

电离辐射(γ -射线)对自生固氮菌(*Azotobacter*)生理活性影响的研究*

王书锦

王子芳**

(中国科学院林业土壤研究所) (中国科学院微生物研究所)

一、引言

生物有机体在电离辐射作用下,发生很复杂的变化。有的因受到很大的损伤,不能生长繁殖;有的在形态、原生质结构、化学成分、生理特性及生化活性上,特别是合成能力上发生变化^[1,3]。这种变化有两种趋势:一是向着人类有利的方向变化,例如利用电离辐射作诱变剂,在选育产生抗菌素能力强的新菌种方面起着巨大的作用^[4];再如某种酵母,经过照射后产生麦角甾醇的能力提高^[2]等等。另一趋势则向着相反的方向变化,对人们所需要的利用方面无益、甚至有害。因此,了解电离辐射对生物作用的机制,对生物学、医学、农业以及工业的实践中和平利用原子能,具有重要意义^[1]。

自生固氮菌(*Azotobacter*)是土壤中大量存在的一种有益微生物,它是大自然中氮素平衡的积极分子,能够在常温常压下摄取大气中的氮素,合成含氮化合物。它是土壤肥力指示菌之一,而且已被应用作细菌肥料,施用于各种作物,从而提高作物的产量。因此,深入地研究电离辐射对固氮菌生理特性的影响,利用电离辐射对探讨自生固氮菌的固氮途径,定向地培育固氮力不同的生化变异菌株,对进一步研究及在生产实践上具有重要的意义。

应用电离辐射对固氮细菌进行研究的报导目前还很少^[3],苏联学者 E. H. Сокурова 曾用同位素—— β 射线源,如 Sr^{90} 、 Cs^{137} 、 Ce^{144} 和 U^{235} 等的裂片混合物作为根瘤菌和圆褐固氮菌的细胞分裂和基础代谢的刺激剂^[4-6],以及用 Co^{60} 作为 γ -源,照射根瘤菌和圆褐固氮菌有过一些报告^[7],但是没有对其生理生化活性方面进行较深入的研究。为了今后工作上的需要,我们进行了 γ -射线对自生固氮菌生理活性影响的研究。

二、材料与方法

1. 材料 本研究工作中采用了放射性为 130 伦/分钟的 Co^{60} 为 γ -射线源,研究的对象是 *Azotobacter* No. 230 及 *Azotobacter* No. 3 菌株。这两个菌株是由中国科学院林业土壤研究所微生物研究室张宪武、周煦卿、韩静淑等同志于 1952—1954 年从土壤中分得的,经王书锦同志等的鉴定结果, *Azotobacter* No. 230 属 *Azo. vinelandii*, 它每利用一克

本文 1962 年 6 月 28 日收到。

* 曾经参加过本项工作的尚有中南微生物所柯丽华及南京土壤所顾希贤等同志。

** 本项研究工作 1960 年上半年在中国科学院微生物研究所苏联专家 T. C. 列梅卓娃指导下进行的,本文曾受到张宪武教授的指教及审阅,特此致谢。

葡萄糖能固定大气中的氮素 14—18 毫克。在一般条件下, 生长繁殖为对数期时, 以葡萄糖为基质, 其呼吸强度 $Q_{O_2}(N)$ 为 1,000—2,500 微升; 而 *Azotobacter* No. 3 则属 *Azo. chroococcum*, 它每利用一克葡萄糖能固定大气中的氮素 8—12 毫克, 其呼吸强度 $Q_{O_2}(N)$ 为 500—1,200 微升^[8,9]。

2. 方法 首先将自生固氮菌接种在修改过的 Burk's 无氮培养基¹⁾斜面上培养一昼夜(保温 28℃), 然后将菌体移到盛有 50 毫升液体培养基的 300 毫升三角瓶中, 在 28℃ 下保温培养 36 小时。然后取出已培养好的新鲜菌体悬浮液, 用每分钟 3,000 转离心 20 分钟, 弃去上清液, 菌体用 0.2% KCl 溶液搅拌清洗, 再离心 20 分钟, 这样清洗 2—3 次, 所得到的菌体沉淀, 用磷酸的钠盐缓冲液(1/15 M, pH 为 7.2)制成静息细胞悬浮液。将此静息细胞悬浮液分为若干试管(18 毫米 × 180 毫米)。一份不照射作为对照, 其他数份置于 130 伦/分钟 Co^{60} 源的一定距离, 以时间控制照射剂量, 从而获得不同剂量(5, 10, 20 千伦琴)的处理。每次照射用的静息细胞悬浮液的浓度尽可能要一致, 在照射时悬浮液尽量摇匀, 避免细胞间处理不一致, 以及底部如菌体很多时氧的消耗就多^[3], 从而会产生由于照射时氧供应情况的不同而使试验造成差异。

悬浮液经照射后, 立即用平板法测定固氮菌的存活率, 重复 3—5 次。用显微镜直接镜检法测定固氮菌的生长繁殖速度。用瓦勃氏(Warburg)检压法测定其呼吸强度^[12], 呼吸强度以 $Q_{O_2}(N)$ 来表示, 即每毫克菌体氮每小时消耗氧的微升数。在我们的预备试验中确定, 在每一反应瓶中加入菌体氮在 0.3—0.6 毫克较为合适, 当然也随条件与需要的不同而常有修改。

在测总氮与固氮力时, 我们采用了微量凯氏法(Kjeldahl)^[13,14]。并采用 Shaffer-Hartmann-Somogyi 法测定固氮菌对还原糖消耗的能力^[11,15,16]。用 Folin 法测定蛋白质氮^[13,17,18], 用总氮量减去蛋白质氮量作为非蛋白质氮含量的计算。用放射性同位素磷(P^{32})测定自生固氮菌经照射后对磷的吸收速度的影响^[1,19]。用美兰技术及 T. T. C. 法(Triphenyl Tetrazolium Chloride)测定脱氢酶活性^[12,20,21]。

三、结果与讨论

(一) 电离辐射对自生固氮菌存活率的影响

生物有机体经过照射后受到损伤, 这种损伤的大小, 除了辐射剂量以外, 还和生物的种类品系以及处理时或处理前后所处的环境有关。由表 1a 可以看出, *Azotobacter vinelandii* No. 230 菌株比 *Azo. chroococcum* No. 3 菌株对 γ -射线更为敏感, *Azo. vinelandii* No. 230 在经过 5 千伦琴照射后, 死去 40%; 当经过 20 千伦琴照射后, 则死去 80%。但是对 *Azo. chroococcum* No. 3 的相应死亡率分别为 5% 和 34%。

在 γ -射线照射时, 菌体悬浮液中如添加葡萄糖, 则对自生固氮菌遭受射线的损伤具有保护作用。如表 1b, *Azotobacter vinelandii* No. 230 经 γ -射线 20 千伦琴照射后, 其

1) 修改过的 Burk's 无氮培养基成分如下:

K_2HPO_4	0.8 克;	KH_2PO_4	0.2 克;	葡萄糖	20 克;
$MgSO_4$	0.2 克;	$CaCl_2$	0.1 克;	蒸馏水	1,000 毫升;
$FeSO_4$	0.015 克;	$Fe_2(SO_4)_3$	0.005 克;	pH = 7.0—7.2。	
Na_2MoO_4	0.005 克;	檸檬酸钠	0.5 克;		

表 1a 电离辐射对自生固氮菌存活率的影响

处 理	<i>Azotobacter vinelandii</i> № 230				<i>Azo. ch.</i> № 3	
	菌 数 (10 ⁶ 个/毫升)	存 活 率 (%)	菌 数 (10 ⁶ 个/毫升)	存 活 率 (%)	菌 数 (10 ⁶ 个/毫升)	存 活 率 (%)
对照(未照射)	138	100	154	100	21	100
γ-源照射 5Kr	84	61	94	61	20	95
γ-源照射 10Kr	45	32	56	36	17	81
γ-源照射 20Kr	26	19	41	21	14	66

表 1b 葡萄糖对自生固氮菌(*Azo. vinelandii*)存活率的影响

处 理	存活菌数(10 ⁶ 个/毫升)	存 活 率 (%)
对 照 (未照射)	175	100
20Kr (悬浮液)	35	20
20Kr (悬浮液中加 2% 葡萄糖)	94	54

存活率为 20%，在照射时于菌体悬浮液中添加 2% 的葡萄糖，其存活率增加到 54%。

(二) 电离辐射对自生固氮菌繁殖速度的影响

把由琼脂培养基上洗下的菌体，制成静息细胞悬浮液。经放射性钴(⁶⁰Co)照射处理后，分别接种一毫升此悬浮液到一定量的修改过的 Burk's 液体培养基中，28℃ 保温静止培养，每隔一定时间用直接计数法计算其繁殖速度。从表 2、图 1a、图 1b 可以看到 20 小时前后，自生固氮菌的繁殖进入了指数期。*Azotobacter vinelandii* No. 230 在经过 5 千伦琴照射的处理，生长繁殖速度进入指数期的时间接近对照，但经过 10、20 千伦琴照射处理的固氮菌，其进入指数期的时间推迟，并且相应的细胞数目减低，整个指数期的过程也缩短了。从表 2 还可以看出，自生固氮菌受照射的剂量愈大，指数期也愈向后推迟。自生固氮菌生长繁殖机能受到抑制与损伤后，如给以良好的营养与环境条件时，它可以获得机能的恢复。在机能恢复的速度和程度上根据照射剂量的不同也有一定差异，受较高剂量影响，则恢复较慢和较差。图 1a 中各曲线间差异，以及培养 120 小时后趋于接近的现象，都

表 2 电离辐射对固氮菌繁殖速度的影响

培养时间 (小时)	<i>Azo. vinelandii</i> № 230				<i>Azo. ch.</i> № 3	
	未 照 射	5Kr	10Kr	20Kr	未 照 射	20Kr
	菌数 (10 ⁶ 个/毫升)				菌数 (10 ⁶ 个/毫升)	
0	6.0	6.0	6.0	6.0	1.6	1.6
12	7.6	8.4	7.2	5.2	10.0	12.0
18	14.0	18.0	14.0	8.0	36.0	40.0
24	23.0	19.0	16.0	10.0	68.0	60.0
36	—	—	—	—	100.0	64.0
48	2800.0	2300.0	220.0	72.0	240.0	180.0
60	1300.0	1100.0	920.0	580.0	—	—
72	710.0	650.0	300.0	240.0	200.0	180.0
96	700.0	660.0	580.0	350.0	200.0	160.0
120	400.0	340.0	310.0	270.0	180.0	160.0

说明了这种变化。射线照射对 *Azo. chroococcum* No. 3 的影响,其趋势基本上与 *Azo. vinelandii* No. 230 相同(见表 2、图 1b),唯其在生长繁殖初期,经 Co^{60} 照射的,似乎有轻微的刺激作用。

(三) 电离辐射对自生固氮菌利用葡萄糖的影响

自生固氮菌(*Azotobacter*) 由于受到电离辐射的影响,生活机能发生了改变,反映在葡萄糖能源的利用上,也是很明显的。从表 3a、表 3b 可以看出, *Azo. vinelandii* No. 230 及 *Azo. chroococcum* No. 3 经电离辐射后,对葡萄糖利用影响的趋势,是完全一致的,即经电离辐射的菌体的培养利用葡萄糖的能力明显降低。但从个体细胞来看,耗糖量则随电离辐射强度的加大而有增加。这种现象是由于自生固氮菌受电离辐射的影响,在糖代谢系统产生了紊乱和改变。对能利用上不经济的表现。电离辐射对 *Azo. vinelandii* 和 *Azo. chroococcum* 个体细胞的耗糖量的影响有很大差异。经过 20 千伦琴处理,提高前者个体细胞耗糖量 25.5%,后者 5.1%。

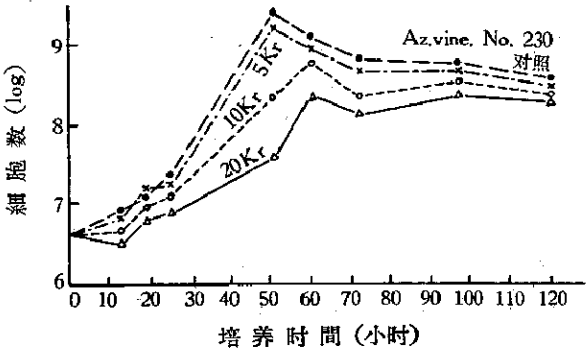


图 1a 电离辐射对固氮菌繁殖速度的影响 (*Az. vinelandii* № 230)

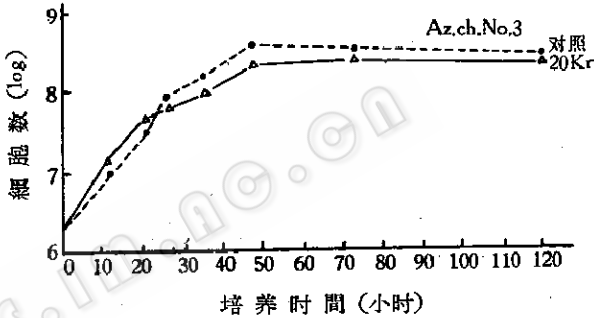


图 1b 电离辐射对固氮菌繁殖速度的影响 (*Az. ch. № 3*)

表 3a 电离辐射对固氮菌(*Azo. vinelandii*)利用葡萄糖的影响

处 理	单位体积内耗糖量		个体细胞耗糖量	
	毫克/毫升	%	微克/每千个细胞*	%
对照(未照射)	18.8	100.0	0.047	100.0
γ -源照射 5Kr	17.9	95.3	0.052	110.6
γ -源照射 10Kr	17.7	94.1	0.057	121.2
γ -源照射 20Kr	15.9	84.5	0.059	125.5

* 活细胞,培养 120 小时后测定,原始接种量皆为 6.0×10^6 个细胞。

表 3b 电离辐射对固氮菌(*Azo. chroococcum*)利用葡萄糖的影响

处 理	单位体积内耗糖量		个体细胞耗糖量	
	毫克/毫升	%	微克/每千个细胞*	%
对照(未照射)	17.8	100.0	0.098	100.0
γ -源照射(20Kr)	16.8	93.2	0.103	105.1

* 活细胞,培养 120 小时后测定,原始接种量皆为 1.6×10^6 个细胞。

从表 3a 与表 3b 还可以看出, *Azo. chroococcum* No. 3 和 *Azo. vinelandii* No. 230 个体细胞的耗糖量很不相同, 分别为 0.098 微克和 0.047 微克, 前者几乎比后者高一倍, 是值得注意的生理现象。

(四) 电离辐射对自生固氮菌固氮能力及蛋白质合成的影响

与耗糖力相对应, 自生固氮菌经 γ -射线源电离辐射后, 固定大气中的氮素的能力及蛋白质的合成能力, 也相应地受到了影响。

从我们的多次实验证明, 固氮菌固定大气氮素的能力, 在电离辐射后一般都变弱, 并随着电离辐射剂量的加大, 其固氮能力也愈变弱(见表 4a)。从表 4b, 还可以见到, 经电离辐射后自生固氮菌培养液中的蛋白质氮与非蛋白质氮的数量发生了变化。经电离辐射后, 总氮量及蛋白质氮量减少, 而非蛋白质氮量则增高。这是由于固氮菌受到电离辐射后, 菌体的代谢系统失调, 固氮能力变弱, 蛋白质合成能力降低, 以及引起较低分子量的含氮化合物的积累所致。

表 4a 电离辐射对固氮菌个体细胞固氮能力的影响

(毫克-氮/克糖 $\cdot 10^6$ 个细胞)

菌 名	培养时间 (小时)	对 照 (未 照 射)	γ -源 照 射 (5Kr)	γ -源 照 射 (10Kr)	γ -源 照 射 (20Kr)
<i>Azo. vinelandii</i> № 230	72	16.9	15.6	13.7	12.8
	120	17.8	17.5	17.2	17.1
<i>Azo. chroococcum</i> № 3	120	8.6	7.4	5.7	4.5

表 4b 电离辐射对固氮菌(*Azo. vinelandii*)含氮物质的影响*

处 理	总 氮		蛋 白 质 氮			非 蛋 白 质 氮		
	毫克/100毫升	%	毫克/100毫升	%	占总氮的%	毫克/100毫升	%	占总氮的%
对 照	33.5	100.0	32.2	100.0	96.1	1.3	100.0	3.1
5Kr	31.3	93.4	28.6	88.8	91.4	2.7	207.7	8.6
10Kr	30.4	90.7	24.9	77.3	81.9	5.5	423.0	18.1
20Kr	27.2	81.0	22.1	68.6	81.2	5.1	392.3	18.8

* 培养 120 小时后测定。

(五) 电离辐射对自生固氮菌同化磷的速度的影响

电离辐射作用下, 自生固氮菌的代谢发生了很大的变化。为了观察自生固氮菌(*Azotobacter vinelandii* No. 230)同化磷能力的变化, 我们采用了放射性同位素磷(P^{32}), 测定其进入细胞体内的速度。在 300 毫升三角瓶中盛修改过的 Burk's 培养基 50 毫升, 灭菌后, 于每瓶中各加等量同位素磷(P^{32}), 结果如表 5, 可以看到经电离辐射影响的固氮菌对磷的同化能力降低, 经 20 千伦琴照射处理后的菌体, 放射性同位素磷(P^{32})只有对照的 90.4%。

表 5 电离辐射对自生固氮菌同化磷(P^{32})速度的影响

试 验 处 理	脉冲数/每微克菌体的干重 $\cdot$ 分钟	百 分 率 (%)
对照(未照射)	6,780	100.0
γ -源照射(20Kr)	6,130	90.4

(六) 电离辐射对自生固氮菌呼吸强度的影响

自生固氮菌(*Azotobacter vinelandii* No. 230)经电离辐射后,内源呼吸加强,氧的吸收增加,二氧化碳的放出也加多,但其呼吸商的变化不大,维持在 1.1 左右(见表 6a)。与此相同, *Azo. chroococcum* No. 3 经电离辐射后,氧吸收也增大(见表 6b)。

表 6a 电离辐射对固氮菌(*Azo. vinelandii* No. 230)呼吸强度的影响

试 验 处 理	内源 $Q_{O_2}(N)$	氧吸收 $Q_{O_2}(N)$	二氧化碳放出	呼 吸 商
对照(未照射)	16.6	1068.7	1169.6	1.09
γ -源照射(20Kr)	28.8	1447.6	1605.4	1.11

表 6b 电离辐射对固氮菌(*Az. ch. No.3*)呼吸强度的影响

处 理	对 照 (未照射)	γ -源照射 (20Kr)
氧 吸 收 $Q_{O_2}(N)$	728.4	1154.2

表 6a 及表 6b 中,基質都为葡萄糖。呼吸强度单位都为微升/小时·毫克氮。

(七) 电离辐射对自生固氮菌在三羧酸循环中主要脱氢酶及琥珀酸氧化酶系活性的影响

Azotobacter vinelandii No. 230 在电离辐射后,三羧酸循环中的主要脱氢酶受到了损害。如表 7 所示,其异柠檬酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶的活性皆因受到 γ -射线的照射减弱,甚至完全丧失。随着照射剂量的加大,遭到损伤的程度就愈大,脱氢酶也就愈早的失去了它的活力。

表 7 电离辐射固氮菌三羧酸循环中主要脱氢酶活性的影响

基 质	苹 果 酸						异 柠 檬 酸						琥 珀 酸					
	10	20	30	60	120	240	10	20	30	60	120	240	10	20	30	60	120	240
1/200 T. T. C. 变色时间(分钟)																		
对照(未照射)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
γ -源照射(5Kr)	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
γ -源照射(10Kr)	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
γ -源照射(20Kr)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

由于这些脱氢酶的活性降低或失活,三羧酸循环中的相应的生物化学反应因而减弱,或显著降低,或甚至中止。由于异柠檬酸脱氢酶活性的降低或失活,就会使菌体中由异柠檬酸经草酰琥珀酸形成 α -酮戊二酸的生物学过程降低或中止。因而影响 *Azotobacter vinelandii* No. 230 菌株对谷氨酸的合成。琥珀酸脱氢酶活性的改变及琥珀酸脱氢作用的减低(图 2)就会影响菌体中延胡索酸的合成,从而也就会影响到天门冬氨酸的合成。琥珀酸脱氢酶直接与细胞色素联接,细胞色素的各种成员都参加到这种反应。琥珀酸脱氢酶及其氧化酶系可以用氰化钾(KCN)作抑制剂,用美兰(MB)或 T. T. C. (Triphenyl Tetrazolium Chloride)作人工氢受体来测定其相对活力^[20,21]。

试验结果如图 3,经过电离辐射后的 *Azotobacter vinelandii* No. 230 的琥珀酸氧化酶系的活性则显著降低。

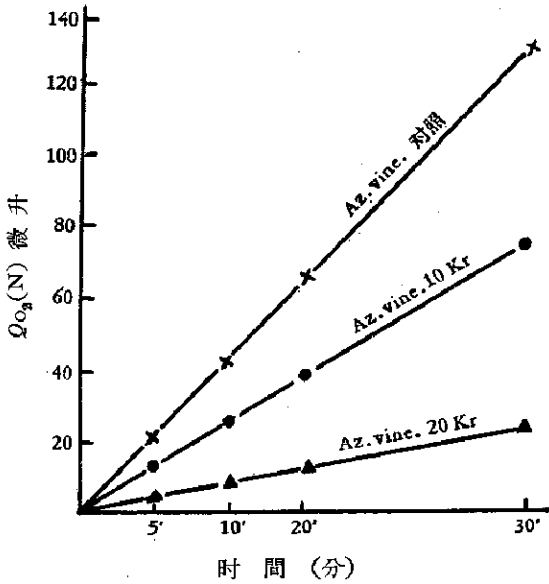


图2 电离辐射对自生固氮菌琥珀酸脱氢酶的影响

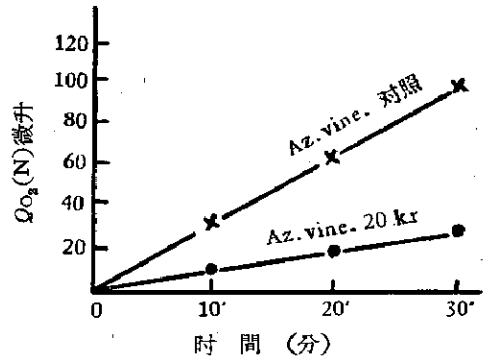


图3 电离辐射对 *Az. vinelandii* No. 230 的琥珀酸脱氢酶及琥珀酸氧化酶活性的影响

总之,由以上的实验结果已初步看出, *Azotobacter vinelandii* No. 230 经电离辐射后,三羧酸循环受到破坏,固氮菌个体细胞的固氮力和合成蛋白质氮的能力也都降低,而个体细胞的呼吸强度及糖的消耗却增大,由电离辐射对于三羧酸循环中的酶活性的影响看来,可能是由于三羧酸循环遭到破坏,菌体不能形成合成自由氨基酸骨架的有机酸,如 α -酮戊二酸、延胡索酸等,因而降低了菌体对蛋白质的合成能力;但实验结果不是以否定电离辐射影响其他固定氮素有关的酶系统的这一可能。

四、结 语

实验结果证明,自生固氮菌对 γ -射线是较敏感的,尤其是 *Azotobacter vinelandii* No. 230,在 5 千伦琴剂量照射时,细胞 40% 死亡;在 20 千伦琴剂量照射时,80% 死亡。*Azo. chroococcum* No.3 对射线的抵抗力较 *Azo. vinelandii* No. 230 为大,在 5 千伦琴照射时,细胞死亡 5%,而用 20 千伦琴照射时,细胞也只死亡 34%。

自生固氮菌受到不同剂量的 γ -射线照射后,繁殖能力减低;三羧酸循环中的主要脱氢酶遭到破坏,细胞固定大气氮素的能力下降,同化磷的能力以及合成蛋白质的能力也降低。相反地经电离辐射后,个体细胞的耗糖量增加,内呼吸加大,氧消耗(或称氧吸收)加强,二氧化碳的放出也较多,而呼吸商则没有什么变化。同时也证明自生固氮菌对大气氮素固定与能量物质的氧化之间,存在着一定的相应的联系。

电离辐射后,自生固氮菌的某些细胞的生理活性、代谢等受到了抑制,有的受抑制程度大,有的小,有的甚至因照射而致死,有的反而有刺激现象。这说明了:在活的单细胞生物中表现有对放射较为敏感的和较不敏感的构造及生化系统,其中包括分布在原生质及其成分中或分布在核中的酶系统^[1],这种较为敏感与较不敏感区域存在的原因,可能是由于固氮菌细胞内生活物质在性质上的差异性,以及它们在细胞内分布不均匀一致所造成的。

电离辐射后对自生固氮菌细胞的性质和形态也发生变化,细胞经照射后产生三种趋势:一部分细胞在良好环境中恢复了生活机能;另一部分则发生变异,产生某些性状与原来不同的新菌株;第三部分则是很难恢复正常生活机能的细胞,即使处在良好的营养条件与环境条件下,最后还是死亡。

参 考 文 献

- [1] М. Н. Мейсель, О биологическом действии ионизирующих излучений на микроорганизмы. Доклады представленные СССР на международн. конфер. по атомн. энергиям в Женеве. М. 1955.
- [2] Р. Д. Гальцова, 电离辐射——麦角甾醇生物合成的刺激剂。1955年7月1日—5日苏联科学院和平利用原子能会议论文集(生物学之部),科学出版社,1956年。
- [3] Т. С. 列梅卓娃, 研究指导时的谈话记录(内部资料)1960年。
- [4] Е. Н. Сокурова, Действие β -излучателей на развитие клубеньковых бактерий. Микробиология. том XXVI, 4, 1957.
- [5] Е. Н. Сокурова, Действие β -излучателей на развитие азотобактера и его физиологическую активность. Микробиология. том XXVI, вып. 5, 1957.
- [6] Е. Н. Сокурова, Сравнительное изучение действия α - и β -излучений на микроорганизмы. Биофизика. том III, вып. 4, 1958.
- [7] Е. Н. 索柯洛娃, 射线对微生物的刺激作用(内部资料),1960年。
- [8] 张宪武等: 自生固氮菌的研究, 土壤微生物学集刊(第1号), 科学出版社, 1957年。
- [9] 王书锦等: 自生固氮菌(Az. 3# 及 Az. 230#)的鉴定及其生理特性(内部资料), 1960年。
- [10] 沙霍夫: 射线对微生物细菌病毒的作用。放射性同位素在农业和生物学上的应用。苏联专家报告资料汇编之三, 上海科学技术出版社, 1959年。
- [11] С. И. 阿里汗扬等: 微生物的放射遗传学与选种学, 放射性同位素在农业和生物学上的应用。苏联专家报告资料汇编之三, 上海科学技术出版社, 1959年。
- [12] W. W. Umbreit, R. H. Burris and J. F. Stauffer, Manometric Techniques. 1957.
- [13] 中国医学科学院: 细菌生理学实验讲义, 1958年。
- [14] Ma, T. S. and Zauzaza, G., Micro Kjeldhal Determination of nitrogen, a new indicator and an improved rapid method. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 14: 280, 1942.
- [15] Saffer, P. A. and Hartmann, A. F., The iodometric determination on copper and its use in sugar analysis. *J. Biol. Chem.*, 45: 349—390, 1920.
- [16] Somogyi, M.: Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 70: 599—612, 1926.
- [17] 吴宪: A new colorimetric method for the determination of plasma proteins. *J. Biol. Chem.*, 51: 33—39, 1922.
- [18] Folin, O. and Ciocalteu, V.: On tyrosine and tryptophane determination in protein. *J. Biol. Chem.*, 73: 627, 1927.
- [19] И. И. Иванов等著, 张友尚等译。放射性同位素在医学和生物学中的应用, 人民卫生出版社, 1957年。
- [20] Hugo, W. B.: The use of 2,3,5, triphenyltetrazolium bromide in determining the hydrogenase activity of Bact. coli. *J. Applied Bact.*, 17(1): 31—37, 1954.
- [21] Sidney, P. Colowick, and Nathan, O. Kaplan.: Method in Enzymology. (I). 1955.

ИЗУЧЕНИЕ О ВЛИЯНИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ (γ -ЛУЧИ) НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ АЗОТОБАКТЕРА

Ван Шун-цин

(Институт лесоводства и почвоведения АН КНР)

Ван Цзы-фан

(Институт микробиологии АН КНР)

Наши опыты показали, что азотобактер более чувствителен к γ -лучам, тем более *Azotobacter vinelandii* № 230. 40 % клеток *Azotobacter vinelandii* № 230 погибли при облучении 5 Кр, а 80 % клеток — 20 Кр. *Azotobacter chroococcum* № 3 более устойчив к γ -лучам по сравнению с *Azot. vinelandii* № 230. При облучении 5 Кр 5 % клеток *Azot. chroococcum* № 3 умерали, а при облучении 20 Кр — 34 % клеток.

У азотобактеров после облучения γ -лучами различных доз способность размножения понижалась. Главные дегидразы, играющие большую роль в трикарбонном цикле, подвергались нарушению. У клеток азотобактера способность к азот-фиксации из воздуха, к усвоению фосфора и синтезу белка понижалась после облучения. Наоборот, после облучения у единичной клетки количество использованного сахара уменьшалось, внутреннее дыхание повышалось, количество использованного клетками кислорода увеличивалось и количество освобожденного CO_2 повышалось, а дыхательный коэффициент не изменился.

После облучения у азотобактера физиологическая активность некоторых клеток и их метаболизм угнетались. Некоторые клетки в значительной степени угнетались, а другие мало угнетались. Некоторые клетки даже умерали после облучения, наоборот, иногда появлялось стимулирующее явление при малой дозе. Это можно сказать, что у каждой клетки имеются чувствительный и менее чувствительный механизм биохимической системы.