		» »	5		9		» »	2	
	1000	3		27		Вост.	3		9		Вост.	1	
	1500	3		27		То же	3		10		То же	2	
	2000	2		18		» »	2		6		» »	1	
Итого . . .		123	46	815	428		87	36	194	168		39	23
Всего . . .		169		1243*			123(100%)		362*(100%)			62(50.4% от 123)	

* В том числе посевов:
в среду Федорова для азотобактера . 757(100%)
в среду Бейеринка для азотобактера . . 34(100%)
в среду Виноградского для *Clostridium pasteurianum* 452(100%)

* В том числе посевов:
в среду Федорова 318(41,0% от 757)
в среду Бейеринка 13(38,2% от 34)
в среду Виноградского для *Clostridium pasteurianum* 31(6,6% от 452)

* В том числе:
в среду Фе
в среду Бе
в среду Ви
Clostridium

Таблица 1

азотобактера (в том числе *Azotobacter miscellum*) в водной толще Черного моря
микроскопических и культуральных наблюдений над посевами морской воды)

Всего посевов морской воды, содержащих морфологически идентичные азотобактеру		В том числе количество проб и посевов, содержащих микроорганизмы, похожие на <i>Azotobacter miscellum</i>				Количество проб и посевов, содержащих организмы, сходные с прочими видами азотобактера, в том числе формы, не идентифицированные до вида*					
Кол-во посевов, содержащих морфологически идентичные азотобактеру	Районы моря	Кол-во проб		Кол-во посевов пробами		Районы моря	Кол-во проб**		Кол-во посевов пробами		Районы моря
		батометрических	скляночных	батометрических	скляночных		батометрических	скляночных	батометрических	скляночных	
63	Зап., северо-зап. вост.; р-н м. Херсонес, Севастоп. бухта	7	11	13	43	Зап.,—северо-зап., вост.; р-н м. Херсонес, Севастоп. бухта	3/4	3/4	12	20	Зап., северо-зап., вост.; р-н м. Херсонес
45	Зап., северо-зап.; Севастоп. бухта, Одесск. зал.		4		16	Севастоп. бухта, Одесск. зал.	1/0	2/2	1	29	Зап., северо-зап.; Севастоп. бухта, Одесск. зал.
33	Зап., северо-зап. р-н м. Херсонес	2	3	3	9	Зап., северо-зап.	4/0	4/3	7	24	Зап., северо-зап.; р-н м. Херсонес
21	Зап., северо-зап.	1	4	2	12	То же	0/1	3/2	1	9	Зап. и северо-зап.
6	Зап., северо-зап., вост.; р-ны Ялты и м. Херсонес	6	1	12	1	Зап., северо-зап., вост.	7/3	1/1	12	5	Зап., северо-зап., вост.; р-ны Ялты и м. Херсонес
	Зап., вост.; р-н м. Херсонес	4		8		Зап., вост.; р-н м. Херсонес	5/3		14		Зап., вост.; р-н м. Херсонес
	Зап.; р-н м. Херсонес	2		2		Зап.	5/0		11		Зап.; р-н м. Херсонес
	Зап., вост.; р-н Ялты	1		1		То же	6/0		15		Зап., вост.; р-н Ялты
	Зап. и вост.	3		6		Зап. и вост.	1/1		3		Вост.
	То же	3		10		То же	3/0		5		Зап. и вост.
	» »	1		2		Зап.	3/0		9		То же
	» »	3		4		Зап. и вост.	3/2		7		» »
	» »	2		3		Вост.	3/1		6		» »
	Вост.	1		1		То же	2/1		8		Вост.
	То же	2		7		» »	1/1		3		То же
	» »	1		5		» »	1/0		1		» »
168		39	23	79	81		48/17	13/12	115	87	
100%)		62(50,4% от 123)		160*(44,2% от 362)			61/29(49,6% > 23,6% от 123)		202(55,8% от 362)		

посевов:
в среду Федорова 318(41,0% от 757)
в среду Бейеринка 13(38,2% от 34)
в среду Виноградского для *Clostridium* 31(6,6% от 452)

* В том числе посевов:
в среду Федорова 135(42,4% от 318)
в среду Бейеринка 3(23,1% от 13)
в среду Виноградского для *Clostridium pasteurianum* 22(71,0% от 31)

* В ряде случаев вероятно наличие *Az. miscellum*.
** Цифры слева от дробной черты выражают количество проб, в которых *Az. miscellum* не обнаружен; цифры справа — количество проб, в части посевов которыми *Az. miscellum* обнаружен, а в другой части он не обнаружен или идентифицировался.

Количество культур азотобактера различных видов, в том числе *Azotobacter miscellum*,

Зо-на	Глубина, м	Количество выделенных из воды культур азотобактера различных видов					В том числе количество культур Azotobacter miscellum					Кол	
		Кол-во проб		Кол-во куль-тур из проб		Районы моря	Кол-во проб		Кол-во куль-тур из проб		Районы моря	Кол-во проб	
		батомет-рических	скляноч-ных	батомет-рических	скляноч-ных		батомет-рических	скляноч-ных	батомет-рических	скляноч-ных		батометри-ческих	скляноч-ных
Кислородная	0	7	9	15	32	Зап., северо-зап., вост.; Севастоп. бухта	2	8	4	22	Зап., север-зап., вост.; Севастоп. бухта	2	3
	5		1		1	Севастоп. бухта		1		1	Севастоп. бухта		
	10	1	3	1	5	Зап. и северо-зап.		1		2	Северо-зап.		2
	14, 15	1	2	2	4	То же	1	1	2	3	Зап. и северо-зап.		
	25	4		5		Зап. и вост.	4		4		Зап. и вост.		
	50	4		8		То же	2		2		То же	2	
	75	2		2		Зап.							
	100	2		2		Зап. и вост.							
150	2		3		То же	1		1		Вост.			
Сероводородная	200	4		12		» »	2		6		То же	2	
	250	3		4		» »						1	
	300	3		4		Вост.	3		3		Вост.	1	
	500	2		2		То же	2		2		То же		
	1000	2		2		» »	1		1		» »		
	1500	2		8		» »	2		7		» »	1	
	2000	1		2		» »	1		2		» »		
Итого . .		40	15	72	42		21	11	34	28		9	5
Всего . .		55 (100%)		114* (100%)			32 (58,2% от 55)		62* (54,4% от 114)			14 (25,5% от 55)	

* В том числе выделенных из посевов морской воды:
 в среду Федорова с маннитом 96
 в среду Бейеринка с этиловым спиртом 5
 в среду Виноградского для *Clostridium pasteurianum* . . . 13

* В том числе выделенных из посевов морской воды:
 в среду Федорова с маннитом 52
 в среду Бейеринка с этиловым спиртом 2
 в среду Виноградского для *Clostridium pasteurianum* 8

* Все 19 культур морской воды нитом

обжигали пламенем, первые два — до погружения в море, последний — по извлечении из воды.

Всего было отобрано 169 проб морской воды. Засеваемые объемы проб воды составляли: 111,1; 161,1 и 186,1 мл. Этими пробами произведено 1243 посева, из них 757 посевов — в жидкую маннитную среду Федорова для азотобактера (в том числе 640 посевов 100, 10, 1 и 0,1 мл морской воды и 117 посевов 50 и 25 мл воды), 34 посева различными количествами воды — в жидкую среду Бейеринка с маннитом, крахмалом или этиловым спиртом для азотобактера и 452 посева — в жидкую глюкозную среду Виноградского для *Clostridium pasteurianum*. Среды готовили с 50% черноморской и 50% дистиллированной воды (в расчете на испарение в течение длительной, до 6 месяцев, инкубации). Посевы тщательно микроскопировали от 3 до 10 раз. Одновременно фиксировались результаты визуальных наблюдений над культуральными свойствами. В процессе микроскопических и визуальных наблюдений особое внимание обращали на внешний вид, форму и размер клеток, характер зернистых включений, наличие или отсутствие вакуолей, подвижность и характер движения, наличие цепочек и пакетоподобных группировок клеток, цист и капсул, характер пигментации пленок, колоний, осадков, наличие или отсутствие складчатых пленок, муть и ее микробный состав, наличие и характер пигмента, проникающего в среду, его флуоресценция в ультрафиолетовом свете и т. п. На основании совокупности этих признаков азотобактер, встречаемый в первоначальных посевах воды, относился к тому или иному виду. Контролем для такого рода видовой дифференцировки служило выделение азотобактера в культуру и его идентификация или отнесение к новой форме — *Az. miscellum*.

Культуры азотобактера идентифицировались в соответствии с требованиями, предъявляемыми к определению бактерий рода *Azotobacter* в определителе Н. А. Красильникова (1949). В качестве дополнительных пособий мы использовали определитель Берджи (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 1948, 1957), а также монографии и статьи ряда авторов (Beijerinck, 1901; Виноградский, 1952; Рубенчик, 1960; Jensen, 1954; Zarma, 1957). В результате этой работы культуры азотобактера были идентифицированы с видами: *Az. chroococcum*, *Az. vinelandii*, *Az. agile*, *Az. nigricans*, *Az. beijerinckii*. Небольшая часть культур осталась неидентифицированной, так как была утеряна при первых нескольких пересевах.

Из кислородной зоны с горизонтов 0—150 м было извлечено 133 пробы воды, в том числе батометрами Нансена — 87 проб (65,4%) и склянками — 46 (34,6%). Этими пробами было сделано 968 посевов в упомянутые безазотистые среды, в том числе батометрическими пробами — 540 посевов (55,8%) и скляночными — 428 (44,2%). Из сероводородной зоны с горизонтов 200—2000 м было взято батометрами Нансена 36 проб воды, которыми сделано 275 посевов. Необходимо отметить, что большую, хотя и не подавляющую часть батометрических проб (особенно из кислородной зоны) брали зимой, т. е. в период минимального развития азотобактера в воде открытого моря. Большую же часть скляночных проб воды отбирали в летнее время, когда азотобактер отмечался в наибольших количествах (Пшенин, 1961). Это обстоятельство несомненно могло оказать известное влияние на соотношение количеств проб и посевов батометрической и скляночной воды, содержащих азотобактер, в пользу скляночных проб.

Из морской воды выделено 114 культур азотобактера, принадлежащих к различным видам: 72 культуры (63,2%) выделено из 40 батометрических проб и 42 культуры (36,8%) — из 15 скляночных проб.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Как видно из табл. 1, азотобактер был отмечен во всех частях и по всей толще воды Черного моря. Из 169 проб морской воды в 123 обнаружен азотобактер, в том числе в 87 батометрических и 36 скляночных пробах. Из 1243 посевов 169 пробами азотобактер микроскопически обнаружен в 362 посевах 123 пробами воды. Необходимо помнить, однако, что из 1243 посевов в среды для азотобактера был сделан 791 посев, а остальные — в среду для *Clostridium pasteurianum*. Из 362 посевов, содержащих азотобактер, 194 были сделаны батометрическими пробами и 168 — скляночными.

В кислородной зоне азотобактер был обнаружен в 94 пробах воды (70,7% от 133, т. е. от общего числа проб, взятых батометрами и склянками из кислородной зоны), в том числе в 58 батометрических (43,6% от 133 и 66,7% от 87, т. е. от общего числа батометрических проб) и в 36 скляночных пробах (27,1% от 133 и 78,3% от 46, т. е. от общего числа скляночных проб). Таким образом, в скляночных пробах, взятых из кислородной зоны, азотобактер был выявлен на 11,6% в большем числе случаев, чем в батометрических пробах кислородной зоны.

Из 36 батометрических проб, взятых из сероводородной зоны, азотобактер микроскопически обнаружен в 29 пробах (80,6%), т. е. на 13,9% случаев чаще, чем в батометрических пробах кислородной зоны, и даже на 2,3% случаев чаще, чем в скляночных пробах. Это парадоксальное явление можно предположительно объяснить тем, что азотобактер, увлекаемый на глубину оседающими частицами детрита и трупами организмов, на поверхности которых он может находиться (Пшенин, 1961), относительно концентрируется в более плотной воде сероводородной зоны.

Азотобактер был микроскопически обнаружен в 291 посеве (30,1% от 968, т. е. от общего числа посевов воды кислородной зоны), в том числе в 123 посевах батометрическими пробами (12,7% от 968 и 22,8% от 540, т. е. от числа посевов батометрическими пробами воды кислородной зоны) и в 168 посевах скляночными пробами (17,4% от 968 и 39,2% от 428, т. е. от числа посевов скляночными пробами воды кислородной зоны). Из вышесказанного следует, что в посевах скляночными пробами воды кислородной зоны азотобактер микроскопически был выявлен на 15,4% в большем числе случаев, чем в посевах батометрическими пробами воды кислородной зоны.

Из 275 посевов воды, взятой батометрами из сероводородной зоны, азотобактер обнаружен в 71 посеве (25,8%), т. е. на 3% случаев чаще, чем в посевах батометрическими же пробами воды кислородной зоны и на 13,4% случаев реже, чем в посевах скляночными пробами воды (табл. 3).

Как в пробах воды кислородной зоны (объемами 111,1; 161,1 и 186,1 мл), так и в отдельных посевах различными количествами этих проб (100, 50, 25, 10, 1 и 0,1 мл) азотобактер чаще обнаруживался тогда, когда воду отбирали склянками, чем когда ее брали батометрами Нансена. Число случаев обнаружения азотобактера в посевах

Таблица 3

Количество проб и посевов, содержащих азотобактер, в % от общего количества батометрических или скляночных проб воды, отобранных из кислородной или сероводородной зон Черного моря, и от количества посевов этими пробами

Зона	Пробы воды, содержащие азотобактер		Посевы различных количеств воды этих проб, содержащие азотобактер	
	батометрические	скляночные	из батометрических	из скляночных проб
Кислородная	66,7	78,3	22,8	39,2
Сероводородная	80,6		25,8	

различными количествами проб воды, взятой батометрами из кислородной зоны, было в 2,9 раза ниже, чем таковое в полных батометрических пробах. В посевах такими же количествами воды, но из скляночных проб это число было в 2 раза меньше, чем в полных скляночных пробах воды из кислородной зоны. Очевидно, в данном случае, проявляется бактериостатическое и бактерицидное действие материала, из которого изготовлены батометры Нансена (Крисс, 1962, Zobell, 1946).

В сероводородной зоне воду отбирали только батометрами Нансена. Здесь число случаев обнаружения азотобактера в посевах 100, 50, 10, 1 и 0,1 мл морской воды было в 3,1 раза ниже, чем таковое в полных пробах воды (111,1 и 161,1 мл). Отношение 3,1 почти такое же, как и отношение количества содержащих азотобактер проб к количеству содержащих азотобактер посевов батометрической воды кислородной зоны (2,9). В то же время отношение количества батометрических проб, содержащих азотобактер, взятых из сероводородной зоны (80,6%) к таковому батометрических проб, отобранных из кислородной зоны (66,7%), составило 1,2. Отношение количества содержащих азотобактер посевов батометрической воды сероводородной зоны (25,8%) к количеству содержащих азотобактер посевов воды кислородной зоны (22,8%) составило 1,13, т. е. последние два отношения также примерно равны. Это свидетельствует о том, что в сероводородной зоне азотобактер встречается при отборе проб батометрами Нансена приблизительно в 1,2 раза чаще, чем в кислородной зоне. Однако это еще не говорит о том, что жизнеспособность в условиях элективных сред и азотфиксирующая активность азотобактера, встречаемого в воде сероводородной зоны, всегда такая же, как и у азотобактера, находящегося в воде кислородной зоны Черного моря.

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ AZOTOBACTER MISCELLUM В ВОДЕ ЧЕРНОГО МОРЯ

Из 123 проб морской воды, содержащих азотобактер, *Az. miscellum* был обнаружен микроскопически и культурально в 62 пробах (50,4%), т. е. несколько больше, чем в половине проб, в том числе в 39 (31,7%) батометрических пробах и 23 (18,7%) скляночных пробах. Из 58 батометрических проб, взятых из кислородной зоны и содержащих азотобактер, *Az. miscellum* обнаружен в 26 пробах (50% от 58), а из 36 скляночных проб кислородной зоны, содержащих азотобактер, —

в 23 (63,9% от 36). Из 29 батометрических проб воды, отобранных из сероводородной зоны и содержащих азотобактер, *Az. miscellum* выявлен в 13 пробах (44,8% от 29), т. е. на 5,2% меньше, чем в батометрических пробах, взятых из кислородной зоны, и на 19,1% меньше, чем в скляночных пробах из кислородной зоны.

В посевах различными количествами воды этих проб *Az. miscellum* был отмечен в меньшем проценте случаев, чем в полных пробах. Однако это связано не только с его отсутствием в посевах, но и с трудностями дифференцирования встречаемых форм азотобактера на виды на основании микроскопических и культуральных наблюдений в условиях смешанных культур, каковыми чаще всего и являются первоначальные посевы морской воды. Такого рода трудности обычно имели место в тех случаях, когда в одном и том же посеве оказывалось две или более различных формы азотобактера. Из 362 посевов, содержащих азотобактер, *Az. miscellum* обнаружен в 160 (44,2%). Учитывая, однако, что в части посевов видовой дифференцировки азотобактера не проводилось (табл. 1), а также принимая во внимание вышеупомянутую трудность дифференцировки, можно предположить, что процент посевов, содержащих *Az. miscellum*, был действительно более высокий, чем 44,2%. Он, вероятно, составлял не менее 50% числа посевов, содержащих азотобактер. В связи с этим представленные в табл. 1 цифровые данные о встречаемости *Az. miscellum* являются неполными. Однако по ним, видимо, можно судить о соотношениях, в которых *Az. miscellum* встречался в посевах воды, отобранной различными способами из обеих зон моря. Очевидно, эти данные могут проиллюстрировать также тот факт, что *Az. miscellum* обнаруживался во всех частях и по всей толще Черного моря. Из 160 посевов, содержащих *Az. miscellum*, 79 (49,4%) посевов было произведено батометрическими пробами и 81 (50,6%) — скляночными пробами. В посевах скляночными пробами воды из кислородной зоны *Az. miscellum* встречался на 21,2% случаев чаще, чем в посевах батометрическими пробами из кислородной зоны (47 посевов или 29,4% от 160). Возможно это отчасти связано с тем, что большую часть батометрических проб из кислородной зоны брали зимой, в период минимального количественного развития азотобактера в воде открытого моря (Пшенин, 1961), и, наоборот, большую часть скляночных проб отбирали летом, когда азотобактер встречается в наибольших количествах.

Прочие виды (*Az. chroococcum*, *Az. vinelandii*, *Az. agile*, *Az. nigricans*, *Az. beijerinckii*), а также формы азотобактера, не подвергшиеся видовой дифференцировке, были отмечены в 90 пробах (73,2% от 123, т. е. числа проб, содержащих азотобактер). Из них в 61 пробе (49,6% от 123) *Az. miscellum* не был обнаружен, а в 17 пробах (13,8%) он был обнаружен вместе с другими видами, в том числе с формами азотобактера, которые не были определены до вида. Среди последних весьма вероятно наличие *Az. miscellum*. В связи с этим число посевов, содержащих прочие виды азотобактера, на самом деле должно быть меньше 202 (см. табл. 1). Оно вряд ли составляет 50% от 362, т. е. от общего числа посевов, содержащих азотобактер. Таким образом, микроскопические наблюдения показали, что *Az. miscellum* был отмечен в 50,4% проб воды, а на долю всех остальных видов азотобактера вместе взятых приходилось 49,6% проб воды.

Из обсуждения цифровых данных в табл. 1 видно, что *Az. miscellum* был отмечен по всей толще воды от 0 до 2000 м во всех частях

Черного моря, в которых проводились исследования. Очевидно, этот новый вид является одним из широко распространенных и массовых видов рода *Azotobacter*, обитающих в воде Черного моря. Большое значение имеет приповерхностный слой воды, в котором азотобактер вообще и *Az. miscellum* особенно встречаются наиболее часто.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О КОЛИЧЕСТВЕ КУЛЬТУР
АЗОТОВАКТЕРА MISCELLUM
И ДРУГИХ ВИДОВ АЗОТОВАКТЕРА, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВОДЫ
ЧЕРНОГО МОРЯ**

Выводы, сделанные выше, полностью подтверждаются данными о количестве культур различных видов азотобактера, выделенных из воды Черного моря. В процессе выделения ни одному из видов азотобактера не оказывалось предпочтения в смысле количества культур. *Az. miscellum* в начале исследований мы даже принимали за *Az. chrogossum*, так как подобно последнему он образует цисты, пакетоподобные группировки клеток, капсулы и коричневый пигмент на маннитной и глюкозной средах, особенно на агаровых средах и в жидких накопительных культурах с небольшим количеством спутников. После идентификации культур и описания нового вида (*Az. miscellum*) оказалось, что большинство культур принадлежало к *Az. miscellum*.

В табл. 2 представлены данные о количестве культур азотобактера различных видов, выделенных из морской воды. Всего нами было выделено 114 культур азотобактера из 55 проб воды, взятых в различных районах Черного моря со всех исследуемых горизонтов от 0 до 2000 м. Из них 72 культуры азотобактера были выделены из 40 батометрических проб и 42 культуры — из 15 скляночных проб. Из 38 проб воды, взятых из кислородной зоны, было выделено 80 культур азотобактера, в том числе из 23 батометрических проб — 38 культур и из 15 скляночных — 42 культуры. На одну скляночную пробу приходилось в 1,7 раза большее количество выделенных культур азотобактера, чем на одну батометрическую пробу. В этом, видимо, также проявилось бактерицидное и бактериостатическое действие металлических батометров.

Из 17 проб, отобранных батометрами из сероводородной зоны, было выделено 34 культуры азотобактера. На одну содержащую азотобактер пробу воды, извлеченную батометром из сероводородной зоны, приходилось в 1,2 раза больше выделенных культур азотобактера, чем на одну батометрическую пробу, взятую из кислородной зоны. Это обстоятельство подтверждает предположение о более плотном микрораспределении азотобактера, находящегося на осаждающихся частицах детрита и трупах планктонных организмов, в более плотной воде сероводородной зоны по сравнению с водой кислородной зоны. Однако, жизнеспособность выделенных из сероводородной зоны культур азотобактера оказалась в общем значительно более низкой, чем таковая культур, изолированных из воды кислородной зоны. Культуры из сероводородной зоны хуже росли на элективных средах и быстрее терялись в процессе пересевания на свежие среды, чем культуры из кислородной зоны.

Формами, идентичными или очень близкими *Az. miscellum*, оказались 62 культуры азотобактера (54,4% от 114, т. е. от общего числа

культур азотобактера), выделенные из 32 проб, в том числе 34 культуры — из 21 батометрической пробы и 28 культур — из 11 скляночных проб. Из 21 пробы, взятой из кислородной зоны, было выделено 41 культуру *Az. miscellum*, в том числе из 10 батометрических проб — 13 культур и из 11 скляночных проб — 28 культур. На одну скляночную пробу приходилось в два раза больше культур *Az. miscellum*, чем на одну батометрическую пробу, взятую из кислородной зоны. Это еще раз подтверждает вывод о бактериостатическом и бактерицидном действии батометров Нансена. Из 11 батометрических проб, взятых из сероводородной зоны, было выделено 21 культуру *Az. miscellum*. Однако многие из них быстро утратили способность пересеваться.

Культуры *Az. chroococcum* в количестве 19 (16,7% от 114) были выделены из 14 проб воды, в том числе 12 культур — из 9 батометрических и 7 культур — из 5 скляночных проб. Сопоставление показывает, что всего культур *Az. chroococcum* было выделено в 3,3 раза меньше, чем культур *Az. miscellum*.

Количество культур остальных видов азотобактера, в том числе неидентифицированных, равно 33 (28,9% от 114). Среди них: 3 культуры, выделенные на среде с этиловым спиртом или глюкозой, оказались близкими *Az. agile*, 6 культур *Az. vinelandii*, 1 культура *Az. nigricans* и 1 культура *Az. beijerinckii*; 22 культуры азотобактера остались неидентифицированными, так как были потеряны при первых нескольких пересевах. Вместе с *Az. chroococcum* все эти формы составляют 52 культуры (45,6% от 114), т. е. на 10 культур меньше, чем один только *Az. miscellum*.

Заканчивая обсуждение данных, содержащихся в табл. 2, отметим, что из 114 культур азотобактера, выделенных из воды Черного моря, 47 (41,2%) культур было изолировано из приповерхностного слоя воды, в том числе 32 культуры выделено из 9 скляночных проб и 15 культур — из 7 батометрических проб. На долю одной скляночной пробы приходилось в 1,7 раза больше культур, чем на одну батометрическую пробу приповерхностной воды, т. е. соотношение точно такое же, как для проб и культур из кислородной зоны, взятых в целом. Не только *Az. miscellum*, но также и прочие виды азотобактера выделялись из приповерхностного слоя чаще, чем из воды любого нижежащего горизонта. Интересно отметить также, что из 96 культур азотобактера, первоначально отмеченного на маннитной среде Федорова, 52 культуры (54,2%) оказались *Az. miscellum*. В то же время из 13 культур, отмеченных на глюкозной среде Виноградского для *Clostridium pasteurianum*, 8 (61,5%) принадлежало к *Az. miscellum*. Создается впечатление, что глюкоза и маннит примерно одинаково доступны для этого массового вида азотобактера.

Таким образом, и при рассмотрении соотношения количеств выделенных из воды культур азотобактера, принадлежащих к различным видам, полностью подтверждается вывод о том, что *Az. miscellum* представляет собой один из наиболее широко распространенных и массовых видов рода *Azotobacter*, обитающих в водной толще Черного моря. В связи с вышеизложенным возникает вопрос, почему этот новый массовый вид азотобактера не был обнаружен в Черном море раньше. На наш взгляд, это объясняется очень незначительным числом исследований, посвященных морскому азотобактеру, и, вероятно, тем, что по ряду морфологических, культуральных и физиологических признаков *Az. miscellum* похож на другие виды азотобактера.

Выводы

1. Из 123 содержащих азотобактер проб морской воды, взятых в различных районах Черного моря с различных горизонтов от 0 до 2000 м и засеянных в безазотистые среды с различными источниками углерода, в 50,4% проб был отмечен *Azotobacter miscellum*. Прочие виды азотобактера были обнаружены в пробах воды, число которых не превышало 49,6% от 123.

2. Из 114 культур азотобактера, выделенных из воды Черного моря, 62 культуры (54,4%) оказались принадлежащими к *Az. miscellum*. Остальные виды составляли 52 культуры (45,6%), в том числе *Az. chroococcum* — 19 культур, *Az. vinelandii* — 6, *Az. agile* — 3, *Az. beijerinckii* — 1, *Az. nigricans* — 1 культура; 22 культуры азотобактера остались неидентифицированными.

3. Анализ цифровых данных о встречаемости различных видов азотобактера и количестве выделенных культур позволяет сделать вывод, что *Az. miscellum* является одним из наиболее распространенных в Черном море массовых видов рода *Azotobacter*. Необнаружение его в Черном море другими авторами (Исаченко, 1914; Нечаева, 1926, цитировано по Сушкиной, 1949; Zarma, 1957), вероятно, связано с небольшим числом специальных исследований морского азотобактера, а также с некоторыми свойствами *Az. miscellum*, внешне сближающими его с другими видами азотобактера.

ЛИТЕРАТУРА

- Виноградский С. Н., 1952, Микробиология почвы, Изд-во АН СССР, М.
- Исаченко Б. Л., 1914, Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана, Избранные труды, т. I, Изд-во АН СССР, М.—Л., 1951.
- Красильников Н. А., 1949, Определитель бактерий и актиномицетов, Изд-во АН СССР, М.—Л.
- Крисс А. Е., 1962, О пригодности батометра Нансена для отбора проб воды из морей и океанов для микробиологических исследований, Микробиология, т. 31, вып. 6.
- Нечаева Н. Б., 1926, Исследование круговорота азота в воде и грунтах Черного моря. Отчет по командировке, Гос. гидр. ин-т, Л. (цитируется по Сушкиной, 1949).
- Пшенин Л. Н., 1959, Количественное распределение азотфиксирующих бактерий и их экология в районе Филлофорного поля Зернова в Черном море. Микробиология, т. 28, вып. 6.
- Пшенин Л. Н., 1961, О связях между азотобактером и фитопланктоном в Черном море, Тр. Севаст. биол. ст., т. XIV.
- Пшенин Л. Н., 1964, Об азотфиксирующих бактериях приповерхностного слоя воды в Черном море, Тр. Севаст. биол. ст., т. XV.
- Родина А. Г., 1950, Микробиологические исследования водоемов, Изд-во АН СССР, М.—Л.
- Рубенчик Л. И., 1960, Азотобактер и его применение в сельском хозяйстве, Изд-во АН УССР, К.
- Сушкина Н. Н., 1949, Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР, Изд-во АН СССР, М.—Л.
- Федоров М. В., 1951, Руководство к практическим занятиям по микробиологии, Гос. изд-во с.-х. лит., М.
- Beijerinck M. W., 1901, Ueber oligonitrophile Mikroben, Ctrbl. f. Bact., Abt. II. Bd. 7, S. 561.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 1948 (VI edition) and 1957 (VII edition), Baltimore.
- Jensen H. L., 1954, The Azotobacteriaceae, Bact. Reviews, vol. 18, No 4, p. 195.
- Zarma M., 1957, Microorganisme fixatoare de azot molecular în Marea Neagră. I. Considerații asupra speciilor și variațiilor genului *Azotobacter* din Marea Neagră, Bulletin științific, I, t. IX, 33.
- Zobell C. E., 1946, Marine microbiology, Waltham, Mass., U. S. A.