

УДК 576.851.55(28)

## К ЭКОЛОГИИ АНАЭРОБНЫХ АЗОТФИКСАТОРОВ РОДА *CLOSTRIDIUM* В ВОДОЕМАХ СРЕДНЕГО ДНЕПРА

Л. Е. МИХАЙЛЕНКО

(Институт гидробиологии АН УССР, Киев)

Анаэробный фиксатор азота — *Clostridium pasteurianum* является одним из наиболее распространенных в природе микроорганизмов. Отмечено почти повсеместное его распространение в различных почвах (Виноградский, 1895; Омелянский, Солунскова, 1915; Федоров, 1952). Данные о наличии *Cl. pasteurianum* в пресных водоемах очень ограничены (Бершова, 1950; Гамбарян, 1958; Родина, 1954, 1958, 1964; Романова, 1961; Сисуева, 1963).

А. Г. Родина (1964) отмечает широкое распространение *Cl. pasteurianum* в реках, озерах, водохранилищах, прудах. Согласно приведенным ею данным, этот микроорганизм осуществляет свою деятельность во все сезоны года. А. Г. Родиной (1954) *Cl. pasteurianum* был обнаружен в зоне каменистой литорали Байкала в местах прикрепления бентических водорослей и на них самих. По-видимому, бентические водоросли используют продукты жизнедеятельности развивающихся на их поверхности микробов. Высокая численность *Cl. pasteurianum* отмечена в зоне растительного удобрения прудов и на самой внесенной растительной массе, которая представляет весьма благоприятные условия для развития в ней азотфиксирующих бактерий (Родина, 1958).

Проведенные работы показывают, что наиболее благоприятные условия для этого микроорганизма существуют в водоемах с высоким содержанием органических веществ и пониженным содержанием кислорода. Однако исследователями отмечено прекрасное развитие *Cl. pasteurianum* и в насыщенных кислородом водах.

Тем не менее основное внимание в изучении азотного баланса до сих пор уделялось изучению азотобактера — аэробного фиксатора азота. Возможно, недооценка роли *Cl. pasteurianum* связана с тем, что его азотфикссирующая активность по сравнению с азотобактером невелика. По данным С. Н. Виноградского (1895), В. Л. Омелянского, М. О. Солунской (1915), В. Т. Емцева (1961) и А. П. Романовой (1961), эффективность фиксации  $N_2$  у *Cl. pasteurianum* в основном не превышает 3 мг  $N_2/g$  использованного сахара, в то время как у азотобактера она достигает 15 мг  $N_2$ . Тем не менее судить об азотфикссирующей активности *Cl. pasteurianum* по цифрам, полученным на искусственных питательных средах, и относить это к его деятельности в естественных природных условиях не совсем правильно.

По данным Розенблюма, Вильсона (Rosenblum a. Wilson, 1950) и Паркера (Parker, 1954), в благоприятных условиях эффективность азотфиксации у *Cl. pasteurianum* почти равна таковой у азотобактера.

В настоящее время нет надежного метода, обеспечивающего учет различных видов азотфикссирующих бактерий рода *Clostridium*, поскольку среди Виноградского не является строго элективной для *Cl. pasteurianum*. Рядом исследований (Мак-Кой и др.— McCoy a. oth., 1928; Rosenblum a. Wilson, 1949; Омелянский, 1953, и др.) установлено, что способность фиксировать азот атмосферы не является свойством только *Cl. pasteurianum*, а присуща многим непатогенным маслянокислым бактериям рода *Clostridium*. Это обстоятельство дает возможность, не расчленяя анаэробные азотфиксаторы на отдельные виды, изучить группу в целом, и таким образом глубже познать роль всех анаэробных азотфиксаторов в жизни водоемов.

Цель настоящей работы изучить распространение анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в различных водоемах среднего Днепра в связи с условиями обитания. Устанавливалось также отношение исследуемых микроорганизмов к высшей водной растительности.

В настоящем сообщении представлены данные, собранные в русле Днепра (у с. Григоровка, Бучаки и Васильков), в затонах Беловод и Васильков и в пойменном озере Верхний Уступ.

Участок среднего течения Днепра в районе стационарных исследований отличается развитием проточно-островной поймы реки. Именно на этом отрезке реки проточно-островная пойма наиболее типична и характеризуется максимальным выражением аллювиального процесса. Она расчленена на множество островов; пойменные водоемы разнообразны, большинство из них представляет собой либо заглохшие староречья, либо водоемы, возникшие в результате продольной эрозии поймы, вызванной весенними потоками.

Исследуемые затоны (Васильков и Беловод) в меженный период соединяются с руслом Днепра узким (5—7 м) и мелким протоком. Вследствие заноса нижней части затонов аллювием их связь с рекой постепенно теряется и они превращаются в замкнутые озероподобные пойменные водоемы. По берегам затонов произрастает пойменный лес. Течение в них почти отсутствует.

Пойменное озеро Верхний Уступ расположено у коренного берега на притеррасной пойме. Озеро малопроточное, в связи с чем в нем происходит накапливание илов. Слоны коренного берега в этом месте покрыты молодым грабовым лесом. Отсюда в озеро поступают ключевые воды. Все поверхностные стоки прежде, чем попасть в озеро, проходят сквозь лесную подстилку. В отдельные годы в паводковый период озеро соединяется с Днепром, что и наблюдалось в 1963—1964 гг.

Пробы воды для микробиологического анализа отбирали прибором Исаченко в одно и то же время дня. Численность анаэробных азотфиксаторов в исследуемых водоемах определяли методом предельных разведенений на модифицированной среде Виноградского для *Cl. pasteurianum* с добавлением на 1 л среды 1 мл раствора микроэлементов, 1 мл дрожжевого автолизата, 2 г агар-агара и 0,01% трилон-Б. Развитие анаэробных азотфиксаторов в культуре устанавливали по выделению газа, появлению масляной кислоты и микроскопированию осадка. При определении количества клеток в 1 мл использовали таблицы Мак-Креди (Селибер, 1962).

Для характеристики гидрохимического режима водоемов определяли содержание растворенного в воде кислорода, pH, содержание органического вещества и общий азот. Указанные определения производили в нефильтрованной воде. Активную реакцию среды (pH) устанавливали колориметрическим методом; содержание растворенного в воде кислорода определяли методом Винклера; содержание органического вещества — двумя методами: перманганатным по Кубелю и бихроматным по Тюрину-Николаевой (Драчев и др., 1953); общий азот — микрометодом Вагнера-Парнаса (Парнас, 1949).

Вода Днепра на исследуемом участке относится к гидрокарбонатному классу кальциевой группы второго типа  $C_{II}^{Ca}$  (Денисова, 1964). Глубина Днепра здесь не превышает 4,5 м. Температура воды в период исследования в подавляющем большинстве случаев в поверхностных и придонных слоях была одинаковой и равной 21—20°. Лишь в единственном случае у Василькова она повышалась до 25° (см. таблицу). Активная реакция среды (pH) на русловых участках Днепра в поверхност-

ных и придонных слоях также была одинаковой и составляла 8,2—8,6, в редких случаях снижаясь до 7,8.

Содержание кислорода в поверхностных слоях воды составляло 7,4—11,4 мг/л, что соответствует 81—124% насыщения; в придонных — оно было либо таким же, либо на 2% ниже.

Перманганатная окисляемость (ПО) составляла в поверхностных слоях 8,9—10,4, в придонных — 9,3—11,0 мгО/л. Содержание органических веществ, определяемое бихроматным методом (БО), составляло в поверхностных слоях 21,2—37,8, в придонных — 21,5—33,6 мгО/л. Сопоставление перманганатной и бихроматной окисляемости в некоторой степени позволяет дать генетическую характеристику органического вещества природных вод. Если в водоеме превалируют гумусовые биохимические стойкие вещества, то  $\frac{\text{ПО}}{\text{БО}} \% > 50$ , в случае преобладания органических веществ планктонной природы  $\frac{\text{ПО}}{\text{БО}} \% < 50$  (Скопинцев, 1950).

Выражая содержание органического вещества в Днепре в исследуемый период через  $\frac{\text{ПО}}{\text{БО}} \%$ , получаем для поверхностных слоев водной толщи 24—46, для придонных — 28—49. Эти данные свидетельствуют о том, что на русловых участках Днепра преобладает органическое вещество планктонной природы.

Анализируя содержание органического вещества в августе 1963 и 1964 гг. по отношению ПО к БО в %, можно отметить, что в 1964 г. на исследуемом участке вопрос процент органического вещества растительного происхождения. И в приведенных выше пределах рассматриваемого отношения —  $\frac{\text{ПО}}{\text{БО}} \%$  для поверхностных и придонных слоев водной толщи (август 1963—1964 гг.) и при сравнении  $\frac{\text{ПО}}{\text{БО}} \%$  в каждом отдельном случае — в поверхностном и в придонном слоях воды — видна тенденция к увеличению органических веществ растительного происхождения в придонных слоях.

Различным в поверхностных и в придонных слоях было содержание общего азота: в поверхностных — 1,1—3,0, в придонных — 0,4—1,26 мг/л.

При таких абиотических условиях численность анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в поверхностных слоях воды (август 1963 г.) составляла 25 кл/мл, в придонных она была в большинстве случаев такой же, реже — в 2—5 и даже в 10 раз выше. В августе 1964 г. численность исследуемых микроорганизмов в поверхностных слоях возросла до 130—600 кл/мл; в придонных она была такой же, как в поверхностных, реже — в четыре раза выше. Такое значительное увеличение численности исследуемых азотфиксаторов в поверхностных и в придонных слоях русла Днепра в 1964 г. могло быть результатом увеличения органического вещества растительного происхождения в этот период (см. таблицу), что вполне логично, поскольку энергетическим веществом для исследуемых бактерий являются вещества растительного происхождения.

Изучение зависимости распространения анаэробных азотфиксаторов в различных водоемах среднего Днепра от окислительно-восстановительных условий среды (Михайленко, 1966) показало, что повышение их численности у дна связано с более восстановленными здесь условиями, что выражалось более низкими значениями  $r_{h_2}$ .

Численность анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в различных водоемах среднего Днепра

Дата	Место отбора пробы	Слой воды	Глубина, м	Температура воды, °C	рН	Содержание O <sub>2</sub>		ПО, мгO/л	БО, мгO/л	ПО/БО, %	Общий азот, мгN/л	Количество, кл/мл
						мг/л	% насыщения					
Русло Днепра												
Август 1963 г.												
10	У Василькова	Поверхностный	0,5	25	7,8	9,46	109,7	10,4	31,2	33	1,2	25
10	Там же	Придонный	4,5	25	7,8	8,49	98,4	10,2	21,5	47	0,7	130
27	У Василькова	Поверхностный	0,5	20	8,4	10,66	113,0	9,3	37,8	24	1,1	25
27	Там же	Придонный	3,6	20	8,2	10,67	113,0	9,3	27,3	41	0,4	60
29	У Бучака	Поверхностный	0,5	21	8,6	11,45	124,0	9,2	21,2	43	1,5	25
29	Там же	Придонный	3,0	21	8,6	11,63	126,0	9,3	24,6	37	1,1	25
30	У Григоровки	Поверхностный	0,5	21	8,6	11,14	120,6	8,9	27,0	32	3,5	25
30	Там же	Придонный	1,8	21	8,6	10,99	119,0	9,4	33,6	28	0,4	250
Август 1964 г.												
3	У Бучака	Поверхностный	0,5	22	8,2	7,40	81,0	9,4	27,0	34	—	250
3	Там же	Придонный	2,3	21	8,2	7,20	79,0	9,6	24,5	39	—	250
31	У Василькова	Поверхностный	0,5	20	8,2	9,30	99,9	9,9	21,2	46	2,6	600
31	Там же	Придонный	4,5	20	8,2	9,46	100,7	11,0	22,5	49	1,26	600
31	У Бучака	Поверхностный	0,5	20	8,2	9,71	103,4	9,6	30,7	31	1,5	130
31	Там же	Придонный	3,2	20	8,2	9,54	101,5	9,7	24,5	39	1,0	600
Затоны												
Август 1963 г.												
5	Васильков—верхний пles	Поверхностный	0,5	25,0	7,7	9,52	110,4	12,38	27,3	45	1,7	6
5	Там же	Придонный	4,3	22,0	7,3	0,74	8,1	12,06	24,6	49	—	60
9	Васильков—нижний пles	Поверхностный	0,5	25,0	7,6	9,37	108,7	11,95	31,2	38	1,5	2
9	Там же	Придонный	3,2	22,5	7,2	0,31	3,4	11,03	28,1	39	3,0	250
6	Беловод	Поверхностный	0,5	25,0	7,7	9,32	108,1	11,82	45,7	25	1,8	50
6	Там же	Придонный	3,5	18,0	6,9	0	0	13,49	45,7	29	2,4	60 000
19	Васильков—верхний пles	Поверхностный	0,5	21,5	7,6	6,68	73,0	10,32	29,1	35	1,7	6
19	Там же	Придонный	3,0	21,5	7,4	2,54	27,7	11,68	30,6	38	1,4	25 000
26	Васильков—нижний пles	Поверхностный	0,5	20,0	7,9	8,40	89,4	9,78	31,3	31	1,5	500
26	Там же	Придонный	2,3	20,0	7,7	0,50	5,3	8,64	29,1	29	1,8	6 000
26	Беловод	Поверхностный	0,5	20,0	—	8,04	85,6	8,35	29,1	28	2,1	50
26	Там же	Придонный	3,0	20,0	—	4,73	50,3	8,93	27,0	33	3,0	25 000
Август 1964 г.												
27	Васильков—верхний пles	Поверхностный	0,5	18,0	7,7	7,40	75,9	9,50	22,5	42	1,5	2
27	Там же	Придонный	4,0	18,0	7,7	6,57	67,4	9,34	24,5	38	2,1	25
27	Беловод	Поверхностный	0,5	18,4	7,7	8,08	83,5	9,18	24,9	36	1,3	2
27	Там же	Придонный	3,2	18,0	7,7	7,17	73,6	9,02	28,1	32	1,5	6
Пойменное озеро Верхний Уступ												
Август 1963 г.												
2	У коренного берега	Поверхностный	0,5	24,0	7,8	5,20	59,0	15,80	39,50	40	1,7	6
3	Середина озера	Тот же	0,5	25,0	7,7	6,90	80,0	15,00	33,40	44	1,8	25
3	Там же	Придонный	2,8	23,0	7,0	1,30	14,5	16,10	48,60	33	3,3	250
18	У коренного берега	Поверхностный	0,5	23,0	7,5	6,11	68,0	13,70	37,40	36	0,9	5
20	Середина озера	Тот же	0,5	23,5	7,6	5,70	64,0	12,80	54,00	23	0,7	6
20	Там же	Придонный	2,3	21,5	7,3	0,16	1,7	14,10	47,80	29	2,4	13
Август 1964 г.												
1	Середина озера	Поверхностный	0,5	23,0	7,8	7,70	86,0	11,50	22,20	52	1,8	60
1	Там же	Придонный	2,8	21,0	7,2	3,00	32,0	11,80	21,00	56	2,8	250
25	» »	Поверхностный	0,5	18,0	7,5	6,55	67,0	11,56	22,80	50	1,0	25
25	» »	Придонный	2,7	18,0	7,3	5,20	53,0	11,40	29,50	38	2,0	130

Иными были численность и вертикальное распределение бактерий рода *Clostridium* в затонах (см. таблицу). Глубина исследуемых затонов Беловод и Васильков не превышала 4,5 м. В отличие от реки здесь в первой половине августа отмечена температурная стратификация. Температура воды в поверхностных слоях составляла 25, в придонных она снижалась до 20,0—22,5°, а на отдельных станциях, вследствие поступления в этих местах со дна затона холодных ключевых вод, — до 18°. Со второй половины августа температура в поверхностных и в придонных слоях затонов начинала выравниваться и составляла в 1963 г. 20,0—21,5, в 1964 г. — 18°.

Активная реакция среды (рН) в поверхностных слоях воды затонов составляла 7,6—7,9, в придонных — в подавляющем большинстве случаев рН было несколько ниже. В августе 1963 г. в затонах наблюдалась резкая стратификация в содержании кислорода в поверхностных и в придонных слоях воды, вследствие отсутствия течения и перемешивания. В поверхностных слоях содержание кислорода составляло 6,68—9,5 мг/л, что соответствует 73—110% насыщения; в придонных — оно в основном не превышало 0,7 мг/л — 8,1%, реже возрастало до 27—50% насыщения. В августе 1964 г. значительной стратификации в содержании кислорода не наблюдалось вследствие резкого похолодания и ветра. Температура в поверхностных и в придонных слоях воды упала до 18°, содержание кислорода в поверхностных слоях составляло 75,9—83,5, в придонных 67,4—73,6% насыщения.

В поверхностных слоях воды затонов  $\frac{\text{ПО}}{\text{БО}} \%$  в 1963 г. составляло 25—45, в придонных оно возрастало до 29—49, что свидетельствовало о повышении содержания органического вещества растительного происхождения в придонных слоях затонов. Та же тенденция наблюдалась при сравнении  $\frac{\text{ПО}}{\text{БО}} \%$  в поверхностных и в придонных слоях в каждом отдельном случае (см. таблицу). В 1964 г.  $\frac{\text{ПО}}{\text{БО}} \%$  в поверхностных слоях воды составляло 36—42, в придонных — 32—38. Однако, поскольку количество исследований в 1964 г. было недостаточным, к тому же проводились они в холодную ветреную погоду и при волновом перемешивании, делать вывод об уменьшении органического вещества растительного происхождения в придонных слоях затонов в этот период не следует.

Содержание общего азота в исследуемый период в придонных слоях было выше, чем в поверхностных.

Вертикальное распределение анаэробных азотфиксаторов в затонах было неравномерным. В поверхностных слоях их численность составляла 2—500 кл/мл; в придонных — она всегда была выше (в 12—1200, а в отдельных случаях даже в 4000 раз и более) и составляла 25—60 000 кл/мл. Интересно, что в некоторых случаях численность анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в придонных слоях повышалась в 1200 раз несмотря на снижение температуры в них на 7°.

Повышение численности анаэробных азотфиксаторов р. *Clostridium* в придонных слоях в целом ряде случаев совпадало с увеличением здесь общего азота.

Можно полагать, что неравномерное вертикальное распределение анаэробных азотфиксаторов с резким повышением их численности в придонных слоях вызывается резким снижением содержания кислорода у дна затонов, рН и повышением содержания органического вещества растительного происхождения, что благоприятно сказывается

на размножении исследуемых микроорганизмов. Снижение содержания кислорода в придонных слоях почти всегда сопровождалось снижением в них  $rh_2$  (Михайленко, 1966), что свидетельствовало о более восстановленных условиях в придонных слоях по сравнению с поверхностными. Последнее, очевидно, способствовало большей интенсивности размножения анаэробов.

Численность исследуемых микроорганизмов в затонах в августе 1964 г. была значительно ниже, чем в 1963 г. Это понижение могло быть вызвано холодной ветреной погодой в период исследования, вследствие чего температура воды снизилась до  $18^\circ$  и в связи с перемешиванием водных слоев значительно нарушилась стратификация кислорода. Тем не менее и при таких условиях численность анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в придонных слоях затонов была в 3—12 раз выше, чем в поверхностных.

В пойменном озере Верхний Уступ (см. таблицу) вертикальное распределение исследуемых микроорганизмов было сходным с таковым в затонах. Глубина озера в августе 1963—1964 гг. не превышала 3 м. В нем, как и в затонах, отмечена температурная стратификация: температура воды в поверхностных слоях составляла  $23$ — $25^\circ$ , в придонных — она была на  $2^\circ$  ниже. Лишь 25.VIII 1964 г. в поверхностных и в придонных слоях озера температура воды была одинаковой —  $18^\circ$  (температура воздуха в момент отбора пробы равнялась  $15,5^\circ$ ). Активная реакция воды ( $pH$ ) всегда была выше в поверхностных слоях ( $7,5$ — $7,8$ ) и несколько ниже — в придонных ( $7,0$ — $7,3$ ).

Несмотря на небольшую глубину, в озере, как и в затонах, наблюдалась резкая кислородная стратификация вследствие отсутствия течения и перемешивания. Как показали данные анализов, содержание кислорода в поверхностных слоях озера составляло  $5,2$ — $7,7$  мг/л, что соответствует 59—86% насыщения, в придонных — оно снизилось до  $0,16$ — $3,0$  мг/л, что составляет 1,7—32% насыщения. Лишь 25.VIII 1964 г. вследствие сильного ветра разница в содержании кислорода в поверхностных и в придонных слоях озера была менее значительной.

В пойменном озере Верхний Уступ мы не наблюдали четкой тенденции к увеличению органического вещества растительного происхождения в придонных слоях. В августе 1963 г.  $\frac{PO}{BO}$  % составляло 23—44 для поверхностных слоев водной толщи озера и 29—33 — для придонных. В августе 1964 г. это отношение возросло до 50—52 для поверхностных слоев и 38—56 — для придонных.

Как видно из приведенных данных, в августе 1964 г. содержание органического вещества растительного происхождения в озере было выше, чем в тот же период 1963 г.

Содержание общего азота составляло  $0,7$ — $1,8$  мг/л в поверхностных слоях и  $2,0$ — $3,3$  мг/л — в придонных.

Численность анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в оз. Верхний Уступ, как и в затонах, всегда была неравномерной по вертикали, возрастаая от поверхностных слоев к придонным. В августе 1963 г. в поверхностных слоях озера численность исследуемых микроорганизмов составляла  $5$ — $25$  кл/мл, в придонных она возрастала до  $13$ — $250$  кл/мл, т. е. была в 2—10 раз выше. В августе 1964 г. их численность в поверхностных слоях возросла до  $25$ — $60$  кл/мл, в придонных — до  $130$ — $250$  кл/мл. Можно полагать, что одной из причин повышения численности исследуемых бактерий в озере в 1964 г. является увеличение содержания в нем в это время органического вещества растительного

го происхождения. Во всех случаях при увеличении численности анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в придонных слоях озера отмечалось увеличение содержания общего азота.

Таким образом, в оз. Верхний Уступ, как и в затонах, всегда наблюдалось неравномерное вертикальное распределение анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* с увеличением их численности в придонных слоях, где снижалось содержание кислорода и pH, повышалось содержание органического вещества растительного происхождения и, как показано в нашей работе (Михайленко, 1966), снижалось  $r_{h_2}$ .

Нижняя часть озера (около 30% его площади) летом сплошь зарастает высшей водной растительностью. Литораль озера также покрыта зарослями высшей водной растительности.

На этом озере были проведены исследования по выяснению отношения бактерий рода *Clostridium* к высшей водной растительности, для чего было рассмотрено подавляющее большинство растений, населяющих озеро. Подводные части растений отбирались в стерильные чашки Петри. В лаборатории с них делали смывы, которым и производили посевы в указанную выше среду с соблюдением условий стерильности.

Указанные микроорганизмы были обнаружены при посеве листа и стебля кувшинки белой (*Nymphaea alba* L.), веточки роголистника (*Ceratophyllum demersum* L.), листа телореза (*Stratiotes aloides* L.), стебля кубышки желтой (*Nuphar luteum* S. m.), ряски многокоренной (*Spirodela polyrrhisa*), ряски трехдольной (*Lemna trisulca* L.), листа водокраса *Hydrocharis morsus ranae* L.) и веточек элодеи (*Elodea canadensis*). Анаэробные азотфиксаторы рода *Clostridium* были обнаружены при посеве 0,001 г грунта из ризосферы кувшинки белой (*Nymphaea alba* L.) и камыша озёрного (*Scirpus lacustris* L.).

Несмотря на то, что эти исследования носили сугубо качественный характер, наличие анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* на поверхности подводных частей всех растений озера и в их ризосфере позволяет заключить, что связь исследуемых бактерий с высшей водной растительностью, по-видимому, носит симбиотический характер.

## ВЫВОДЫ

1. На русловых участках Днепра, где такие факторы среды, как t, pH и O<sub>2</sub>, практически одинаковы во всей водной толще, анаэробные азотфиксаторы рода *Clostridium* распределялись в основном равномерно по вертикали. Их численность составляла 25—600 кл/мл. Наблюдавшееся в отдельных случаях увеличение численности исследуемых бактерий в придонных слоях было связано с более восстановленными условиями в них.

2. В затонах Днепра, слабо связанных с руслом, и в пойменном озере Верхний Уступ в период исследований наблюдалась стратификация t, pH и O<sub>2</sub> и неравномерное вертикальное распределение исследуемых бактерий. В верхних слоях затонов и озера их численность не превышала 500 кл/мл, в придонных — она возрастала в 2—4000 раз, что в основном зависело от более восстановленных условий в них вследствие значительного снижения содержания O<sub>2</sub> и некоторого снижения pH.

3. Увеличение численности исследуемых бактерий в водоемах в целом ряде случаев было связано с увеличенным содержанием органического вещества растительного происхождения и общего азота.

4. Наличие анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* на поверхности высших водных растений и в их ризосфере дает возможность предположить, что их взаимоотношения носят симбиотический характер и что роль исследуемых бактерий в снабжении растений азотом значительна.

Считаю своим приятным долгом выразить глубокую благодарность профессору А. Г. Родиной за руководство в работе.

### ЛИТЕРАТУРА

- Бершова О. И. 1950. Мікробіологічне дослідження середнього Дніпра. Мікробіол. ж., 12, 3.
- Виноградский С. Н. 1895. Об усвоении свободного азота атмосферы микробами. Арх. биол. наук, 3.
- Гамбарян М. Е. 1958. Ассимиляция молекулярного азота в воде и грунтах озера Севан. Микробиология, 27, 3.
- Денисова А. И. 1964. Отчет по Кременчугскому водохранилищу. Ин-т гидробиол. АН УССР, К.
- Драчев С. М., Разумов А. С. и др. 1953. Методы химического и бактериологического анализа воды. Медгиз.
- Емцев В. Т. 1961. О биологии азотфиксирующих бактерий рода *Clostridium* и питания растений. Тр. Ин-та микробиол., 11.
- Михайленко Л. Е. 1966. Численность анаэробных азотфиксирующих бактерий рода *Clostridium* в водоемах среднего Днепра и окислительно-восстановительные условия среды. Микробиология, 35, 6.
- Омелянский В. Л. 1953. Связывание атмосферного азота почвенными микробами (1923). Избр. тр., 1, Изд-во АН СССР, М.
- Омелянский В. Л., Солунская М. О. 1915. О распространении азотфиксирующих бактерий в русских почвах. Арх. биол. н., 18.
- Парнас Я. О. 1949. Определение азота по методу Кельдаля. Ж. аналит. химии, 4, 1.
- Родина А. Г. 1954. Бактерии в продуктивности каменистой литорали озера Байкал. Тр. проблемных и тематич. совещ., ЗИН, 11.
- Её же. 1958. Микроорганизмы и повышение рыбопродуктивности прудов. Изд-во АН СССР, М.—Л.
- Её же. 1964. Распространение *Clostridium pasteurianum* в водоемах. Изв. АН СССР, серия биол., 5.
- Романова А. П. 1961. К микробиологии озера Байкал; сезонная динамика численности бактерий и процессов круговорота азота в водной толще и грунтах Южного Байкала. Автореф. дисс. канд. биол. н., Иркутск. гос. ун-т.
- Селибер Г. Л. 1962. (Под. ред.) Большой практикум по микробиологии. Госиздат «Высшая школа», М.
- Скопинцев Б. А. 1950. Органическое вещество в природных водах (Водный гумус). Гимиз, Л.
- Сисуева А. Ф. 1963. Азотфіксуючі мікроорганізми води та ґрунтів Кременчуцького водоймища в перший рік після його заповнення. Мікробіол. ж., 26, 2.
- Федоров М. В. 1952. Биологическая фиксация азота атмосферы. Сельхозгиз, М.
- Массой Е., Higby W. a. Fred E. 1928. The assimilation of nitrogen by pure cultures *Clostridium pasteurianum* and related organisms. Ctbl. Bacteriol., 76.
- Parker C. 1954. Non-symbiotic nitrogenfixing bacteria in soil. Austr. J. of agric. research, 5, 1.
- Rosenblum E. a. Wilson P. 1949. Fixation of isotopic nitrogen by *Clostridium*. J. Bacteriol., 57, 4.
- Rosenblum E. a. Wilson P. 1950. Molecular hydrogen and nitrogen fixation by *Clostridium*. J. Bacteriol., 59, 1.

Поступила 15.VI 1965 г.

# ON THE ECOLOGY OF ANAEROBIC NITROGEN-FIXING BACTERIA OF THE GENUS *CLOSTRIDIUM* IN MIDDLE DNIEPER BASINS

L. E. MIKHAILENKO

(Institute of Hydrobiology, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev)

## *Summary*

A study of the distribution of anaerobic nitrogen-fixing bacteria of the genus *Clostridium* in the Middle Dnieper basins in connection with the habitat conditions reveals a number of regularities. In channel areas, where the temperature, pH and O<sub>2</sub> are practically the same throughout the body of water owing to the current, the vertical distribution of the investigated bacteria was mainly uniform; their numbers were 25—600 cells/ml. The increase in numbers of the investigated bacteria in the benthic layers, observed in some cases, was due to conditions of higher reduction. In the backwaters of the Dnieper and in the flood-plain lake, non-uniform vertical distribution of the investigated bacteria was noted in all cases. The increase in their numbers at the bottom by 2—4000 times is due to the conditions of higher reduction in connection with a considerable decrease in oxygen content and some decrease in pH.

The increase in the numbers of investigated bacteria in the basins is correlated in a number of cases with the increase in the contents of organic matter of vegetable origin and of total nitrogen.

The presence of anaerobic nitrogen-fixing bacteria of the genus *Clostridium* on the surface of higher aquatic plants and in their rhizosphere indicates that their relationship is of a symbiotic nature, and that the investigated bacteria play an important part in supplying the plants with nitrogen.