

АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ И АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ НОВОГО МИКРОБНОГО ВИДА — АЗОТОБАКТЕР СУИС

И. И. ОРОБИНСКИЙ
В. Г. МАКОВЕИ.
Е. С. НИКУЛИНА

В 1960 г. (И. И. Оробинский) из кишечника свиньи был выделен новый микробный вид, способный расти на обычных питательных средах, а также в самых различных запаренных кормах, бурно размножающийся в вареном картофеле и в запаренном комбикорме в нестерильных условиях и подавляющий развитие гнилостных микроорганизмов.

Позднее автор и другие исследователи (Д. Ф. Петров, Н. И. Леонов, К. М. Солнцев и Е. Н. Сельскова) установили, что открытый микроб синтезирует на 1 кг корма от 100 до 400 гаммов витамина В₁₂, около 2% молочной кислоты, витамины В₂ и РР.

И. И. Оробинский отнес микроб к роду Азотобактер и дал ему видовое название «суис». В 1962 г. Главное управление ветеринарии МСХ СССР утвердило «Временные рекомендации по применению кормобактерина в животноводстве». Препарат внедряется во многих областях страны, в том числе в Амурской области и Приморском крае, как стимулятор роста, повышающий привесы животных и птицы в пределах 15—20% на тех же кормах; он увеличивает усвояемость азота кормов на 5—8%, уменьшает затраты кормовых единиц на 1 кг привеса в среднем на 15—20%. Препарат благотворно влияет на состояние здоровья животных, увеличивая количество эритроцитов и гемоглобина в крови поросят на 15%.

Микробные клетки Азотобактер суис представляют собой кокки и диплококки, иногда слегка вытянутые, диаметром около микрона, реже имеющие форму палочки с закругленными концами, размером 1—1,5—2—2,5 микрона, расположенные одиночно и попарно. В бактерокормах (жормах, обработанных микробом) они представляют собой палочки размером от 5 до 20—30 микронов. По Граму микроб окрашивается положительно и отрицательно, хорошо окрашивается растворами фуксина и метиленовой синьки, подвижен, образует капсулу, которая хорошо обнаруживается по известной методике М. Ф. Федорова. Размер клетки с капсулой в диаметре — около 3—5 микронов. Рост на МПА — гладкие (а в толщине агара — чечевицеобразной формы), круглые, выпуклые, непросвечивающиеся, серовато-белые, слизистые, вязкие колонии размером от 1 до 5 мм в диаметре, напоминающие каплю сгущенного молока. Желатину не разжижает, индола, аммиака и сероводорода не образует, на всех сахарах пестрого ряда и на крахмале образует газ и кислоту. Обладает редуцирующими и уреазными свойствами. Непатогенен.

Нами дополнительно изучалась азотфиксирующая способность микроба по общепринятой методике — чистая кокковая форма микроба высевалась в эрленмейеровские колбы — один кубик смыва с агаровой синтетической среды на 100 мл безазотистой жидкой синтетической среды, где источником азота мог являться только азот атмосферы. Состав среды: глюкоза — 2%, K_2HPO_4 — 0,1%, $CaCl_2$ — 0,03%, $CaCO_3$ — 0,5%, $MgSO_4$ — 0,03%, дистиллированная вода — 100. Затем колбы выдерживались 21 день в термостате при 37°.

Заметный рост, как правило, в первой генерации начинался на 7-й день, а затем постепенно усиливался.

Перед постановкой опыта в питательной среде определялось количество сахара — по Бертрану и общего азота — по Къельдалю. Через 21 день количество сахара и азота в питательной среде снова определялось по тем же методикам.

Результаты 6 опытов, изложенные в табл. 1, показывают, что Азотобактер суис фиксирует азот воздуха в количестве от 3 до 12 мг на 1 г сахара. И. С. Родынюк (1962) сообщала, что в ее опытах Азотобактер суис фиксировал 2,3 мг азота на 1 г сахара.

В наших опытах мы систематически наблюдали, что в картофельном бактокорме увеличивалось абсолютно сухое вещество в незначительных количествах; это, безусловно, указывает на то, что и в бактокормах Азотобактер суис способен фиксировать азот в незначительной степени, особенно при частом их перемешивании.

Таблица 1

Определение азотфиксирующей способности Азотобактер суис

№№ опы- тов	Опред. сахара в синтетич. среде			Опред. азота в среде, зас. А. суис		
	к-во сах. в 100 мл исх. среды		к-во израсх. сах. (г)	к-во азота (мг на 100 мл среды)		к-во азота (мг фиксир. на 1 г сах.)
	до опыта	после опыта		до опыта	после опыта	
1	1,8625	1,362	0,501	0	5,6	11,1
	1,8625	1,294	0,468	0	4,9	10,5
2	1,8625	1,365	0,497	0	5,6	11,2
	1,8625	1,362	0,497	0	5,6	11,1
3	1,86	1,362	0,498	0	6,3	12,6
	1,86	1,365	0,495	0	6,3	12,6
4	1,86	1,365	0,495	0	6,3	12,6
	1,86	1,362	0,498	0	5,6	11,3
5	2,15	0,639	1,511	0	5,6	3,61
	2,15	0,625	1,523	0	5,6	3,66
6	2,3	0,997	1,303	0	7	5,3
	2,3	0,98	1,32	0	7	5,3

Приведенные в табл. 1 данные показывают, что выделенная нами культура относится к роду Азотобактер, что подтверждено Институтом микробиологии АН СССР (А. А. Имшенецким) и Всесоюзным институтом сельскохозяйственной микробиологии (В. В. Леонович) в 1962 г. («Ветеринария», № 5, 1962).

Известно, что микробный белок полноценен, хорошо усваивается животными и включает все общеизвестные незаменимые аминокислоты. Мы изучали аминокислотный состав микробной культуры Азотобактер суис, пользуясь методом бумажной хроматографии.

В результате установлено, что мочевиный штамм микробной культуры, ассимилирующий азот мочевины, а также исходная культура, культивируемая на МПА и картофельно-комбикормовой среде без мочевины, включают аминокислоты, указанные в табл. 2 (среднее из 3 опытов, девяти повторностей).

Таблица 2

Аминокислотный состав микробной культуры *Азотобактер суис*
(в% на абс. сухое вещество)

Аминокислоты	Исх. штамм на МПА	Мочев. штамм на тв. картоф., комбик. среде	Исх. штамм на тв. среде без мочевины
Лизин	4,8	6,5	2,7
Аргинин	3,07	4,7	0,35
Гистидин	1,7	1,7	—
Аспарагиновая к-та	6,2	6,4	1,6
Серин	3,6	5,3	0,95
Глицин	2,1	3,7	1,6
Глутаминовая к-та	11,5	8,2	2,7
Треонин	4,5	2,9	1,4
Аланин	6,9	4,8	1,35
Валин + фенилаланин	4,7	3,07	3,02
Лейцин + изолейцин	7,7	10,4	—
Цистеин	следы	2,3	—
Метионин	следы	0,9	—

Из табл. 2 видно, что *Азотобактер суис* включает 15 изучавшихся аминокислот (триптофан и другие аминокислоты не исследовались), причем мочевиный штамм ассимилирует азот мочевины и за счет этого дает значительное увеличение аминокислот, в том числе незаменимых — лизина, аргинина, гистидина, треонина, лейцина, изолейцина, валина, фенилаланина и метионина. А это указывает на перспективную возможность частичного использования мочевиного азота для обогащения кормов дефицитными аминокислотами.

Параллельно мы изучали содержание сырого протеина и процент абсолютно сухого вещества как в исходном, так и в мочевином штаммах. Приводим результаты (в %, среднее из пяти опытов и десяти повторностей):

	Абс. сух. в-во	Сыр. протеин
Исходный штамм на МПА	8,2	72,2
Исходный штамм на картофельно-комбикормовой среде без мочевины	4,2	28—39
Мочевиный штамм на картофельно-комбикормовой среде с добавлением 0,5% мочевины	9—10	65—70

Таким образом, мочевиный штамм за счет мочевиного азота увеличивает синтез сырого протеина по сравнению с исходным штаммом, культивируемым на такой же растительной среде без мочевины. Это также подтверждает данные табл. 2, свидетельствующие о том, что в перспективе мочевиный азот может быть использован как источник синтеза микробного белка, особенно полезного для свиней и птицы.