

ADATOK AZ AZOTOBACTER OXYDANS NITROGÉNKÖTÉSÉHEZ

SZOLNOKI JÁNOS

(Érkezett: 1951 október 1-én.)

Intézetünk baktériumgyűjteményében van egy HORVÁTH által izolált (I. HORVÁTH 1948.) és cholesterolin mikrobiológiai oxidációhoz használt *Azotobacter* faj, mely nitrogénmentes mannit-agár táptalajon tenyészik izolálása (1947) óta. HORVÁTH hívta fel a figyelmet arra, hogy ez a faj éveken keresztül együtt élt egy — méreteiben alig nagyobb — algával, mely azonban kb. másfél évvel ezelőtt elpusztult, mert a mesterséges táptalajon nem tudott tenyészni. Így az *Azotobacter* azóta magánosan él. Megfigyelhető, hogy átoltás után ferde mannit-agáron az agárlemez felületét igen vékony nyálkás lepedékkel bevonva tenyészik.

HORVÁTH eredeti leírása és szóbeli közlése szerint az algával való együttélés ideje alatt az *Azotobacter* sokkal jobban tenyésztett, mint jelenleg. Így nemcsak azért volt kíváncsi ennek az *Azotobacter* fajnak a nitrogénköti képességét jelen állapotában megvizsgálni, mivel feltételezett szimbiontáját elvesztette, hanem azért is, mivel egy olyan *Azotobacter*-ről van szó, mely eddig ismeretlen volt, továbbá, mert Intézetünk mikrobiológiai munkaközösségének tervtémájában az *Azotobacter*-ek talajbeli előfordulása és bizonyos talajokban az *Azotobacter* hiánya okainak kutatása is szerepel.

M ó d s z e r t a n i k é r d é s e k . A nitrogénköti képesség megvizsgálásához célszerűnek látszott a HORVÁTH által *Azotobacter oxydans*-nak nevezett baktérium kontrolljaként összehasonlításul egy nemzetközileg jelzett törzs párhuzamos vizsgálatát is felvenni, mely célból az N. C. I. B.-től beszerzett és 8006 számmal jelölt *Azotobacter chroococcum*-ot használtuk fel.

Tenyésztésre háromféle táptalajt készítettünk, melyek a következők:

I. KH_2PO_4 0,02%, CaCO_3 0,02%, MgSO_4 0,02%, Na_2MoO_4 0,005%, mannit 2,0%, mosott agár 0,1% (v. ö. RIPPEL 1936).

II. Mint az I. táptalaj, de Na_2MoO_4 nélkül.

III. Mint az I. táptalaj, de agár nélkül.

A táptalajok pH értéke minden esetben 7,0 volt.

Az így elkészített táptalajokat 300 ml-es Erlenmeyer lombikba osztottuk szét, mindegyikbe 40—40 ml-t téve és 1,5 Atm. nyomás alatt lesterilizáltuk. A beoltás a különböző fenti táptalajokra a következő módon történt: kacsnyi mennyiségű baktériumot szuszpendáltunk 10 ml nitrogénmentes fiziológiás oldatban, majd ebből azonos mennyiségeket (1 ml) oltottunk a tenyészedényekbe. Mivel az azelőtt algájával együtt élt *Azotobacter oxydans* nyilvánvalóan fényt igényelt, kísérleti tenyészetekből mindegyik táptalajból és mindkét baktériumból 3—3 tenyészetet párhuzamosan sötét, illetve világos

helyen tartottunk. Egyidejűleg minden táptalajból benemoltottat is tartottunk a beoltottakkal azonos ideig, azonos mennyiségben és azonos körülmények között. A különböző táptalajokra oltott baktériumokat 28 napig 25° C hőmérsékleten inkubáltuk. Az inkubációs idő elteltével s miután a fentebb ismertetett módon az addig beoltatlanokat is beoltottuk, meghatároztuk a tenyészetekben található nitrogénmennyiséget, KJELDAHL módszere szerint.

Vizsgálati eredmények. Az eredményeket a mellékelt táblázatban összefoglalva mutatjuk be. A N mg % adatok középértékek.

Sorszám	Baktérium neve	Világítás	Táptalaj	Nitrogén mg %
1.	<i>Azotobacter oxydans</i>	szórt fény	I.	6,48
2.	<i>Azotobacter chroococcum</i>	szórt fény	I.	19,10
3.	<i>Azotobacter oxydans</i>	sötét	I.	6,48
4.	<i>Azotobacter chroococcum</i>	sötét	I.	17,40
5.	Közvetlenül N. meghatározás előtt beoltva		I.	6,48
6.	<i>Azotobacter oxydans</i>	szórt fény	II.	5,67
7.	<i>Azotobacter chroococcum</i>	szórt fény	II.	14,45
8.	<i>Azotobacter oxydans</i>	sötét	II.	6,15
9.	<i>Azotobacter chroococcum</i>	sötét	II.	14,53
10.	Közvetlenül N. meghatározás előtt beoltva		II.	6,16
11.	<i>Azotobacter oxydans</i>	szórt fény	III.	6,00
12.	<i>Azotobacter chroococcum</i>	szórt fény	III.	8,42
13.	<i>Azotobacter oxydans</i>	sötét	III.	5,35
14.	<i>Azotobacter chroococcum</i>	sötét	III.	13,15
15.	Közvetlenül N. meghatározás előtt beoltva		III.	5,19

A táblázatból kitűnik, hogy az *Azotobacter chroococcum* legnagyobb kötőképességű az I. táptalajon volt, míg a legkisebb értéket a III. táptalaj alkalmazásánál nyertük. Ezzel szemben az *Azotobacter oxydans* a különböző táptalajokat egybevetve nem mutat lényeges eltérést. Ez utóbbinak a nitrogénmennyisége alig magasabb a kontrollként használt, csupán a nitrogénmeghatározás előtt beoltottéhoz képest. Az *Azotobacter chroococcum* nitrogénkötő képessége minden esetben jóval nagyobb. Figyelmet érdemel az a tény, hogy az *Azotobacter chroococcum* nitrogénkötő képessége a III. táptalajon a sötétben tenyésztettnél jóval magasabb, mint a szórt fényben tenyésztett testvéreé.

Az eredmények áttekintésekor tehát megállapíthatjuk, azt, hogy az alga társát elvesztett *Azotobacter oxydans* nitrogénkötő képessége igen csekély, csak éppen annyi, amennyi a legminimálisabb tenyésztéshez elégséges. HORVÁTH szóbeli közléséből tudjuk, hogy az eredeti és még algájával együtt élt *Azotobacter oxydans* középértékben 8 mg% nitrogént kötött, míg nálunk a nitrogénkötés még a legnagyobb érték esetében sem volt több 6,48 mg%-nál. Tehát nitrogénkötő képessége az alga kiesésével átlagban 1,5 mg%-nyit csökkent. Így nyilvánvaló, hogy szimbiozistról beszélhetünk az *Azotobacter* és alga társa között, melyről azonban éppen elpusztulása következtében csak annyit állapíthatunk meg, hogy a RUPPEL-féle táptalaj nem elégséges részére; míg egyéb vonatkozásban azt állapíthatjuk meg, hogy valamilyen módon elősegítette az *Azotobacter* nitrogénkötését.

Ha figyelembe vesszük azt a körülményt, hogy vizsgálatainknál az

Azotobacter chroococcum legkisebb nitrogénkötése 8,42 mg%, akkor az arra utal, hogy az *Azotobacter oxydans* talajbeli tevékenysége szimbiozis esetében megközelíti az *Azotobacter chroococcum* legalacsonyabb kötőképességét. További munkáinknál tehát, melyben a magyarországi talajokban élő összes *Azotobacter*-eket óhajtjuk számbavenni talajbeli hatásukat illetően, ennek a kísérletnek alapján feltétlenül figyelmet érdemel a szimboziszban élő *Azotobacter oxydans* is. Ez a rövid dolgozat egyúttal arra is rámutat, hogy mesterséges körülmények között tartott *Azotobacter* fajok nem mutatják a talaj háztartásában vitt tényleges szerepüket, mert ott még más szimbiotákkal is kell számolnunk, melyek a nitrogénkötésben az *Azotobacter*-nek segítségére vannak.

IRODALOM

BHASKARAN, T. R. and V. SUBRAHMANIAN (1937): Some new aspects of the mechanism of nitrogen fixation in the soil. — *Proc. nat. Inst. Sci. India*. **3.**, 163.

HERVEY, R. J and J. E. GREAVES (1941): Nitrogen fixation by *Azotobacter chroococcum* in the presence of soil protozoa. — *Soil Sci.* **51.**, 85.

HORVÁTH, J. und A. KRÁMLI (1948): Über mikrobiologische Umgestaltung von Sterinen. I. Oxydation von Cholesterin durch *Azotobacter*. — *Arch. Biol. Hung.* **18.** 19.

RIPPEL, A. und B. LEHMANN (1936): Über die Wirkung von geringen Mengen Agar auf Wachstum und Stickstoffbindung von *Azotobacter* und auf andere mikrobiologische Vorgänge. — *Arch. Mikrobiol.* **7.**, 210.

ДАННЫЕ ОБ АЗОТО-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ AZOTOBACTER OXYDANS

Янош Сольноки

Резюме

Мы проверили азото-связывающую способность *Azotobacter oxydans*, изолированного Хорватом 4 года тому назад и сравнили ее с *Azotobacter chroococcum* № 8006, полученного от Н. С. I. В. Сравнение стало необходимым ввиду того, что *Azotobacter oxydans* потерял в процессе разведения, примерно полтора года тому назад, живущий с ним водоросль.

Мы установили, что азото-связывающая способность *Azotobacter oxydans* настолько мала, что почти не заметна, хотя уже с тех пор слабо выращивается в безазотной почве. После потери своего водоросля он производит на 1,5 мг% меньше азота. Следовательно *Azotobacter oxydans* для связывания азота берётся в расчет в почвенном хозяйстве лишь совместно со своим симбионтом. Мы могли констатировать, что в искусственной почве и в изолированном виде этот азотобактер значительно меньше связывает азот и таким образом дает неправильную оценку его значения.

DATA ON THE NITROGEN FIXATION OF AZOTOBACTER OXYDANS

JÁNOS SZOLNOKI

Summary

The nitrogen-fixation capacity of the *Azotobacter oxydans* isolated 4 years ago by HORVÁTH was investigated by comparing it with *Azotobacter chroococcum* No. 8006 procured from N. C. I. B. The comparison was made necessary by the fact that during cultivation about a year and a half earlier the *Azotobacter oxydans* lost the alga living with it.

It was found that, though it still grew weakly on nitrogen-free soil medium, the *Azotobacter oxydans* now had a nitrogen-fixing capacity so slight as to be scarcely demonstrable. It produced 1.5 mg% less nitrogen without its algal companion. Consequently it seems that in soil economy *Azotobacter oxydans* can be reckoned on to fix nitrogen only when together with a symbiont. We were also able to establish that on artificial soil-medium and isolated this *Azotobacter* also shows much lower values in N-fixation, and is thus misleading.