

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД

В. Я. КОСТЯЕВ

Биология и экология азотфиксирующих синезеленых водорослей пресных вод

Ответственный редактор
В. К. ШИЛЬНИКОВА



ЛЕНИН РАД
ИЗДАТЕЛЬСТВО „НАУКА“
ЛЕНИН РАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
1986

УДК 582.232 / 581.133 577.472

Костнев В. Я. Биология и экология азотфиксирующих синезеленых водорослей пресных вод. — Л.: Наука, 1986. 136 с.

Монография представляет собой первую в СССР сводку по физиологии, экологии и интенсивности фиксации молекулярного азота синезелеными водорослями в пресноводных экосистемах. В работе анализируются оригинальные и литературные данные по биологии и экологии синезеленых водорослей-азотфиксаторов, их роль в пополнении водных экосистем связанным азотом. В сравнительном плане рассмотрены некоторые данные по физиологии и азотфиксирующей активности симбиотирующих синезеленых водорослей в лишайниках. Библиогр. — 311 назв. Ил. — 48. Табл. — 18.

Рецензенты: А. В. МОНАКОВ, Э. А. ШТИНА

Валерий Яковлевич Костнев

**БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ
СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПРЕСНЫХ ВОД**

Утверждено к печати

Институтом биологии внутренних вод Академии наук СССР

Редактор издательства Л. Н. Сметанина. Художник Г. В. Смирнов

Технический редактор О. В. Любимова. Корректоры С. В. Добрянская и Л. М. Егорова

ИБ № 21391

Сдано в набор 15.05.86. Подписано к печати 24.10.86. М-18915. Формат 60×90¹/₁₆. Бумага офсетная №1. Гарнитура литературная. Печать офсетная. Фото набор. Усл. печ. л. 8,50 ± 0,5 мм. Усл. кр.-от. 8,68. Уч.-изд. л. 10,19. Тираж 800. Тип. зав. 445. Цена 1 р. 50 к.

Орден Трудового Красного Знамени
издательство «Наука». Ленинградское отделение
199034. Ленинград. В-34, Менделеевская линия, 1

Орден Трудового Красного Знамени
Первая типография издательства «Наука»
199034. Ленинград. В-34, 9 линия, 12

К 2001050100-726
042(02)86 226.86 III 1986 г. Издательство «Наука», 1986 г.

59762

ВВЕДЕНИЕ

Весь азот живых организмов планеты практически является результатом биологической азотфиксации.

Проблеме биологической фиксации молекулярного азота во всем мире уделяется пристальное внимание прежде всего как важному источнику азотных удобрений в сельскохозяйственном производстве (Вавилов, 1983; Мишустин и др., 1983). Производство азотных удобрений промышленным способом — чрезвычайно энергоемкий процесс, а цены на нефть и газ, исходные компоненты производства аммиака, непрерывно растут (Finperan, Czuppon, 1982). Кроме того, использование организмами атмосферного азота в процессе азотфиксации в противоположность внесению в почву высоких доз азотных удобрений не приводит к загрязнению окружающей среды.

Организмы-азотфиксаторы — удивительный феномен природы. Действительно, чтобы связать азот атмосферы для получения удобрений промышленным способом, необходимы громадное давление (до 350 атм) и высокая температура (до 500 °C). Однако азотфиксаторы осуществляют этот процесс без всякого технического «драматизма»: при нормальном атмосферном давлении и интервале температур 0—40 °C.

Основным ферментом, осуществляющим процесс восстановления молекулярного азота, является нитрогеназа, по структурной организации и свойствам у различных организмов сходная. Нитрогеназа кроме азотфиксации катализирует также выделение водорода, с которым в настоящее время связывают надежды на пополнение энергетических ресурсов (Кондратьева, Гоготов, 1981).

Хотя истории открытия явления биологической азотфиксации более чем 100 лет, наиболее важные результаты получены лишь в последние 15—20 лет благодаря применению метода меченого азота (^{15}N) и ацетиленового метода.

Проблеме биологической фиксации молекулярного азота посвящены многочисленные исследования, в основном физиолого-биохимического направления (Горюнова и др., 1969; Любимов, 1969; Burns, Hardy, 1975; Postgate, 1978; Гусев, Никитина, 1979; Stewart et al., 1980; Кондратьева, Гоготов, 1981; Newton, 1981; Проблемы фиксации азота, 1982; Молекулярные механизмы..., 1983). В отечественной литературе рассматриваются также вопросы азотфик-

сации у свободноживущих бактерий и в бобово-ризобийном симбиозе (Федоров, 1948; Пшенин, 1966; Мишустин, Шильникова, 1968).

Физиолого-биохимические исследования биологической азотфиксации у различных представителей синезеленых водорослей могут дать ценную информацию о разнообразии путей и условий азотфиксации, что позволит выбрать наиболее оптимальные из них с целью моделирования процесса в промышленных условиях.

Изучение закономерностей распространения и степени азотфиксации у различных водорослей даст возможность использовать наиболее активные азотфиксаторы.

Исследования экологии азотфиксаторов только начинаются. Они позволят оценить размеры и условия азотфиксации, а также роль отдельных групп азотфиксаторов в природе, что даст возможность регулировать этот процесс с целью увеличения поступления азота в различные экосистемы.

У синезеленых водорослей хорошо изучены биохимия азотфиксации, параметры соотношения фотосинтеза и азотфиксации и т. д. Однако в большинстве случаев эти исследования были проведены с нитчатой бентосной водорослью *Anabaena cylindrica*, которая относительно мало распространена в природе. Несмотря на известный консерватизм синезеленых водорослей, было бы преждевременно закономерности, установленные у *A. cylindrica*, полностью переносить на другие виды, так как имеются водоросли с иной биологической организацией и другой экологией.

В настоящей работе анализируются литературные и оригинальные данные по биологии и экологии азотфиксирующих синезеленых водорослей в различных водоемах.

РАЗМЕРЫ АЗОТФИКСАЦИИ, КРУГОВОРОТ АЗОТА В ВОДОЕМАХ, ОРГАНИЗМЫ, ФИКСИРУЮЩИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АЗОТ

Суммарная азотфиксация на Земле равна примерно 2.5 % от годовой продукции фотосинтеза (Gutschick, 1978).

Размеры и значение азотфиксации, в частности для сельского хозяйства, можно видеть на следующем примере. В мировом масштабе с сельскохозяйственной продукцией выносятся из почвы и воды около $110 \cdot 10^6$ т N в год. В почву в виде минеральных удобрений вносится (учтен только эффективный для растений азот) $20 \cdot 10^6$ т N. Недостающий азот в количестве $90 \cdot 10^6$ т ассимилируется растительностью из других источников. Одним из них, по мнению Е. Н. Мишустина (1979а), является биологическая фиксация молекулярного азота. Накопление азота за счет биологической фиксации его свободноживущими организмами (синезелеными водорослями и бактериями) достигает $4.5 \cdot 10^6$ т N в год. Симбиотическая азотфиксация равна $3 \cdot 10^6$ т N в год. Таким образом, за счет азотфиксации в почву поступает $7.5 \cdot 10^6$ т N в год. Общая биологическая азотфиксация (симбиотическая и несимбиотическая) на всей территории СССР приблизительно равна $12 \cdot 10^6$ т N в год (Мишустин и др., 1983). А вклад азотфиксирующих синезеленых водорослей в экономику азота почв нечерноземной зоны СССР составляет 0.5 млн. т N в год (Мишустин, Панкратова, 1974). В 1980 г., например, сельскому хозяйству СССР промышленностью было поставлено около $8 \cdot 10^6$ т N в пересчете на N_2 (Народное хоз-во, 1981).

Суммарная азотфиксация на поверхности Земли и в воде свободноживущими азотфиксаторами, по одним данным (Söderlund, Swensson, 1975, цит. по: Мишустин, 1979б), достигает $200 - 250 \cdot 10^6$ т N в год, по другим — немногим превышает $175 \cdot 10^6$ т N в год (Delwiche, 1970; Gutschick, 1978). Симбиотическая азотфиксация бобовыми растениями оценивается в $35 - 80 \cdot 10^6$ т N в год (Gutschick, 1978), в расчете на гектар она составляет $50 - 150$ кг N в год. Синезеленые водоросли при массовом развитии в почве рисовых полей могут фиксировать до 120 кг N/(га · год) (Мишустин, 1979б). *Anabaena azolla* в симбиозе с водным папоротником *Azolla* фиксирует азот еще интенсивнее — до 45 кг N/га за 20 сут (Greenland, 1981) (табл. 1). На долю других, не фотосинтезирующих организмов, приходится $0.1 - 0.5$ кг N/(га · год) (Gutschick, 1978). В морях и океанах связывается от 20 до $160 \cdot 10^6$ т N в год

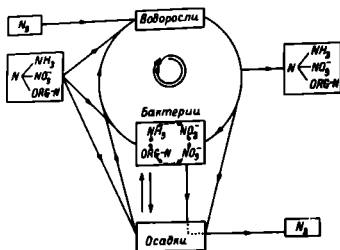


Рис. 1 Цикл азота в водоемах (по: Gollerman, 1975)

(Söderlund, Swensson, 1975, цит. по: Мишустин, 19796). Размеры азотфиксации в водных экосистемах представлены в табл. 1.

Небезынтересно подчеркнуть, что вся азотфиксация в биосфере Земли осуществляется всего лишь несколькими килограммами нитрогеназы, имеющейся в клетках всех азотфиксирующих организмов (Delwiche, 1970).

Не менее важная роль в циркуляции азота в биосфере принадлежит диссимиляторному процессу — денитрификации. Именно в этом процессе возвращается в атмосферу газообразный азот, в результате чего в воде и почве связанный азот не накапливается в большом количестве. Суммарная денитрификация на Земле приблизительно равна интенсивности связывания атмосферного азота (Söderlund, Swensson, 1975, цит. по: Мишустин, 19796). Однако, по другим данным, количество азота, возвращаемого в атмосферу, несколько меньше фиксируемого (Delwiche, 1970).

В водоемах существует круговорот азота, осуществляемый различными микроорганизмами, которые в толще воды занимают определенные экологические ниши (рис. 1; табл. 2).

Фиксированный автотрофными организмами атмосферный азот или ассимилированные из воды его неорганические соединения переходят в белковый азот, который минерализуется микроорганизмами в процессах аммонификации и нитрификации после их отмирания.

В глубоких евтрофных водоемах основная часть органического азота минерализуется до аммиака в процессе аммонификации уже в толще воды. Аммонийный азот или потребляется автотрофами, или же подвергается дальнейшей бактериальной трансформации (нитрификации) хемолитотрофами и превращается в нитратный азот, часть которого усваивается водорослями и растениями. Если

Изменяемость азотфиксации в различных водоемах

| Водоем (страна) | Тип водоема (его переизменяемость) | Азотфиксация | | | | Литературный источник |
|--------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------|---------------------------------------|
| | | мкг N/ (л · сут) | мг N/ (м ³ · сут) | % от N _{ввод} /сут | | |
| | | | | в воде | в клазе | |
| Кристалл (США) | Олиготрофное (д) | 0 | 0 | 0 | — | Russnes, Burris, 1970 |
| Вальдсмер, северный бассейн (Англия) | » (д) | 0,098 | 40* | 1* | — | Horne, Fogg, 1970 |
| Онежское (СССР) | » (д) | 0,3—1,2 | — | 0,05—0,28 | — | Костяев, Бакулина, 1980 |
| Сенте (СССР) | » (д) | 0,3 | 1,4 | 0,03 | 0,0009 | Саралов, 1979 |
| Вальдсмер, южный бассейн (Англия) | Мезотрофное (д) | 2,82 | 280* | 0,1—0,5* | — | Horne, Fogg, 1970 |
| Визгра (США) | » (д) | 12 | — | 0,5 | — | Fogg, 1971 |
| Смит (США) | » (д) | 2,88 | — | 5—10* | — | Billaud, 1968 |
| Озера Латвии (СССР) | » (д) | 0,4—1,3 | 2,0—9,2 | 0,03—0,18 | 0,0007—0,002 | Саралов, 1979 |
| Озера Латвии (СССР) | » (п) | 0,2—1,1 | 0,4—2,4 | 0,01—0,04 | 0,0059—0,0089 | Тот же |
| Рыбное водохранилище (СССР) | » (п) | 5—18 0,8—2,4 (в час) | 18—70 | 0,4—1,7 8* | — | Костяев, Бакулина, 1980 |
| Чиреповское водохранилище (СССР) | » (п) | 5—17 | — | 0,6—2 | 0,0088 | Саралов, 1978 |
| Лажское (СССР) | » (п) | 0,25—1,1 | — | 0,03—2 | — | Тот же |
| Севан (СССР) | » (п) | 55,6 | 0,7—53,6 | 47* | — | Саралов и др., 1983 |
| Кюмюр (СССР) | » (п) | 1,5 | 26,1 | 48* | 0,0004 | Саралов, 1979 |
| Экстафтер (Англия) | » (п) | 0,24 | 37*—290* | 1* | — | Horne, Fogg, 1970 |
| Эрри (Швеция) | » (д) | — | 230—730* | 40—80* | — | Granhall, Lundgren, 1971; Horne, 1978 |
| Сангаури (США) | » (д) | 30 | — | 1 | — | Dugdale et al., 1959 |
| Тот же | » (д) | — | — | 3* | — | Neess et al., 1962 |
| Верхний Каламас (США) | » (п) | — | — | 60* | — | Horne, Goldman, 1972 |
| Мендота (США) | » (д) | 10—40 | 750* | 7* | — | Torrey, Lee, 1976 |
| Кливер-Лейк (США) | » (п) | 46—130 | 108 | 30—40* | — | Horne, Goldman, 1972 |
| Георг (Уганда) | » (п) | — | — | 33* | — | Тот же |
| Тот же | » (п) | — | — | 0,2 | — | Dugdale et al., 1962 |

Т а б л и ц а 1 (окончание)

| Водоем (страна) | Тип водоема (его перемешиваемость) | Азотфиксация | | | | Литературный источник |
|--|------------------------------------|---------------------|---------------------------------|---------------------------|----------------|------------------------|
| | | мкг N/ (л · сут) | мг N/ (м ² · сут) | % от N _{дон-суп} | | |
| | | | | в воде | в мле | |
| Донское (СССР) Лимарь (СССР) Белое (СССР) Озеро Маринской АССР (СССР) | Евтрофное (п) | 62--603 | 62--603 | >50* | 0.0032 | Саралов, Лаушита, 1978 |
| | » (л) | — | 21.3 | — | 0 | Тот же |
| | » (л) | 2.8--5 | 83.1 | — | 0.0002 | » » |
| | » (м) | 2--18.2 | 65.3--131.3 | 0.4--0.6 | 0.0006--0.0009 | » » |

Примечание п — полимикробное, л — амикробное, м — микробное.

* Интенсивность азотфиксации за год

Т а б л и ц а 2

Водные микроорганизмы, осуществляющие азотфиксацию и минерализацию органического азота (по Кузнецов, 1970; Шлегель, 1972; Горленко и др., 1977; Кузнецов и др., 1985)

| Организм | Экологическая ниша в евтрофных водоемах | Процесс трансформации азота | Необходимые условия |
|--|---|--|--|
| Синезеленые водоросли (свободноживущие и симбиотические), фотосинтезирующие бактерии | Эпн.-металлимоний | Азотфиксация $N_2 \rightarrow 2N$ $2N + 3H_2 \rightarrow 2NH_3$ | Сист. азотные, микро-азотфильные |
| <i>Clostridium</i> | Ил, высшая водная растительность | Аммонификация $CH_3NH_2COOH + 1.5O_2 \rightarrow$ $\rightarrow 2CO_2 + H_2O + NH_3$ | Анаэробные |
| <i>Azotobacter</i> и др. | То же | Нитрификация I. $NH_3 + 1.5O_2 \rightarrow 2HNO_2 + H_2O$ II. $KNO_2 + 1.5O_2 \rightarrow KNO_3$ | Аэробные |
| <i>Pseudomonas</i> | Металлимоний | Денитрификация $4KNO_3 + 5C_2H_5O \rightarrow 2K_2CO_3 + 3CO_2 +$ $+ 5H_2O + 2N_2$ | Анаэробные |
| <i>Bacterium</i> spp. | Ил | | NH ₄ -азотные |
| <i>Bacillus</i> spp., <i>Bacterium</i> spp., <i>Nitrosomonas</i> , <i>Nitrosococcus</i> , <i>Nitrobacter</i> | Гипо-металлимоний | | pH 7, нитраты, органическое вещество, анаэробные |
| <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Achromobacter</i> | Гиполимоний, мл | | |

в водоеме имеются подходящие условия (табл. 2), то в процессе денитрификации нитратный азот превращается в молекулярный азот и поступает в атмосферу. Круговорот азота в водоеме повторяется 10—20 раз в год (Gollerman, 1975).

В зависимости от трофии водоемов денитрификация в воде протекает с разной скоростью — от 0 до 488 мкг N/(л · сут) (Gersberg et al., 1980; Vincent et al., 1981; Dahm et al., 1983). В илах активность денитрификации, как правило, на 2—3 порядка выше, чем в воде (Jones, 1979). В Рыбинском водохранилище на поверхности почти всех илов денитрификация достигала 3.1—4 мг N/(м² · сут) (Саралов и др., 1983), а в толще воды этот процесс отсутствовал. В илах Рыбинского водохранилища на ст. Молога азотфиксация составляла 7—8 мг N/(м² · сут) (Саралов, 1979). Способностью фиксировать молекулярный азот обладают различные автотрофные и гетеротрофные организмы. Мы ограничимся рассмотрением группы синезеленых азотфиксирующих водорослей, поскольку они среди низших растений являются основными агентами азотфиксации.

Безгетероцистные виды водорослей фиксируют азот в микроаэрофильных условиях при низких интенсивностях света (Калининская и др., 1981). Что касается водорослей с гетероцистами, то они, по-видимому, все способны к азотфиксации в аэробных условиях. Исключений из этого в доступной нам литературе мы не нашли.

Способность к азотфиксации у синезеленых водорослей впервые была установлена Франком (Frank, 1888) в конце прошлого века. Однако только Дреусу (Drewes, 1928) удалось четко продемонстрировать это на бактериально-чистых культурах синезеленых водорослей *Nostoc punctiforme*, *Anabaena variabilis* и *Anabaena* sp., которые накапливали до 200 мкг N/(л · сут).

Исследование азотфиксации у микроорганизмов сдерживалось несовершенством используемой методики (накопление азота определялось по Кьельдалю). Лишь с появлением метода меченого азота (¹⁵N) (Burriss et al., 1942) началось более планомерное изучение азотфиксации как у чистых культур низших растений, так и в полевых условиях.

Азотфиксирующие водоросли благодаря широкому распространению и массовому развитию играют существенную роль в круговороте азота в водоемах и почвах.

Синезеленые водоросли по строению клетки (отсутствие оформленного ядра, пластид, митоза) и способности фиксировать молекулярный азот аналогичны бактериям-прокариотам. Это дало основание Станиеру (Stanier et al., 1971) назвать синезеленые водоросли «цианобактериями». В микробиологических определителях в настоящее время синезеленые водоросли отнесены к царству *Procarysta*, отделу *Photobacteria*, классу *Bluegreen photobacteria* (Bergey's, 1974).

Однако по химическому составу и метаболизму синезеленые водоросли находятся на более высокой ступени развития, чем

бактерии (Судьина и др., 1978), и имеют много общих черт с типичными эукариотными растениями: наличие хлорофилла «а», бета-каротина, фикобилиновых пигментов (фикоцианина и фикоэритрина), которые найдены также у красных и криptomonадных водорослей (Stanier, Cohen-Bazile, 1977).

В физиологическом отношении синезеленых водорослей с эукариотами сближает наличие двух фотосистем, осуществляющих фотосинтез с выделением кислорода, так как в качестве донора электронов используется вода (Weaver et al., 1980).

Таким образом, синезеленые водоросли включают черты эукариотных и прокариотных организмов, и уже поэтому их можно выделить в самостоятельную группу, поскольку микроорганизмов с такими уникальными свойствами больше нет.

И хотя в настоящее время в литературе, особенно в отечественной, переход на термин «цианобактерии» вместо «синезеленые водоросли» происходит с удивительной легкостью, однако это разделяется далеко не всеми (Седова, Голлербах, 1977; Bourrelly, 1979; Geiller, 1979; Schiewer, 1979). В последнее время все большее число исследователей склоняются к тому, что в систематике синезеленых водорослей необходимо использовать ботанический, а не бактериологический код (Кондратьева, 1981; Friedman, Borowitzka, 1982).

В дальнейшем мы будем придерживаться термина «синезеленые водоросли».

В морфологическом отношении синезеленые азотфиксирующие водоросли разнообразны и включают в себя как простые одноклеточные, так и многоклеточные дифференцированные формы, состоящие из трихомов, гормогониев, гетероцист, спор (акинет) и т. д. Однако в цитологическом плане строение клеток синезеленых водорослей весьма однообразно. Общую картину цитологического строения водорослей можно проиллюстрировать на примере азотфиксирующей нитчатой планктонной водоросли *Anabaena spiroides*, которая в массе развивается в различных водоемах.

В цитоплазме клеток водоросли, кроме центральной ее части, равномерно распределены тилаконды фотосинтетического аппарата и имеется много газовых вакуолей (рис. 2, А*). На поперечных срезах вегетативных клеток *A. spiroides* вакуоли представляют собой заостренные палочковидные полости диаметром (300—400) $\times 10^{-10}$ см. Большая часть газовых вакуолей упакована в виде сотовидных ячеек. В цитоплазме много рибосом, которые встречаются даже между газовых вакуолей. Гетероцисты имеют толстую оболочку и не содержат газовых вакуолей (рис. 2, В). Основная функция газовых вакуолей заключается в обеспечении плавучести планктонных водорослей, что позволяет им вертикально перемещаться в водоеме при изменении освещенности, температуры воды и т. д. Также функцией этих вакуолей может быть защита фотосин-

тезирующего аппарата от фотовыцветания благодаря способности их рассеивать свет.

У некоторых водорослей (*Trichodesmium* sp.) в газовой вакуоли диффундирует кислород, в результате чего создаются микроаэрофильные условия, благоприятные для азотфиксации.

Синезеленые водоросли при неблагоприятных условиях образуют споры, которые при подходящих условиях способны прорасти и образовывать новый трихом водорослей. При спорообразовании у вегетативных клеток водорослей газовой вакуоли исчезают, внутритилакоидные пространства фотосинтетического аппарата становятся узкими и малозаметными (рис. 2, Д). Сформировавшиеся споры у *Anabaena spiroides* окружены оболочкой, неравномерной по толщине (0,2—0,3 мкм). Слегка волнистая цитоплазматическая мембрана обычно отходит от оболочки вследствие обезжизнения клеток. У полюсов споры расположены взаимнозаходящие створки, образующие своеобразный спиральный замок (рис. 2, Д). При прорастании споры, по-видимому, происходит раскручивание спирального образования, и оболочка споры разрывается.

Синезеленые азотфиксирующие водоросли — преимущественно автотрофные организмы. Усвоение ими органических соединений ограничено. В темноте в анаэробных условиях при отсутствии органических веществ синезеленые водоросли практически не растут (Hoare et al., 1971). Важным свойством синезеленых водорослей является выделение ими водорода (Кондратьева, Гоготов, 1981), который может быть использован для поддержания азотфиксации (Bothe et al., 1977).

Синезеленые водоросли благодаря многообразию физиологических функций и возможности быстрой адаптации их к экстремальным условиям заняли разнообразные экологические ниши и поселяются там, где другие водоросли не в состоянии нормально развиваться. Достаточно указать на чрезвычайно широкий температурный диапазон роста водорослей — от минусовых до +90 °C (Hirano, 1965; Watanabe, Yamamoto, 1971). Все синезеленые азотфиксирующие водоросли преимущественно космополиты. Несмотря на большое видовое разнообразие азотфиксирующих водорослей, массовое развитие в различных географических зонах получили 3—4 рода: в толще воды — это виды родов *Anabaena* и *Aphanizomenon* (реже *Gloeotrichia*), в наземных биоценозах — род *Nostoc*, многие виды которого симбиотируют в лишайниках.

Более подробную информацию об эколого-географическом распространении синезеленых азотфиксирующих водорослей можно найти в работах других авторов (Кукк, 1969; Штина, 1969; Панкратова, 1973, 1979, 1982; Гецен, 1985).

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЗОТФИКСАЦИИ

Для определения азота, фиксируемого микроорганизмами, существуют разные методы. Наиболее распространены методы Кельдаля, меченого азота (^{15}N) и ацетиленовый. Метод Кельдаля основан на определении количества накопленного азота. Он наименее чувствителен и поэтому требует длительной экспозиции — до нескольких суток. В настоящее время для измерения размеров азотфиксации он практически не используется. Вторым прямым методом определения азотфиксации служит метод, в котором используется тяжелый изотоп азота и который более чувствителен по сравнению с предыдущим. Однако и при его использовании требуются довольно длительная экспозиция (не менее 24 ч) и высокая численность азотфиксирующих водорослей (несколько миллионов). Впервые метод меченого азота (^{15}N) для определения азотфиксации у водорослей применил Баррис (Burris et al., 1942). Затем после ряда усовершенствований этот метод использовался для прямого определения азотфиксации *in situ* в озерах (Dugdale et al., 1959). Суть его заключается в том, что пробы с микроорганизмами инкубируют в атмосфере меченого азота (^{15}N), затем в азотсодержащих соединениях на масс-спектрометре анализируют изотопный состав (избыток ^{15}N). Повсеместное использование этого метода сдерживается дороговизной ^{15}N , его ограниченным производством (в СССР в год выпускается несколько килограммов изотопа) и сложностью аппаратуры (Тучкевич, 1979; Vose, 1983). В условиях *in situ* (в почве, воде) указанными методами иногда вообще невозможно определить азотфиксацию (хотя она и имеет место), так как не учитываются потери азота за счет микробиологических процессов.

Высокой чувствительностью обладает метод, в котором используется другой изотоп азота (^{13}N), но в условиях *in situ* он не применим из-за короткого периода полураспада — до 10 мин (Meeks et al., 1978).

Прогресс в деле изучения азотфиксации у различных микроорганизмов в немалой степени зависит от совершенства используемых методов. В этом плане наиболее значительным было открытие Шеллхорном и Баррисом (Schöllhorn, Burris, 1966) способности нитрогеназы восстанавливать ацетилен до этилена. Нитрогеназа различных микроорганизмов имеет высокое сродство к ацетилену

($P_m = 0.01$ атм) (Barris, 1982). Ацетилен ингибирует восстановление азота (Rivera-Ortiz, Burris, 1975), т. е. в среде, содержащей ацетилен, восстановления азота не происходит. Является ли ацетилен для нитрогеназы чужеродным субстратом? Полагают, что в эволюционном отношении специфичность нитрогеназы к ацетилену могла возникнуть в системе, осуществляющей детоксикацию ацетилена, присутствовавшего в первичной атмосфере земли (Posigale, 1971). Вероятно, такая способность нитрогеназы к детоксикации ацетилена генетически детерминирована и имеет место только у азотфиксирующих организмов (Streicher et al., 1971). Иными словами, восстановление ацетилена до этилена у различных микроорганизмов — атавистическая функция нитрогеназы. Нитрогеназа помимо ацетилена способна катализировать восстановление также и других соединений: закиси азота, азиды, цианида и метилизотиоцианида (Hardy, Burns, 1973). Однако, кроме восстановления ацетилена, остальные реакции не нашли практического применения из-за токсичности образуемых продуктов.

Реакция восстановления ацетилена до этилена благодаря соответствию с реакцией восстановления молекулярного азота и чрезвычайной чувствительности газохроматографического метода определения ацетилена и этилена в настоящее время широко применяется в различных исследованиях.

Для изучения интенсивности азотфиксации у синезеленых водорослей и бактерий ацетиленовый метод был впервые использован Стюартом (Stewart et al., 1967).

Ацетиленовый метод в 1000 раз чувствительнее изотопного и примерно во столько же раз дешевле (Burns, Hardy, 1975).

Возможность использования ацетиленового метода для измерения нитрогеназной активности базируется на следующем: молекулы азота и ацетилена прикрепляются к нитрогеназе в одном и том же месте (на $Mo-Fe$ — белке);

для редукции ацетилена и азота необходимы одни и те же основные условия — наличие энергии и восстановителей;

при изменении степени восстановления азота пропорционально меняется степень восстановления ацетилена;

процессы восстановления азота и ацетилена в равной степени ингибируются высокими концентрациями водорода (Burris, Hardy, 1972).

Несмотря на положительные стороны ацетиленового метода, существуют определенные ограничения в его применении. Этилен образуется у многих растений и выполняет роль эндогенного регулятора их роста и развития. Образование газа в почве происходит в анаэробных и аэробных условиях при участии микроорганизмов. Концентрация этилена в почвенном воздухе может быть значительна (Smith, 1976). Продуцентами этого газа являются представители эукариот (грибы, дрожжи) и прокариот (бактерии, актиномицеты).

Наряду с процессами образования этилена в природных условиях идут процессы его потребления различными микроорганизма-

ми, относящимися к родам *Mycobacterium* и *Methylosinus* и использующими его в качестве источника углерода и энергии (De Bont, 1975).

Наиболее интенсивно потребление этилена метилотрофами в водоемах происходит при кислой реакции среды в микроаэрофильных условиях при наличии метана. Эти условия ограничивают использование ацетиленового метода. Однако окисление этилена метилотрофами можно предотвратить, если в качестве субстрата для них использовать метанол, формальдегид, формит или водород (Dallon, Whittenbury, 1976). Рекомендуется в условиях *in situ* при интенсивном развитии метанооксиляющих бактерий добавить 0.1 % метанола без изменения состава и концентрации растворенных газов. Такая процедура уменьшает интенсивность окисления образовавшегося этилена в 1.5—2 раза (Саралов, 1979). Весьма обнадеживают результаты опытов, в которых установлено, что наличие в пробах ацетиленового газа предотвращает окисление образовавшегося этилена (Романовская и др., 1980; Knowles, 1981). Указанные примеры синтеза этилена азотфиксирующими организмами или разрушение его микроорганизмами ограничивают использование ацетиленового метода. Поэтому в тех случаях, если есть подозрение, что образуется этилен, необходимо ставить контрольные опыты, в которых ацетилен в сосуды не вводится. Однако, как показали исследования в пресноводных водоемах, эндогенное выделение этилена в воде и илах не оказывает существенного влияния на определение азотфиксации ацетиленовым методом (Кузнецов и др., 1985).

Для осуществления реакции восстановления азота до аммиака ($N_2 \rightarrow NH_3$) необходимо шесть электронов, а для восстановления ацетиленового газа до этилена — два электрона, поэтому конверсионный фактор, принятый для пересчета скорости восстановления ацетиленового газа на скорость восстановления молекулярного азота, теоретически близок к 3, что было установлено у разнообразных азотфиксирующих организмов (Stewart, 1973). Однако не всегда этот фактор равен 3. В зависимости от экологических условий и физиологического состояния водорослей он может варьировать. Петерсон и Баррис (Peterson, Burriss, 1976) у озерных популяций фитопланктона установили, что конверсионный фактор может изменяться от 3 до 7 (в среднем 4.4). Еще большие его вариации наблюдались при изучении азотфиксации у синезеленых водорослей в северной части Тихого океана (Burriss, 1976). Колебание этого фактора от 4 до 6 наблюдалось также и у азотфиксирующих водорослей, симбиотирующих в лишайниках (Horstman et al., 1982; Millbank, 1982).

Восстановление азота до аммиака значительно меньше подвержено влиянию кислорода, чем восстановление ацетиленового газа до этилена. Это объясняется тем, что у некоторых синезеленых водорослей в процессе азотфиксации выделяется водород, который нейтрализует отрицательное действие кислорода. При наличии ацетиленового газа процесс выделения водорода подавлен, поэтому у азотфиксирую-

щих водорослей отсутствует фактор, смягчающий отрицательное действие кислорода. Отношение ацетилена к азоту, равное 6,1 — 7,9 (среднее 7,2), было получено у *Anabaena cylindrica* в анаэробных условиях, что в 2 раза больше теоретически рассчитанного конверсионного фактора. Это связано с тем, что восстановление азота в присутствии ацетилена также подавлено, поэтому все электроны направляются исключительно к ацетилену (Ohmory, Hallori, 1979). Непостоянство конверсионного фактора у различных микроорганизмов может быть следствием не отрицательного влияния ацетилена на них, а тем, что во время длительного инкубирования проб в атмосфере меченого азота (^{15}N) может сильно изменяться состав газовой фазы (Садыков и др., 1983).

Для точного определения скорости азотфиксации идеальным в каждом случае являлось бы измерение конверсионного фактора, что практически невозможно. В большинстве работ при расчете скоростей азотфиксации используют отношение ацетилена к азоту, равное 3. Поэтому величину образовавшегося в опытах этилена делят на 3, а полученное значение принимают за величину фиксированного азота. Обычно определение азотфиксации в водоемах ацетиленовым методом сводится к следующему. Батометром производят отбор воды, которую фильтруют. Концентрат пробы помещают в сосуды небольшого объема, где воздух заменяют искусственной газовой средой. В аэробных условиях она должна состоять из углекислоты, кислорода и ацетилена, в анаэробных — кислород замещается аргоном или другим инертным газом. После необходимой экспозиции измерение образовавшегося этилена производят методом газовой хроматографии. В указанных условиях восстановление ацетилена происходит в субоптимальных условиях. Кроме того, допускают, что этилен нерастворим в воде. Однако этилен растворим в воде, что при определении азотфиксации ацетиленовым методом необходимо учитывать, особенно если водная фаза составляет большую часть объема сосуда (Flett et al., 1976). При $p_{\text{C}_2\text{H}_2}$ около 1 атм и температуре 20 °C в одном объеме воды растворяется 0,122 объема этилена. Переход этилена из водного раствора зависит от объема газовой фазы в сосуде и подчиняется закону Генри.

Количество этилена (в процентах), перешедшего из воды в газовую фазу при данной температуре, равно $[x(100)]/M = 100/[1 + (\alpha A/B)]$, где x — объем газа, переходящего из воды в газовую фазу, мл; M — общий объем газа, растворенный в водной фазе, мл; α — коэффициент адсорбции Бунзена (объем газа, который растворится в 1 мл воды при данной температуре и парциальном давлении, равном 1 атм); A — объем водной фазы, мл; B — объем газовой фазы, мл. Коэффициент α зависит от температуры в состоянии равновесия, но не от температуры инкубации. Процент переноса этилена обратно пропорционален объему водной фазы и прямо пропорционален температуре (рис. 3).

Как правило, увеличения чувствительности метода добиваются концентрированием пробы, в которой содержатся различные орга-

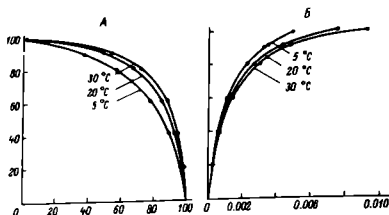


Рис. 3 Интенсивность выхода (А) и содержание (Б) этилена в газовой фазе в зависимости от объема жидкости и температуры (Flell et al., 1976).

По оси ординат — содержание водн. %. По оси абсцисс: А — содержание этилена в газовой фазе, %, Б — концентрации этилена в газовой фазе, мл/мл.

низмы, но этой операции необходимо избегать (см. наст. кн.: с. 19). Тот же результат можно получить увеличением в сосуде водной фазы с микроорганизмами. Однако необходимо, чтобы объем газовой фазы в сосуде был достаточно большой, так как от этого часто зависит продолжительность восстановления ацетилена (Stewart et al., 1968; Waughman, 1972).

Для того чтобы этилен как можно скорее перешел из водной фазы в газовую (установилось равновесие), образец следует встряхивать не менее 20—30 с, без встряхивания это равновесие наступает через 2 ч.

Поскольку измерение азотфиксации в водоемах невозможно без приборной техники, то задача заключается в максимальном приближении к условиям *in situ*.

Обычно при исследовании интенсивности азотфиксации в толще воды пробы концентрируют фильтрованием или центрифугированием, но каждая из этих операций может исказить результаты экспериментов. Вынос пробы с глубины на поверхность может привести к изменению в физиологическом состоянии водорослей, так как на поверхности иные световые и температурные условия, чем в толще воды. Интенсивное перемешивание при сливе проб из батометра усугубляет ситуацию. Концентрирование проб фильтрованием противостоит, так как в этом случае «жизненное пространство» гидробионтов сужается в 50—100 раз, а концентрация их во столько же раз увеличивается. Соответственно этому меняются взаимоотношения между гидробионтами, а концентрация биогенных элементов в расчете на единицу водорослей резко уменьшается. При фильтровании нитчатые синезеленые водоросли гравмируются, ломаются около гетероцист, что подавляет их активность кислородом. При концентрировании пучков *Arhaphizo-*

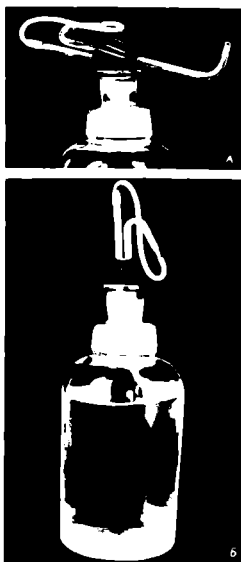


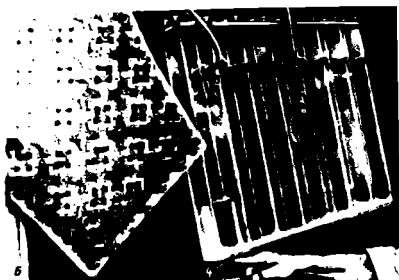
Рис. 4. Установка для определения диффузионности воды
в биомембране геля.

menon flos-aquae происходит их распад на отдельные нити и тем самым нарушаются благоприятные для азотфиксации микроэкофильные условия, господствующие в центре колонии (Leonardson, 1983).

Наши опыты, проведенные в Рыбинском водохранилище при массовом развитии *Aph. flos-aquae* показали, что при фильтровании



А



Б

Рис. 5. Устройство для определения азотфиксации в присутствии макрофитов. А — общий вид. Б — заполнение ampouл ацетиленом. В — отбор из ampouл образцов широким элином. (Остальные объяснения в тексте)

воды степень азотфиксации снижается в среднем в 2 раза. Если же пробу концентрировать из большого объема воды (500 мл), а фильтрат помещать в сосуды небольшого объема (15—20 мл), то это приводит к снижению интенсивности азотфиксации в 10—15 раз по сравнению с ее интенсивностью в сосудах с объемом воды,



Рис 5 (продолжение)

равным отфильтрованному. При определении азотфиксации *in situ* в воде нами применялись стеклянные сосуды емкостью 1 л (рис. 4). После заполнения водой из батометра без фильтрования сосуды закрывали резиновой пробкой с двумя стеклянными трубками. Через одну из них (длинную) сосуд заполняли ацетиленом. Отверстия трубок закрывали и сосуды экспонировали в условиях *in situ*.

После определенной экспозиции образовавшийся этилен отбирали путем вытеснения его водой из сосудов через короткую трубку в пенциллиновые пузырьки. Количество этилена определяли на газовом хроматографе. При оценке азотфиксации можно использовать или высоту пика содержащего этилена на хроматограмме (Hardy et al., 1968), или же его площадь (Schöllhorn, Burris, 1967).

Дальнейший расчет производят по формуле

$$N = \frac{KV_s \cdot 28.05}{V_g \cdot 3} + c,$$

где N - количество фиксированного азота, г; K - калибровочный коэффициент, равный концентрации ацетилена, моль; V_g - объем газовой фазы в сосуде, мл; V_s - объем пробы, мл; 28.05 - молекулярная масса этилена; 3 - конверсионный фактор (см. приложение 14); c - количество этилена, растворенного в жидкой фазе.

Для расчета интенсивности азотфиксации в толще воды по 1 м² может быть использована следующая формула (Саралов 1975): $A = (a_1 + a_2 \cdot 1.5) \cdot P + a_2 \cdot 2 (24 - P) + a_3 \cdot (H - 2) \cdot 24$, где A — суточная азотфиксация под 1 м², мг N/ (м² · сут); a_1 — азотфиксация в пробе из двухметрового слоя воды на свету; a_2 — то же в темноте, мг N/ (м² · ч); H — глубина водоема, м; P — продолжительность светлого периода суток, ч; a_3 — азотфиксация в смешанной пробе из слоя воды $H - 2$ м, мг N/ (м² · ч).

Важным моментом при работе с ацетиленовым методом является выбор продолжительности экспозиции, так как ацетилен подавляет восстановление азота и тем самым предотвращает синтез аммиака, т. е. вызывает азотное голодание азотфиксирующих организмов. Кроме того, в длительных экспозициях с ацетиленом непропорционально увеличивается скорость его восстановления, что может привести к переоценке размеров истинной азотфиксации (David, Fay, 1977).

Рекомендуемая продолжительность опытов с синезелеными водорослями — несколько часов. Считается, что за это время азотного голодания у них не наступает. Указанные рекомендации были сделаны на основе опытов с чистой культурой водоросли *Anabaena cylindrica* при росте ее на искусственных средах без минерального азота. При определении скорости азотфиксации по реакции восстановления ацетилена необходимость коротких экспозиций оправдана. Однако в полевых условиях короткие экспозиции часто бывают недостаточными, так как в природе исследователь имеет дело с гетерогенными по биологии организмами-азотфиксаторами, у которых время насыщения нитрогеназы ацетиленом различно. Например, у синезеленых водорослей родов *Nostoc*, *Gloeotrichia* и других имеется мощная слизь, которая препятствует проникновению ацетилена в водоросли. У высших водных растений, симбиотирующих с азотфиксаторами, вследствие медленной диффузии ацетилена через ткани растений азотфиксация проявляется лишь после лаг-периода, через 10—24 ч с момента введения ацетилена (Patriquin, 1978). Поэтому в каждом случае исследователь должен экспериментально выбирать необходимую экспозицию, достаточную для насыщения нитрогеназного комплекса субстратом и не слишком длительную, чтобы организмы не испытывали азотного голодания. Однако в условиях *in situ*, вероятно, не следует опасаться азотного голодания, поскольку в водоемах даже летом всегда имеются небольшие концентрации минерального азота, которые не ингибируют азотфиксацию.

Азотфиксирующие микроорганизмы распространены не только в воде, но и обрастают высшие водные растения. Поэтому для того чтобы иметь представление о размерах азотфиксации в водоемах, необходимо знать ее интенсивность не только в воде, но и в присутствии высших водных растений. Последнему вопросу посвящено незначительное количество работ, выполненных главным образом в морях и соленых болотах (Jones, 1974).

Как правило, исследования проводят в сосудах небольшого объема с отдельными частями растения. Наиболее существенные недостатки указанного способа следующие: небольшие объемы сосудов не позволяют исследовать целые растения (последнее очень важно, так как в разных частях даже одного растения азотфиксация существенно различается, что не позволяет получать объективные сравнительные данные); для прекращения реакции (восстановление ацетилена в этилен) в сосуды вводят ингибитор (фиксатор). Однако известно, что ни один из существующих фиксаторов не способен надежно подавить реакцию. Кроме того, сосуды, в которые введен фиксатор, нельзя многократно использовать в условиях экспедиции. Если же растения не фиксируются, то при отборе газа для анализа используют специальное устройство.

Предлагаемые нами сосуды для экспонирования растений в условиях водоема с целью определения интенсивности азотфиксации ацетиленовым методом лишены указанных недостатков (Костяев, 1983).

Прямоугольные сосуды, каждый объемом 2,4 л, длиной 500 мм, шириной 87 мм и высотой 56 мм, соединены в блок. Длина блока 700 мм, ширина 520 мм, высота 60 мм. Сосуды (количество их может быть произвольным) изготовлены из прозрачного оргстекла и закрываются общей крышкой (рис. 5). Заполнение сосудов с растениями ацетиленом производят через отверстие 3 путем слива определенного количества воды из сосудов через отверстие 4.

Продолжительность экспозиции в водоеме устанавливают экспериментально в зависимости от температуры воды и мощности вбрасывания растений азотфиксирующими организмами. Отбор образовавшегося этилена из сосудов производят через отверстие 4 путем вытеснения его водой в пенициллиновые пузырьки.

Отобранный газ анализируют в лаборатории на газовом хроматографе, а затем производят пересчет его на весь объем газовой фазы в камере, который равен разнице объемов сосуда и растений с водой. Количество фиксированного азота рассчитывают на грамм сухой массы растений по формуле (см. наст. кн.: с. 19).

Во всех опытах не было обнаружено эндогенного выделения этилена всеми исследованными растениями. Однако периодически необходимо контролировать возможность этого процесса, особенно у тех растений, которые не исследовались.

Несомненно, предлагаемое устройство может найти применение и тогда, когда у растений исследуют интенсивность газообмена (фотосинтез, дыхание).

Глава III

МЕХАНИЗМ ФИКСАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА СВОБОДНОЖИВУЩИМИ И СИМБИОТИЧЕСКИМИ СИНЕЗЕЛЕННЫМИ ВОДОРОСЛЯМИ

Условия азотфиксации. Молекула азота чрезвычайно прочна и инертна. В промышленных условиях синтез аммиака из азота по способу Габера—Боша осуществляется при температуре 400—500 °С и давлении до 350 атм. У азотфиксирующих организмов возможность восстановления молекулярного азота при обычных условиях обусловлена высокой эффективностью ферментного комплекса — нитрогеназы, ответственной за процесс азотфиксации. Нитрогеназа состоит из двух компонентов: молибден-железосодержащего белка (Mo—Fe-белок, или молибдоферредоксин) и железосодержащего белка (Fe-белок, или азоферредоксин). Исходя из функций, выполняемых указанными компонентами, Fe-белок может быть назван редуктазой нитрогеназы, а Mo—Fe-белок непосредственно нитрогеназой (Ludden, Burris, 1979).

Fe-белок служит как накопитель и переносчик электронов от внешнего восстановителя к Mo—Fe-белку, который является акцептором электронов, передающим их непосредственно на восстанавливаемые субстраты (Nordlund, 1979).

Азотфиксация — восстановительный процесс. Восстановление азота нитрогеназой протекает по уравнению $N_2 + 8e + 8H^+ + 8ATP = 2NH_3 + H_2$ (Evans et al., 1978). Из этого уравнения следует, что только 75 % электронов (шесть электронов) внешнего восстановителя участвуют в реакции с азотом, а другие 25 % (не менее двух) расходуются на сопряженное выделение водорода.

Помимо азота нитрогеназа катализирует восстановление ряда соединений — протонов, ацетилен, закиси азота, азиды, цианида (Burns, Hardy, 1975). Содержание нитрогеназы в азотфиксирующих организмах может достигать 10 % от общего количества белка в клетке. Нитрогеназы различных организмов близки по своим свойствам.

Для осуществления восстановления азота микроорганизмами требуются несколько необычные условия: низкий восстановительный потенциал, несколько молекул АТФ на каждую молекулу образовавшегося аммиака, комплекс металлопротеинов, ионы магния, механизмы защиты нитрогеназы от ингибирующего действия кислорода (Dalton, 1979; Кретович, 1979).

Роль ионы магния, по-видимому, заключается в удалении АДФ

ингибитора нитрогеназы) и фосфата после гидролиза АТФ от полибиденового активного центра (Schrauzer, 1983).

Несмотря на хорошо изученную биохимическую сторону механизма азотфиксации, имеется очень мало данных о химизме процесса восстановления азота.

Процесс азотфиксации у синезеленых водорослей сходен с таковым у других азотфиксаторов с той лишь разницей, что источники энергии, необходимые для осуществления реакции восстановления азота, и углеродная основа у них образуются в результате фотосинтеза, а не при брожении или дыхании (Кретович, 1979).

Следует различать исходные доноры электронов и непосредственные доноры электронов, взаимодействующие с нитрогеназой. Исходными донорами электронов для нитрогеназы у синезеленых азотфиксирующих водорослей могут служить различные органические и неорганические субстраты, пируват, вода, водород (Bothe et al., 1978; Eisbrenner et al., 1979; Schrautemeier et al., 1984), которые в результате фотохимического и темнового метаболизма у синезеленых водорослей обеспечивают восстановление субстратов, непосредственно взаимодействующих с нитрогеназой. Выбор путей образования восстановителя у синезеленых водорослей зависит от состояния клеток и содержания в них углеводов.

Поскольку нитрогеназа у синезеленых водорослей локализована в гетероцистах, у которых отсутствует вторая фотосистема, то они не могут непосредственно использовать воду в качестве исходных доноров электронов. В связи с этим в вегетативных клетках из углекислого газа и воды образуются органические вещества, поступающие в гетероцисты и выполняющие здесь функцию доноров электронов. Скорее всего в гетероцистах исходными донорами электронов является 6-фосфоглюконат (Bothe et al., 1978).

Непосредственными донорами электронов, взаимодействующими с нитрогеназой азотфиксирующих водорослей, являются ферредоксин и флаводоксин (Bothe et al., 1978; Dalton, 1979). Передача электронов от исходных доноров к нитрогеназе осуществляется посредством НАД(Ф)-редуктаз (Dalton, 1979).

Ферредоксин представляет собой железо-серосодержащий белок (Fe-S -белок) с низким окислительно-восстановительным потенциалом, от 310 до 490 мВ (Кондратьева, Гоготов, 1981). Синтез ферредоксина у водорослей зависит от содержания в среде железа.

Наряду с ферредоксином в качестве непосредственного донора электронов для нитрогеназы служит флавинсодержащий белок — флаводоксин. Он не содержит лабильной серы и металлов, поэтому его синтез не зависит от присутствия железа в среде.

Восстановление нитрогеназы (Mo-Fe -белка) зависит от АТФ. При восстановлении каждой молекулы азота до аммиака затраты АТФ составляют 12–30 моль (Dalton, 1979). Для сравнения укажем, что на восстановление одной молекулы углекислоты в форме углеводов в процессе фотосинтеза требуется лишь три молекулы АТФ.

АТФ активизирует нитрогеназу, вызывая конформационные изменения в Fe-белке нитрогеназы, в результате чего становится возможным передача электронов от Fe-белка к Mo—Fe-белку и создаются условия для присоединения азота к молибдену.

Синтез АТФ в зависимости от трофии водорослей может происходить при функционировании субстратного фосфорилирования или сопряженного с действием электронтранспортных дыхательных и фотосинтезирующих систем (Кондратьева, 1979). Obligатно фототрофные синезеленые водоросли основную часть азота фиксируют на свету, так как при темновом метаболизме не генерируется достаточного количества АТФ. Свет обеспечивает поставку энергии в виде АТФ, образующейся в процессе работы первой фотосистемы. Однако для длительного поддержания оптимального для азотфиксационного уровня АТФ необходимо, по-видимому, участие первой и второй фотосистем, а также и окислительного фосфорилирования (Bottomley, Stewart, 1977; Weisshäär, Böger, 1983).

Имеются данные, указывающие на способность азотфиксирующих синезеленых водорослей получать энергию в результате темнового окисления водорода с участием кислорода (Bothe et al., 1978).

Фиксация молекулярного азота в темноте может протекать до тех пор, пока имеются достаточное количество АТФ и доноры электронов.

У азотфиксирующих водорослей энергия, по-видимому, не расходуется на защиту нитрогеназы от кислорода (Jensen, 1983).

Коэффициент использования энергии на восстановление азота различными азотфиксаторами неодинаков. Так, у клубеньковых бактерий он составляет 10—12 %. Это означает, что на азотфиксацию расходуется 24 г из каждых 100 г фотосинтетических продуктов. У свободноживущих азотфиксаторов коэффициент использования энергии ниже и составляет 0.3—4 %. Эффективность азотфиксации у синезеленых водорослей еще не установлена, но, по-видимому, она высока (Gutschick, 1978).

Ингибиторы нитрогеназной активности. Исследование влияния кислорода на нитрогеназную активность затруднено его вторичными эффектами. Известно, что этот газ необходим для развития аэробов, но подавляет размножение анаэробов. Кислород репрессирует как синтез нитрогеназы, так и ее активность.

Механизм действия кислорода на нитрогеназу водорослей не совсем ясен. Кислород может ингибировать фотохимическую систему переноса электронов, а также центр, принимающий электроны и отдающий их нитрогеназе, и еще центр гидролиза АТФ (Barris, 1982).

Возможно, что инактивацию нитрогеназы вызывают перекись водорода и ОН-радикал (Dallon, 1979).

При высоких концентрациях аммиака имеет место подавление синтеза и активности нитрогеназы у всех исследованных азотфиксирующих микроорганизмов (Гоготов, 1973; Львов и др.,

1975). Однако, если культуры водорослей растут на средах при лимите аммония, то, как правило, происходит синтез нитрогеназы. Влияние аммония имеет место только *in vivo* (Barris, 1982).

Имеется много данных, указывающих на то, что непосредственно аммиак не оказывает репрессирующего влияния на нитрогеназу. Влияние аммония на нитрогеназу вполне может быть результатом изменений скоростей реакций, ведущих к образованию АТФ, или скорости переноса электронов к нитрогеназе (Kennedy, 1982).

У синезеленых водорослей (но не у всех) ключевая роль в метаболизме азота принадлежит двум ферментам: глутаминсинтетазе и глутаматсинтазе. Последняя локализована преимущественно в вегетативных клетках водорослей (Meeks et al., 1978). В процессе азотфиксации (при ограниченном содержании в среде аммония) ассимиляция образуемого аммония осуществляется при помощи глутаминсинтетазы, которая затем связывает его в сложные органические соединения. При больших концентрациях аммония происходит аденилирование глутаминсинтетазы, что инактивирует нитрогеназу (Shanmugam et al., 1978; Dalton, 1979; Yoch, 1980).

При инактивации глутаминсинтетазы и глутаматсинтазы некоторыми ингибиторами аммиак не блокирует синтез и активность нитрогеназы. Из этого следует, что, по-видимому, репрессором синтеза нитрогеназы служит не сам аммиак, а указанные выше ферменты или продукты их реакций (Stewart, Rowell, 1975).

Пути использования фиксированного азота. Первыми промежуточными продуктами азотфиксации, остающимися все еще связанными с нитрогеназой, являются динимин и гидразин (Thompson et al., 1978; Schrauzer, 1983). Первым стабильно определяемым продуктом восстановления молекулярного азота у всех азотфиксирующих организмов является аммиак.

Для синезеленых водорослей (*Anabaena cylindrica*, *A. variabilis*, *Plectonema boryanum*, *Gloeotheca* sp.) процесс метаболизма вновь синтезированных соединений из аммиака выглядит следующим образом (Wolk et al., 1976). После краткой (1.25 с) экспозиции метка ^{15}N обнаруживается сначала в аммонии, а затем через 2 мин — в различных органических соединениях, главным образом глутамине и глутамате. Глутамин из гетероцист переносится в вегетативные клетки, а глутамат из вегетативных клеток в гетероцисты (Meeks et al., 1978). Затем фиксированный водорослями азот распределяется в различных аминокислотах — аспарагине, аланине и серине (Stewart, Rowell, 1981). Имеются и другие пути метаболизма фиксированного азота (Hood, Carr, 1968, цит. по: Гусев, Никитина, 1979).

Рассматривая дальнейший путь превращения фиксированного водорослями азота, следует отметить, что свободноживущие синезеленые водоросли способны выделять в окружающую среду от 5 до 60 % фиксированного азота (Stewart, Lex, 1970; Sharma, Singh, 1981). Выделенный азот эффективно поглощается другими

организмами, в частности неазотфиксирующими зелеными водорослями.

Количество внеклеточного азота у азотфиксирующих почвенных водорослей *Nostoc* sp. и *Aulosira fertilis* достигает максимума к 13-м суткам их культивирования. С 13-х до 45-х суток наблюдается уменьшение выделения азота, что можно объяснить ресорбцией его водорослями (Singh, Lakshmi, 1974). При помощи ^{15}N у *Westiellopsis prolifica* показано, что, если клетки ресуспендировать в свежую среду, то через 40 мин можно наблюдать значительное выделение аммиака и амидов. Количество ^{15}N в экстраклеточных продуктах при этом в 8 раз больше, чем в клетках. Продукты азотфиксации, выделенные в среду, до 75 % реадсорбируются в течение нескольких часов (Fogg, Paltnaik, 1966). Выделение в среду фиксированного азота в основном не связано с автолизом клеток, а является следствием нормального метаболизма водорослей.

При цветении водоемов за счет развития синезеленых водорослей (*Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena scheremetievii*, *A. lemmermanii*, *A. flos-aquae*) наряду с потреблением ими минерального азота наблюдается увеличение содержания в воде органического азота, в основном в форме аминокислот. По некоторым данным (Jones, Stewart, 1969, цит по: Барашков, 1972), из 2.5 г/м^2 фиксированного азота в морях в воду может выделяться до 1.7 г/м^2 .

Таким образом, выделение водорослями продуктов фиксированного азота в окружающую среду имеет большое экологическое значение для гидробионтов, нуждающихся в нем. Выделенные азотсодержащие соединения могут ими потребляться или непосредственно, или же после его минерализации другими микроорганизмами. В лишайниках, в которых симбиотируют азотфиксирующие водоросли (в основном род *Nostoc*), среднее содержание общего азота в талломах выше (2.2 %), чем у лишайников, симбиотирующих с неазотфиксирующими водорослями (0.83 %) (Hitch, Stewart, 1973). Практически весь фиксированный азот в цефалодиях лишайника *Peltigera aphthosa* потребляется микобионтом со скоростью, равной скорости азотфиксации у водорослей (Millbank, Kershaw, 1969).

В настоящее время в связи с большой трудоемкостью промышленного синтеза аммиака ставится задача получения мутантов синезеленых водорослей с депрессированной нитрогеназой. Такие мутанты уже получены, и показано, что они способны выделять в среду до $30 \text{ мкг NH}_4^+/\text{мл}$ (Полухина и др., 1982).

Таким образом, фиксированный водорослями азот доступен микроорганизмам в двух формах, в форме внутриклеточных и внеклеточных продуктов.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Влияние экологических условий на азотфиксацию водорослей

Влияние кислорода. Одним из основных факторов, влияющих на способность микроорганизмов к азотфиксации, является содержание в воде кислорода. У синезеленых водорослей, не образующих гетероцист, например из родов *Aphanothece*, *Plectoneta*, *Gloeocapsa*, *Phormidium* и ряда других, ингибирующее влияние кислорода на свету проявляется уже при содержании его в газовой фазе около 0.5—1 % (Weare, Benemann, 1974; Gallon, Hamadi, 1984). Такие микроорганизмы способны к восстановлению азота лишь в анаэробных или микроаэрофильных условиях (Rippka et al., 1979).

Некоторые безгетероцистные синезеленые водоросли из родов *Gloeocapsa* и *Gloeotheca*, имеющие обильную слизь, способны усваивать азот при более высоком содержании кислорода (Rippka et al., 1979). Защита нитрогеназы от инактивирующего действия кислорода у них осуществляется разделением во времени процессов фотосинтеза и азотфиксации в зависимости от возраста водорослей. В молодых культурах синезеленых водорослей азотфиксация идет с большей скоростью, чем фотосинтетическое выделение кислорода. По мере старения культур имеет место противоположная тенденция (Weare, Benemann, 1974). Кроме того, у этих водорослей в центре колоний имеются специализированные клетки, которые не выделяют кислород, и в этих участках колоний обеспечиваются микроаэрофильные условия (Stewart, 1980).

У гетероцистных водорослей, фиксирующих азот, в аэробных условиях имеется ряд защитных механизмов, снижающих отрицательное действие кислорода: нитрогеназа локализована в толсто-стенных гетероцистах (см. рис. 2, Г), которые не выделяют кислорода и обладают активным дыханием, вследствие чего его парциальное давление в гетероцистах понижено. Кроме того, выделяемый нитрогеназой в процессе азотфиксации водород, инактивирует кислород (Stanier, Cohen-Bazire, 1977; Bolhe et al., 1978).

Благодаря разнообразным механизмам защиты нитрогеназы от инактивации кислородом у гетероцистных водорослей обработка азотфиксирующих водорослей даже чистым кислородом не приводит к необратимой денатурации нитрогеназы. Из этого можно делать вывод, что синезеленые водоросли способны физиологи-

чески адаптироваться к повышенным концентрациям кислорода (Pienkos et al., 1983).

Следует отметить, что влияние кислорода на азотфиксирующую активность синезеленых водорослей зависит от фазы их развития. Наибольшей резистентностью к кислороду водоросли обладают в фазу интенсивного роста, но это, по-видимому, характерно не для всех синезеленых. Например, у трех термофильных штаммов из рода *Mastigocladus* не было отмечено ингибирования нитрогеназы в зависимости от фазы роста водорослей (Mijamoto et al., 1979). Одной из причин ингибирующего действия кислорода на нитрогеназу водорослей может быть конкуренция между восстановлением азота и фотодоыханием за восстановитель, которая наблюдается у водорослей при большой концентрации кислорода и сильной освещенности (Lex et al., 1972).

Концентрация кислорода выше 20—30 % несколько ингибирует азотфиксацию синезеленых водорослей (Lex et al., 1972; Kellar, Paerl, 1980). В водоемах различной трофности насыщение воды кислородом за счет фотосинтеза редко превышает 100 % от его содержания в атмосфере (Горленко и др. 1977). Лишь в период цветения воды синезелеными водорослями в евтрофных водоемах в поверхностном слое концентрация кислорода может достигать 140—220 % насыщения. В олиготрофных водоемах в результате небольшой продукции органического вещества кислород почти не расходуется на окисление и концентрация его в течение года практически постоянна. В мезотрофных водоемах из-за большего количества фитопланктона (а следовательно органического вещества) содержание кислорода в эпи- и металимнионе повышается, но в гипolimнионе почти весь кислород расходуется на окисление органических веществ. В евтрофных озерах идут еще более интенсивные процессы образования органического вещества и его распада. Поэтому содержание кислорода в этих водоемах в конце лета и зимой незначительно. Только в поверхностных слоях воды концентрация кислорода может в несколько раз превышать его насыщение в воде (Кузнецов, 1970). Перенасыщение воды кислородом в закрытой системе вызывает гибель водорослей. Однако в водоемах этого почти не происходит, чему способствуют, во-первых, ветровое перемешивание и постоянная циркуляция воды и, во-вторых, способность синезеленых водорослей (с газовыми вакуолями) к активной миграции с поверхности в более глубокие слои воды с низким содержанием кислорода. Кроме того, цианобактерии способны продуцировать экзогенные восстановители, которые в определенной степени нейтрализуют отрицательное влияние кислорода (Сиренко, 1972). Таким образом, абсолютное содержание в воде кислорода не дает основания судить в полной мере о его действии на активность азотфиксирующих водорослей, так как она зависит от ряда других физико-химических условий в водоеме и физиологического состояния водорослей.

Влияние углекислого газа. Значительное влияние на скорость азотфиксации у синезеленых водорослей оказывает концентрация

углекислоты. Оптимальные значения ее для азотфиксации существенно зависят от температуры среды. Так, у *Anabaena cylindrica* при 15 и 20 °С максимум азотфиксации отмечался при концентрациях углекислоты 0.1 и 0.25 % соответственно.

Скорость азотфиксации у этой водоросли снижается при концентрации CO_2 меньше 0.03 и выше 0.5 % (Fogg, Than-Tun, 1960). У другой синезеленой водоросли *Anabaena variabilis* максимальная азотфиксация отмечается при 0.5 % и подавляется при 2 % CO_2 (Fisenmeier, Spiller, 1980).

У почвенной водоросли *Nostoc muscorum* обнаружена параболическая зависимость скорости азотфиксации от концентрации углекислоты с максимумом нитрогеназной активности при 0.3 % CO_2 (Вахрушев, 1972).

Потребности в углекислом газе для азотфиксации у безгетероцистных водорослей, по-видимому, ниже, так как у них этот процесс идет в микроаэрофильных условиях при слабом фотосинтезе (Калининская и др., 1981).

В условиях дефицита углекислоты в водоемах, вызываемого интенсивным развитием летом синезеленых водорослей, наличие высоких концентраций кислорода приводит к увеличению фотодыхания и снижению у них скорости азотфиксации (Lex et al., 1972).

Однако при углекислотном голодании синезеленых водорослей происходит лишь остановка их роста, но не гибель (Васильева, Левитин, 1974). В определенной степени это может объясняться тем, что синезеленые водоросли наиболее энергично поглощают углекислоту при низких ее концентрациях (Shapiro, 1973).

Последнее имеет большое значение для развития азотфиксирующих водорослей в водоемах при pH более 8, когда концентрация свободной углекислоты очень низка.

Влияние pH. По имеющимся данным, большинство синезеленых водорослей относится к базифилам, т. е. при развитии тяготеет к щелочной среде. Предполагают, что слабая устойчивость синезеленых водорослей к низким значениям pH связана с тем, что фотосинтетический аппарат у них не защищен оформленной мембраной (Brock, Lower, 1973).

Оптимальные значения pH для роста азотфиксирующих водорослей из различных экологических ниш весьма близки: планктонные водоросли *Anabaena flos-aquae*, *A. scheremetievii*, *A. spiroides* с наибольшей скоростью растут при pH 7—7.5, а *Aphanizomenon flos-aquae* — при 8 (Трухня, 1960); многие почвенные азотфиксирующие водоросли хорошо развиваются при pH 7—8 (Мережко, 1968).

В условиях водоема концентрация водородных ионов определяет периодичность и интенсивность развития азотфиксирующих синезеленых водорослей. Так, в Рыбинском водохранилище появление водорослей рода *Anabaena* приурочено к концу мая — началу июня, когда pH воды около 7.5, а в середине лета при повышении pH воды до 8 наблюдается интенсивное развитие *Aphanizomenon flos aquae* (Гусева, 1955).

В природных местообитаниях азотфиксирующие водоросли, как правило, не встречаются при pH ниже 5. При pH 5—6 они встречаются довольно редко, а их азотфиксирующая активность обнаруживается в диапазоне pH от 5 до 10 (Granhall, 1970). Однако механизм действия pH на азотфиксацию окончательно не установлен.

Как для проявления нитрогеназой активности, так и для развития гетероцист у синезеленых водорослей оптимальное значение pH находится в диапазоне 7—7.5 (Kale et al., 1973). Активность нитрогеназы у автотрофных и гетеротрофных организмов не проявляется ниже pH 4 (Stewart, 1974).

Однако у *Anabaena azolla*, являющейся симбионтом водного папоротника *Azolla*, интенсивность азотфиксации не менялась при варьировании pH среды от 4 до 8 (Holst, Yopp, 1980).

Некоторые синезеленые водоросли *Anabaena ivengorii*, а также *Nostoc punctiforme* (Shardespande, Goyal, 1981), выделенные из почвы, хорошо развиваются и фиксируют азот при низких значениях pH (4.8—5.5), тогда как другие 16 видов интенсивно растут и осуществляют этот процесс при 5.5—6.5. В этих опытах установлена адаптация у всех исследованных водорослей к низким значениям pH. Таким образом, полученные данные хотя и не однозначны, но ставят под сомнение существующую точку зрения о базифильности азотфиксирующих синезеленых водорослей.

Влияние температуры. Для различных азотфиксирующих водорослей температурный коэффициент (Q_{10}) весьма высок — от 3 до 6 (Fogg, 1971), что существенно ограничивает интенсивность азотфиксации ранней весной и поздней осенью. Тем не менее почвенные водоросли рода *Nostoc*, имеющие мощную слизь, способны фиксировать атмосферный азот при 0 °C (Horne, Fogg, 1970; Englund, Meyerson, 1974). У планктонных водорослей, не имеющих слизи (*Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena spiroides*, *A. lemmermanii*, *A. flos-aquae*), азотфиксация практически прекращается с понижением температуры в водоеме до 8—7 °C (Саралов, 1978). Как правило, у азотфиксирующих водорослей зависимость азотфиксации от температуры носит экспоненциальный характер (Waughman, 1977).

У водорослево-лишайниковых корочек из американской пустыни Большой Бассейн максимальная азотфиксация наблюдается при 19—23 °C. Водоросли *Nostoc* sp. из субтропических злаковников имеют наибольшую нитрогеназную активность при 30—35 °C, а при температуре 40 °C азотфиксация прекращалась (Jones, 1977a, 1977b).

У водорослевого эпифита, являющегося симбионтами мхов из высокоарктического района Канады, максимальная азотфиксирующая активность имела место при 20 °C, но они были способны фиксировать азот и при температуре ниже 5 °C (Jordan et al., 1978).

У синезеленой водоросли *Wetliellopsis prolifica* оптимум азотфиксации найден при 30—35 °C (Pattnaik, 1966), а у трех штаммов

Рис. 6. Азотфиксация при температуре 20 °С на свету (1, 2) и в темноте (3, 4) водорослями (1, контроль) и выдержанными 20 сут при -6 °С (2, 4) после размораживания.

Водоросли перед замораживанием освещали 6 ч (2, 3), не освещали (4). По оси ординат — азотфиксация, мкг N / (л · сут), по оси абсцисс — время

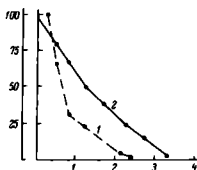
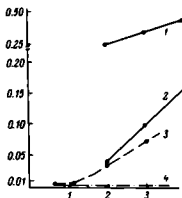


Рис. 7. Изменение степени азотфиксации водорослями в ходе их обезвоживания (температура 27 °С, влажность воздуха 60 %).

По оси ординат — скорость азотфиксации (1) и сухая масса водорослей (2), % к исходным, по оси абсцисс — время высушивания, ч

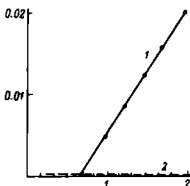


Рис. 8. Возобновление азотфиксации водорослями в темноте, высушенными после их увлажнения на свету (1) и в темноте (2)

По оси ординат — азотфиксация, мкг N / (л · сут), по оси абсцисс — экспозиция, ч

термофильных водорослей *Mastigocladus* sp., выделенных из горячих источников, азотфиксация отмечалась до температуры 54 °С с оптимумом при 45 °С (Mijamoto et al., 1979).

Влияние температуры на интенсивность азотфиксации как свободнотрофных, так и симбиотизирующих водорослей зависит прежде всего от биологии и адаптации к определенным экологическим условиям.

В наших опытах с колоннальной водорослью *Nostoc zetterstedtii*, которая в течение 20 сут находилась при температуре -6°C , после размораживания (20°C) водоросли были способны к размножению и фиксации молекулярного азота (Костяев, 1981). Клетки *N. zetterstedtii* способны также к длительному сохранению при низких температурах «ассимиляционного фактора» (энергия и восстановленные соединения), накопленного на свету (рис. 6). Сходные результаты были получены при размораживании-оттаивании *Nostoc* sp. (Dubois, Kapuska, 1983).

Таким образом, у различных представителей синезеленых водорослей температурный оптимум азотфиксации близок и находится около 30°C , а ингибирование нитрогеназной активности происходит в интервале температур $40-41^{\circ}\text{C}$. В отличие от этого влияние низких температур на азотфиксацию водорослей зависит от их экологии и биологической организации.

Азотфиксирующая активность синезеленых водорослей в лишайниках подвержена отрицательному влиянию низких температур в большей степени, чем фотосинтез и дыхание (Hitch, Stewart, 1973).

Влияние влажности. Водоросли из почв или высыхающих водоемов (в основном виды рода *Nostoc*) способны длительное время выдерживать глубокое высыхание и после периода дождей продолжать свое развитие и фиксировать молекулярный азот. Почвенные водоросли *N. commune*, *N. sphaericum*, *N. phormidium*, в течение года хранившиеся в высушенном состоянии, после увлажнения были способны фиксировать молекулярный азот уже через 30 мин (Whitton et al., 1979). Длительность лаг-фазы после увлажнения зависит от эндогенного уровня АТФ, наличия ионов аммония и доноров электронов (Rychert, Skujins, 1974), а также от температуры предварительного хранения водорослей (Coxson, Kershaw, 1983). У колоннальной водоросли *Sphaerostoc zetterstedtii*, выделенной из высыхающего водоема, по мере обезвоживания происходило снижение интенсивности азотфиксации и полное прекращение ее при потере 75 % воды (рис. 7). У этих водорослей, повторно увлажненных после высушивания, азотфиксация начиналась через 40 мин после увлажнения (рис. 8) (Костяев, 1981). Такая же реакция на высушивание выявлена и у некоторых азотфиксирующих водорослей, симбиотирующих в лишайниках (см. наст. кн.: с. 73).

Многие азотфиксирующие водоросли способны восстанавливать азот и в темноте, но для этого необходимо их предварительное освещение (Stewart, 1973). При постепенном высушивании ностока в течение 4 ч на свету или в темноте с последующим увлажнением через неделю азотфиксация в темноте отмечалась только в том варианте, когда водоросли предварительно высушивались на свету (рис. 8). Следовательно, при медленном высушивании водорослей на свету у них под действием света образуется и запасается «ассимиляционный фактор», который может быть использован через определенное время в темноте после увлажне-

ния водорослей (Костяев, 1981; Coxson, Kershaw, 1983). Таким образом, можно считать, что важнейшим фактором, определяющим азотфиксацию у почвенных водорослей, является влажность, в то время как у обитающих в воде — температура.

Влияние света на азотфиксацию водорослей

Синезеленые водоросли менее требовательны к свету, чем другие альгологические группы. Так, например, для осуществления максимального фотосинтеза у первых в среднем требуется в 1.2—2 раза меньше интенсивности солнечной радиации, чем для диатомовых и зеленых водорослей (Пырина, 1967).

Поскольку большинство синезеленых водорослей относится преимущественно к фотоавтотрофам, то у них наблюдается зависимость азотфиксации от интенсивности освещения (Fogg, Thap-Tup, 1960). Но специфического действия света на нитрогеназную систему не обнаружено.

Азотфиксация связана со светом опосредованно — через продукты фотосинтеза: углеродсодержащие соединения, АТФ и доноры электронов, которые образуются у водорослей на свету и используются в процессе азотфиксации (см. наст. кн.: с. 23). При наличии этих продуктов фиксация молекулярного азота может длительное время протекать и в темноте (Stewart, 1973).

Азотфиксирующие водоросли могут использовать очень низкую интенсивность света. Так, синезеленая водоросль *Nostoc* sp. фиксирует азот при освещенности от 18 до 81 лк. При этом имеет значение адаптация пигментного комплекса водорослей к определенной освещенности: у затененных водорослей *Nostoc* sp. (под пологом трав) азотфиксация не изменялась при увеличении освещенности более 323 лк (Jones, 1977b). Такой низкий уровень светового насыщения нитрогеназы у некоторых гетероцистных водорослей, возможно, объясняется их способностью к гетеротрофии, когда необходимые продукты для азотфиксации образуются преимущественно при темновом метаболизме экзогенных органических веществ.

Фиксация молекулярного азота у безгетероцистных синезеленых водорослей протекает, как правило, при низкой интенсивности света. Например, у *Plectonema boryanum*, *Phormidium autumnale*, *Aphanothece* sp. азотфиксация наблюдается при освещенности около 400 лк (Калининская и др., 1981; Nguen Tchan Choa, 1985), что в 20–60 раз меньше аналогичных величин, установленных у водорослей с гетероцистами (Феокистова, 1967).

Такое различие в использовании света объясняется тем, что у водорослей без гетероцист нитрогеназа слабо защищена от ингибирующего действия кислорода, содержание которого в воде с увеличением интенсивности света возрастает.

Интенсивность азотфиксации при перенесении водорослей в темноту у различных видов варьирует и составляет от 25 до

60 % от таковой на свету (Lyne, Stewart, 1973; Davey, 1983; Dubois, Kapuska, 1983).

В опытах с *Anabaena cylindrica* было установлено, что интенсивность и продолжительность азотфиксации в темноте зависят от обеспеченности клеток углеводами, накопленными на свету в процессе фотосинтеза. При наличии достаточного количества этих соединений азотфиксация в темноте и на свету протекает с одинаковой скоростью, тогда как при длительном углеродном голодании (рост на свету без CO_2) азотфиксация в темноте практически не проявлялась. Поэтому у азотфиксирующих синезеленых водорослей интенсивность и длительность нитрогеназной активности в темноте зависят от предшествующего освещения, что было показано в опытах с различными культурами водорослей (Fay, 1976; Boltomley, Stewart, 1977), in situ с популяцией *Nostoc* sp. (Jones, 1976), с азотфиксирующим лишайником *Pelligera polydactyla* (Mc Farlane et al., 1976), а также и в наших опытах с синезелеными водорослями *Hapalosiphon fontinalis* и *Anabaena oscillarioides*.

У *Hapalosiphon fontinalis* и *Anabaena oscillarioides* наблюдается четкая зависимость степени азотфиксации от условий предварительного освещения или затенения клеток (чередование свет—темнота). При перенесении водорослей со света в темноту происходит постепенное затухание азотфиксации, и она, например, у видов рода *Anabaena*, полностью прекращается после 14-часового пребывания в темноте. Чем дольше водоросли выдерживались в темноте, тем слабее шла азотфиксация на свету. И наоборот, чем продолжительнее водоросли находились на свету, тем в первые часы интенсивнее была азотфиксация в темноте (рис. 9).

У водорослей без гетероцист характер изменения азотфиксации при чередовании свет—темнота несколько отличается от описанных выше закономерностей у гетероцистных синезеленых водорослей. Так, например, перенесение *Gloeocapsa* sp. со слабого света в темноту приводит к быстрому понижению скорости азотфиксации, которая за 30 с снижается на 60 % и остается на таком уровне в течение 5 мин, затем быстро затухает (Milleneaux et al., 1980). Быстрое снижение скорости азотфиксации у безгетероцистной водоросли в темноте, по-видимому, связано с низким уровнем пула энергии и восстановителей, накопленных при слабой освещенности.

В водоемах у синезеленых водорослей также отмечается тесная зависимость фиксации от интенсивности солнечной радиации (Lännergren et al., 1974; Peterson et al., 1977), но высокая интенсивность света в поверхностном слое, как правило, снижает азотфиксацию у них (Ganf, Horne, 1975; Kellar, Paerl, 1980). Причины подавления азотфиксации светом могут быть различными. Прежде всего, сильный свет может вызвать фотодеструкцию пигментов у азотфиксирующих водорослей (Гусев, Никитина, 1979). Причины подавления азотфиксации могут быть и чисто физиологического порядка, главным образом за счет конкуренции

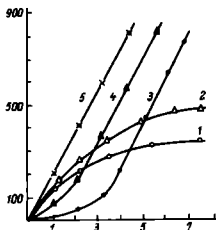


Рис. 9. Интенсивность фиксации молекулярного азота *Hapalosiphon fontinalis* при различных условиях освещенности.

1 — фиксация в темноте при адаптации водорослей к свету 8 тыс. лк; 2 — то же при 10 тыс. лк; 3 — то же на свету при 10 тыс. лк (водоросль предварительно в течение 7 ч выдержана в темноте); 4 — то же (5 ч); 5 — то же на свету, 10 тыс. лк (водоросль адаптирована к данной освещенности).

По оси ординат — интенсивность азотфиксации 10^{-4} мг N / мг сухой массы водорослей, по оси абсцисс — продолжительность опыта, ч.

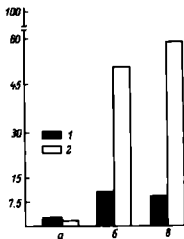


Рис. 10. Соотношение интенсивности фотосинтеза (1) и азотфиксации (2) у водорослей в красном и дальнем красном свете, %.

а — *Anabaena spiroides*; б — *Sphaeromonostoc zetterstedtii*; в — *Gloeotrichia pumila*.

По оси ординат — отношение интенсивностей фотосинтеза и азотфиксации в дальнем красном свете к их интенсивности в ближнем красном свете, %.

азотфиксации и фотодыхания за восстановитель (Lex et al., 1972), когда редуктант расходуется в основном на восстановление углекислоты, а не на фиксацию азота. При слабой интенсивности света между этими процессами конкуренция за восстановитель отсутствует и оба процесса (фиксация углекислоты и азота) протекают параллельно (Lyne, Stewart, 1973).

Существует мнение, что роль света в процессе восстановления азота синезелеными водорослями заключается преимущественно в снабжении нитрогеназы АТФ в результате действия фотосистемы I. Это подтверждается тем, что ингибиторы, действующие на уровне фотосистемы II, не подавляют азотфиксацию, и она имеет место только при освещении *Anabaena cylindrica* дальним красным светом, когда функционирует только фотосистема I (Bothe, Loos, 1972; Lyne, Stewart, 1973). Таким образом, связь азотфиксации с фотосинтезом у синезеленых водорослей обусловлена продуцированием АТФ на свету, а электроны для восстановления нитрогеназы поступают преимущественно из пула фотосинтетических продуктов.

Исследования скоростей азотфиксации и фотосинтеза в красном и дальнем красном свете у нитчатой *A. spiroides* и колоннальных синезеленых водорослей *Sphaeronostoc zetterstedtii* и *Gloeotrichia pism* (Костяев, 1980б) показали, что при освещении *Anabaena spiroides* дальним красным светом ($\lambda = 685$ нм) фотосинтез, измеряемый по $^{14}\text{CO}_2$ или поглощению CO_2 методом газовой хроматографии, и азотфиксация составили соответственно 21 и 1,4 % от их интенсивности в ближнем красном свете ($\lambda = 630$ нм) (рис. 10). Следовательно, у *A. spiroides* в дальнем красном свете фотосинтез (восстановление углекислоты) и азотфиксация практически отсутствовали. У водорослей родов *Sphaeronostoc* и *Gloeotrichia*, имеющих кроме фикоцианина фикозерин, в дальнем красном свете фотосинтез составлял соответственно 10 и 9 %, а азотфиксация — 50 и 60 % от их величины в ближнем красном свете, т. е. в данном случае азотфиксация замедлялась в меньшей степени, чем фотосинтез (рис. 10). Таким образом, освещение синезеленых водорослей дальним красным светом приводит в одних случаях практически к полной остановке фотосинтеза и азотфиксации, в других — вызывает значительную азотфиксацию.

По данным некоторых авторов (Bothe, Loos, 1972; Lyne, Stewart, 1973), при освещении *Anabaena cylindrica* дальним красным светом наблюдалась значительная азотфиксация — около 90 % от ее интенсивности в ближнем красном свете, тогда как фотосинтез падал практически до нуля.

Сопоставление наших данных с литературными позволяет заключить, что, во-первых, функционирование только одного циклического фотофосфорилирования у некоторых представителей водорослей недостаточно для азотфиксации и, во-вторых, эффективность циклического фотофосфорилирования для проявления нитрогеназной активности у водорослей может варьировать в широких пределах. Для длительного поддержания достаточного уровня АТФ, по-видимому, необходимо функционирование обоих типов фотофосфорилирования (Bottomley, Stewart, 1976).

Влияние ультрафиолетового света на азотфиксацию водорослей. Синезеленые водоросли способны использовать не только видимый свет ($\lambda = 400\text{--}700$ нм), но и длинноволновой ($\lambda = 300\text{--}380$ нм) ультрафиолетовый свет (Костяев, Ягодка, 1977; Костяев, 1979).

Интенсивность солнечных длинноволновых ультрафиолетовых лучей на поверхности Земли может достигать более 5 % от суммарной солнечной радиации. Эти лучи проникают в толщу воды, особенно морских водоемов, на значительную глубину (Calkins, 1982).

Имеются данные как о положительном, так и отрицательном влиянии этого фактора на развитие фитопланктона, деструкцию пигментного комплекса высших водных растений и фотосинтез некоторых водорослей (в основном зеленых) (Halldal, 1967; Костяев, Ягодка, 1977; Worrest, 1982; Maske, 1984). Это влияние,

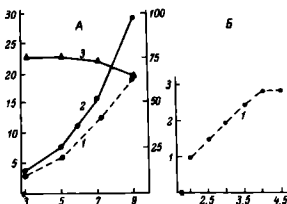


Рис. 11. Фиксация молекулярного азота *Anabaena spiroides* в УФ-лучах.

А — интенсивность УФ-лучей $3.3 \cdot 10^3 \text{ эрг/ (см}^2 \cdot \text{с)}$. Б — то же, $13.3 \cdot 10^3 \text{ эрг/ (см}^2 \cdot \text{с)}$. По оси ординат: слева — А, Б — азотфиксация в УФ-лучах (1) и в видимом свете (2), интенсивностью $22 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2 \cdot \text{с}$, $\text{мг N / (л \cdot сут.)}$, справа — отношение интенсивности азотфиксации в УФ-лучах к ее интенсивности в видимом свете, % (3). По оси абсцисс — часы.

однако, в большинстве случаев не учитывается, так как сосуды, используемые для определения интенсивности указанных процессов, существенно задерживают солнечные УФ-лучи. Влияние длинноволновых УФ-лучей на интенсивность азотфиксации, фотосинтеза и соотношение между этими процессами мы рассмотрим на примере синезеленой водоросли *Anabaena spiroides*.

Интенсивность азотфиксации в УФ-лучах достигала 75 % от таковой в видимом свете. При четырехкратном увеличении интенсивности УФ-лучей активность азотфиксации падала, полностью прекращаясь после 4-часового облучения (рис. 11).

Результаты одновременного воздействия УФ-лучей ($3.3 \times 10^3 \text{ эрг/ (см}^2 \cdot \text{с)}$) и видимого солнечного света на азотфиксацию *A. spiroides* представлены на рис. 12. В условиях пасмурного дня добавление УФ-лучей к видимому свету увеличивало скорость азотфиксации по сравнению с таковой в видимом свете. В солнечный день добавление УФ-лучей к видимому свету было эффективно лишь в утренние часы.

Итак, у *A. spiroides* под влиянием УФ-лучей фиксация молекулярного азота активизируется в большей степени, чем фотосинтез (восстановление углекислоты) (рис. 13).

Таким образом, длинноволновые УФ-лучи в зависимости от интенсивности могут стимулировать или подавлять фиксацию молекулярного азота у *A. spiroides*. Эффективность влияния УФ-лучей на азотфиксацию водорослей на фоне действия видимого света снижается по мере увеличения интенсивности видимого света.

Возможно также, что у синезеленых водорослей механизм использования ультрафиолетового и видимого света одинаков.

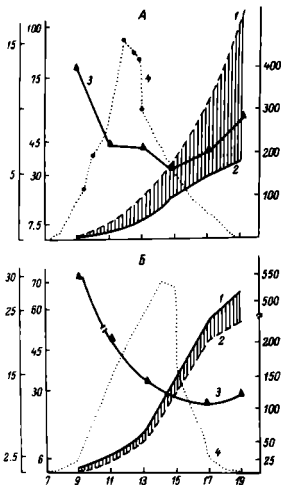


Рис 12 Фиксация молекулярного азота водорослями в УФ-лучах на фоне действия видимого света в пасмурный (а) и солнечный (б) дни

1 - УФ-лучах + видимый свет, 2 - видимый свет, 3 - отношение интенсивности азотфиксации в УФ-лучах + видимый свет к ее интенсивности в видимом свете, 4 - интенсивность видимого света

По оси ординат (слева направо): интенсивность видимого света, $\times 10^3 \text{ эрг/(см}^2 \cdot \text{с)}$; азотфиксация, $\text{мгг N/(л} \cdot \text{сут)}$; отношение интенсивности азотфиксации в УФ-лучах к ее интенсивности в видимом свете, %. По оси абсцисс - часы.

так как при исследовании действия различных длин волн УФ-лучей обнаружено выделение водорослями кислорода (рис. 14) (Костяев, Ягодка, 1977).

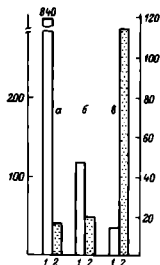


Рис. 13. Фотосинтез (а) и азотфиксация (б) *Anabaena spiroides* в УФ-лучах и отношение интенсивности азотфиксации к фотосинтезу (в)

1 — в видимом свете, 2 — в УФ-лучах

По оси ординат слева — интенсивность фотосинтеза, мг С / (л · сут), азотфиксации, мг N / (л · сут), справа — отношение азотфиксации к фотосинтезу, %

Роль гетероцист в азотфиксации

Многие синезеленые водоросли имеют специальные образования — гетероцисты, морфологически резко отличающиеся от вегетативных клеток (см. рис. 2, В, Г). Количество гетероцист в нитях может достигать 15—18 % от общего числа клеток (Anlagasoponda, Lorenzen, 1982). Вегетативные клетки синезеленых водорослей имеют тонкую оболочку, внутри которой протопласт дифференцирован на периферический слой (хроматоплазма) и центральную часть (центроплазма). Хроматоплазма включает в себя фотосинтетические пигменты (хлорофилл «а» и фикобилины) и содержит иногда газовые вакуоли (см. рис. 2, А). Гетероцисты имеют толстую оболочку с сетчатой внутренней структурой без газовых вакуолей. В месте соединения с вегетативными клетками у них имеются пробки (см. рис. 2, Г).

Гетероцисты содержат все компоненты фотосистемы I, включая хлорофилл «а» и каротиноиды. Однако, по данным одних авторов (Stewart et al., 1978), у них полностью отсутствует фотосистема II, тогда как по данным других авторов (Wolk et al., 1976; Issakidou, Papageorgiou, 1980), гетероцисты содержат в небольшом количестве компоненты фотосистемы II. Из-за слабого функционирования фотосистемы II гетероцисты не способны к восстановлению углекислоты, фотоокислению воды и выделению кислорода, однако способны к синтезу энергии и восстановителей (Stewart, 1977). Последнее и неспособность гетероцист выделять кислород рассматриваются как одна из причин локализации и функционирования в них нитрогеназы (Robson, Postgale, 1980).

К настоящему времени способность фиксировать молекулярный азот в аэробных условиях установлена более чем у 100 ви-

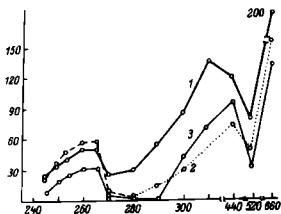


Рис. 14. Выделение кислорода при облучении водорослей монохроматическим светом разных длин волн

1 — *Chlorella pyrenoidosa*, 2 — *Tolypothrix* sp., 3 — *Anabaena spiroides*
 По оси ординат — выделение кислорода, отн. ед.; по оси абсцисс — длина волны, нм

дов гетероцистных водорослей. Вполне вероятно, что все они в аэробных условиях фиксируют атмосферный азот. Однако и вегетативные клетки у тех же водорослей в анаэробных и микроаэрофильных условиях фиксируют азот. Это в основном представители родов *Nostoc*, *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Calothrix*, *Cylindrocapsa*, *Tolypothrix*, *Chlorogloea*, *Scytonema*, *Napalosiphon*, *Stigonema*, *Mastigocladus*. Водоросли, не имеющие гетероцист (роды *Lyngbia*, *Oscillatoria*, *Plectonema*, *Chroococcus*, *Gloeotheca*, *Phormidium*), способны фиксировать азот лишь в анаэробных или микроаэрофильных условиях (Хохлова, Панкратова, 1977; Rippka et al., 1979; Stewart et al., 1980; Калининская и др., 1981). Наши данные также указывают на то, что водоросли без гетероцист не способны в аэробных условиях фиксировать азот (табл. 3).

Имеется большое количество работ, в которых показано, что гетероцисты являются центрами нитрогеназной активности (Stewart et al., 1969; Codd et al., 1980; Antarcanonada, Lorenzen, 1982). Доказательства этому основываются на следующих моментах: найдена азотфиксация в изолированных гетероцистах, имеется корреляция между интенсивностью азотфиксации и численностью гетероцист (Fay, Kulassooriya, 1972), связанный азот, в основном аммонийный, подавляет и образование гетероцист, и азотфиксацию (Mickelson et al., 1967; Stewart, 1973; Stewart et al., 1980). Нитрогеназа найдена почти во всех гетероцистах и только в 16—18 % у вегетативных клеток водорослей (Stewart, 1973).

Наряду с этим имеются работы, в которых не найдено корреляции между азотфиксацией и численностью гетероцист (Kutz,

Таблица 3

Скорость азотфиксации у синезеленых водорослей
в различных условиях

| Вид | Средний размер клетки, мкм | Количество фикса- рованного азота одной клеткой 10^{-10} мг N_2 /(мл · ч) |
|---|-------------------------------|--|
| Без гетероцист | | |
| <i>Oscillatoria agardhii</i> | 5.9×4.8 | 0 |
| <i>Oscillatoria</i> sp. | 5.6×4.7 | 0 |
| <i>O. splendida</i> | 3.4×9.3 | 0 |
| <i>Synechococcus elongatus</i> | 1.7×3.4 | |
| С гетероцистами | | |
| <i>Anabaena variabilis</i> | 5.5×4.6 | 1.28 |
| <i>Sphaeronostoc coeruleum</i> | 6.2×6.0 | 1.31 |
| <i>Calothrix braunii</i> | 7.2×6.0 | 1.34 |
| <i>C. elenkini</i> | 6.3×6.0 | 1.49 |
| <i>Tolypothrix tenuis</i> | 5.2×5.0 | 1.69 |
| <i>Stratonostoc</i> sp. | 6.4×4.2 | 1.90 |
| <i>S. linchia</i> | 4.3×4.2 | 2.80 |
| <i>Hapalosiphon fontinalis</i> | 9.5×8.0 | 3.21 |
| <i>Amorphanostoc</i> sp. | 4.5×3.7 | 3.25 |
| <i>Stratonostoc linchia</i> | 4.2×4.0 | 3.92 |
| <i>Anabaena oscillarioides</i> f. <i>torulosa</i> | 5.0×4.3 | 4.48 |
| <i>Stratonostoc linchia</i> f. <i>piscinale</i> | 4.4×4.2 | 4.85 |

La Rue, 1971; Uehlinger, 1981). доказывається, що центри нитрогеназы локализованы не в гетероцистах, а на фотосинтезирующих ламеллах вегетативных клеток (Smith, Evans, 1970; Kurz, La Rue, 1971), не найдено также феномена подавления связанным азотом образования гетероцист (Горбунова, Зыонг Дыг Тьен, 1970; Thomas, David, 1971), считается, что образование гетероцист из вегетативных клеток зависит от соотношения в них углерода и азота.

Приведенные данные, несмотря на кажущуюся противоречивость, не являются взаимоисключающими, а скорее всего дополняют друг друга. По-видимому, в зависимости от физиологического состояния различных водорослей азотфиксация может протекать или в вегетативных клетках, или в гетероцистах синезеленых водорослей. Уже сам факт, что нитрогеназа найдена в вегетативных клетках гетероцистных и безгетероцистных водорослей, говорит о том, что гетероцистам не принадлежит монополия быть местом локализации нитрогеназной активности.

Многие исследователи при изучении роли гетероцист в азотфиксации тем или иным путем механически изолировали их от вегетативных клеток водорослей, чем нарушалась целостность их трихомов. А это может иметь решающее значение при интерпретации данных. Например, у *Anabaena* sp. и *A. inaequalis*



Рис. 15. Гормогонии *Sphaeronostoc* без гетероцист, вышедшие из слизи колонии. А — общий вид водоросли (спес) Б — гормогонии

азотфиксация *in vivo* в аэробных условиях происходила только тогда, когда между вегетативными клетками и гетероцистами имела тесная связь и не была нарушена структурная целостность клеточной стенки (Fay, Kulassoriya, 1972; Granhall, 1976).

Нами исследовалась азотфиксация у одних и тех же видов водорослей с гетероцистами и без них (Костяев, 1976). Водоросли без гетероцист были получены не в результате механического воздействия, а естественным путем — при использовании безгетероцистной стадии развития водорослей (рис. 15).

Anabaena variabilis обычно имеет гетероцисты. Безгетероцистная водоросль получена из коллекции МГУ. Способность образовывать гетероцисты этой водорослью утрачена, вероятно, в результате ее обработки антибиотиками и ультрафиолетовыми лучами с целью получения бактериально-чистой культуры. У такой безгетероцистной формы *A. variabilis* не фиксировался молекулярный азот (рис. 16).

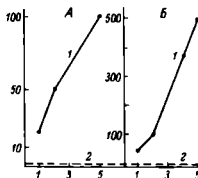
Sphaeronostoc zetterstedtii выделена из мелководного пруда в окрестностях пос. Борок Ярославской обл. Колонияльная водоросль *Трохои* расположены в плотной слизи (рис. 15, А). Водоросли без гетероцист у этого вида были получены на стадии образования подвижных гормогониев, которые при этом отрывались от гетероцист и выходили из колонии (рис. 15, Б).

Опыты показали (рис. 16), что фиксация молекулярного азота у водорослей с гетероцистами была высокой, у безгетероцистных форм она отсутствовала.

Stratonostoc cuticulare выделена с листьев водного растения *Najas tenuissima*, где водоросль развивалась в виде аморфных темно-синих дисков. Этот вид был также использован для выяснения способности к азотфиксации. Поскольку гетероцисты и вегетативные клетки в дисках на листьях *наяды* не просматривались (определить водоросль было практически невозможно),

Рис. 16. Азотфиксация у водорослей с гетероцистами (1) и без них (2).

А — *Sphaerostoc*, Б — *Anabaena*.
По оси ординат — азотфиксация, отн. ед.,
по оси абсцисс — время, ч.



мы прежде проследили за ее развитием. С этой целью листья с водорослями мелко резали и помещали в безазотную среду. Через 3 сут отмечалась фрагментация дисков на участки, каждый из которых в результате серии делений формировался в нить *Stratonostoc cuticulare*. Образовавшиеся трихомы активно двигались. Способ дифференциации дисков в описанном случае напоминает таковой у рода *Stratonostoc* в слизистом лишайнике *Collema ramenskii*. Диски *Stratonostoc cuticulare* являются приспособлением водоросли к эпифитному образу жизни на нате и образовались, вероятно, в результате гипертрофированного разрастания гормония. Анализ азотфиксации у дисков и трихомов показал, что она в обоих случаях была довольно высокой и составляла $6.7 \cdot 10^{-9}$ мг N_2 /(кл. \cdot сут).

Таким образом, одни водоросли (*Anabaena variabilis*, *Sphaerostoc zetterstedtii*) с утерей гетероцист не способны фиксировать молекулярный азот, другие же (*Stratonostoc cuticulare*) обладают такой способностью.

Полученные результаты не позволяют дать однозначного ответа относительно роли гетероцист в азотфиксации. Только ясно, что отсутствие гетероцист не является безусловным показателем неспособности водорослей фиксировать в аэробных условиях молекулярный азот.

Влияние минерального азота и фосфора

Азотфиксирующие синезеленые водоросли не нуждаются в связанном азоте. Однако, как было показано, повышенные концентрации связанного азота ингибируют синтез и активность нитрогеназы.

Влияние связанного азота на нитрогеназную активность синезеленых водорослей проявляется по-разному: полностью подавляет, частично подавляет или не оказывает влияния, что зависит как от условий эксперимента, так и используемых концентраций азота. Аммоний в большинстве случаев является

ключевым регулирующим соединением, независимо от того, добавлен он непосредственно или восстановлен из нитратов.

У водорослей, растущих на среде с аммонием, наблюдаются редукция гетероцист и потеря ими азотфиксирующей активности. При перенесении этих водорослей в среду без связанного азота начинается формирование гетероцист и происходит восстановление нитрогеназной активности. Индукцию образования гетероцист у синезеленых водорослей вызывает уровень истощения внутриклеточного аммиака (Bone, 1972), которое у *Anabaena cylindrica*, по-видимому, имеет место при соотношении углерода и азота внутри клеток, равное 8 (Kulassoriya et al., 1972).

Динамика образования гетероцист в культуре *Anabaena cylindrica* в среде с 5 ммоль NH_4Cl , по данным Мурри и Бенеманна (Murry, Benemann, 1979), была следующей. В среде с аммонием гетероцисты не образовывались и фиксация молекулярного азота отсутствовала. При перенесении водорослей в среду без азота в анаэробных условиях в течение 3 ч наблюдалось образование так называемых прогетероцист. Через 9 ч с момента перенесения водорослей у *A. cylindrica* из них формировались гетероцисты и начинался процесс азотфиксации. Обнаружилось также, что ингибирование активности нитрогеназы аммонием происходило лишь на ранних стадиях образования гетероцист из прогетероцист. На более поздней стадии развития гетероцист активность нитрогеназы в присутствии аммония начинала даже возрастать. Добавление хлористого аммония в фазу интенсивного роста культуры не влияло на процесс азотфиксации; однако по мере старения культуры удельная активность нитрогеназы падала. Полная потеря азотфиксации происходила после 9-часовой обработки водорослей солями аммония, находящихся в стационарной фазе роста.

У *A. variabilis*, характеризующейся образованием слизи, при перенесении со среды с нитратным азотом в среду без его солей, индукция образования гетероцист наблюдалась лишь через 24 ч. Через 48 ч количество гетероцист в среде без азота увеличилось более чем в 20 раз (Ogawa, Carr, 1969).

В озерах при массовом развитии синезеленых водорослей *Aphanizomenon flos-aquae* подавление процесса азотфиксации и образования гетероцист наблюдалось при сравнительно низких концентрациях аммонийных солей — 120—170 мкг $\text{N}_3/\text{л}$ (Vuorio et al., 1978).

Для каждого случая невозможно назвать конкретную концентрацию связанного азота, которая ингибирует у водорослей азотфиксацию. Но все же, к примеру, можно указать, что аммиак в концентрации 10^{-6} — 10^{-8} моль не препятствует азотфиксации у значительного числа синезеленых водорослей (Weaver et al., 1980; Barris, 1982).

Различные виды синезеленых водорослей по-разному относятся к одним и тем же формам связанного азота. Например, у синезеленых водорослей *Hapalosiphon fontinalis*, *Anabaena variabilis*

и *Calothrix elenkinii* азотфиксация задерживалась до момента, пока нитратный и аммонийный азот в среде полностью не потреблялся (Таха, 1964). У других видов, *Stratonostoc linkii* и *Amorpho-nostoc punctiforme*, несмотря на присутствие в среде нитратного азота использовался только молекулярный азот (Феокистова, 1967).

По некоторым данным (Ohmory, Hattori, 1974; Yoch, Gotto, 1982), действие аммония на активность нитрогеназы проявляется при слабой интенсивности света и в аэробных условиях. Степень репрессии нитрогеназы аммонием, например у *Anabaena cylindrica*, зависит от фазы развития водоросли (Murry, Benemann, 1979) и обратно пропорциональна pH среды (Klugkist, Haaker, 1984).

Есть данные, указывающие, что наличие в среде небольших концентраций аммонийного и нитратного азота стимулирует азотфиксацию *Nostoc punctiforme*, *N. poludosum*, *Anabaena variabilis*, *Tolypothrix tenuis*, *Plectonema boryanum*, *Gloeotheca* sp. (Перминова, 1968; Nguen Tchan Choa, 1985).

В природных условиях (вода, почва) была установлена еще более противоречивая реакция азотфиксирующих водорослей на внесение связанного азота, чем в лабораторных опытах при выращивании водорослей на искусственных средах. Внесение одного и того же количества связанного азота в виде сульфата аммония (50 кг/га) в разные почвы вызывает или угнетение азотфиксации, или даже ее стимуляцию (Мишустин и др., 1977; Калининская и др., 1980).

Установлено, что характер действия минеральных азотных удобрений на азотфиксацию зависит от аэробности почвы.

Считается, что внесение в почву азотных удобрений 150—200 кг/га полностью ингибирует азотфиксирующую активность водорослей (Панкратова, 1982).

Влияние минеральных форм азота на азотфиксирующую активность в условиях водоема установить довольно трудно. Однако имеется сообщение, что аммонийные соли в концентрации, превышающей 170 мкг N/л снижали, а в концентрации меньше 50 мкг N/л не оказывали влияния на нитрогеназную активность природной популяции синезеленых водорослей. Но в других озерах концентрация связанного азота, при которой наблюдалось уменьшение азотфиксации, была на порядок меньше (Horne et al., 1979). По нашим наблюдениям, в Рыбинском водохранилище летом 1981—1982 гг. наличие в воде 120—360 мкг N/л в аммонийной и нитратной формах не снижало интенсивности азотфиксации. Поэтому сопоставлять количество связанного азота (или другого элемента) и уровни азотфиксации в водоемах довольно трудно и, по-видимому, нецелесообразно, так как оно ничего не дает для понимания рассматриваемого взаимодействия. Содержание в воде солей азота (как и других биогенных элементов) есть величина, результирующая между «начальной» (действующей) их концентрацией и потребленной автотрофными

организмами. Установить эту «начальную» концентрацию биогенных элементов при постоянно идущих процессах продукции и деструкции органического вещества в водоеме практически невозможно.

Для выявления действия какого-либо агента в условиях водоема используется так называемый метод гидробиологической производительности, когда в исследуемую воду вносят различные соли. В наших экспериментах в волжских водохранилищах при массовом развитии *Aphanizomenon flos-aquae*, *A. scheremetievii*, *Anabaena lemmermannii* и *A. flos-aquae* при добавлении в природную воду KNO_3 и NH_4Cl в концентрации 1 мг/л получили неоднозначные результаты (рис. 17). На некоторых станциях внесенный нитратный и аммонийный азот (соответственно на 13 и 6 из 20 станций) стимулировал процесс азотфиксации. Подавления ее нитратным азотом не наблюдалось, а аммонийный азот ингибировал ее в восьми случаях из двадцати.

Для получения представления о «биогенной ситуации» в водоеме необходимо рассмотреть круговорот и источники поступления в толщу воды основных биогенных элементов — азота, фосфора и железа, наличие которых определяет деятельность азотфиксаторов. Поскольку круговорот азота, фосфора и железа достаточно подробно описан в монографии С. И. Кузнецова (1970), здесь мы коснемся лишь поведения указанных элементов в водоемах в таких ситуациях, в которых они тем или иным образом могут повлиять на деятельность азотфиксаторов.

Содержание солей азота в водоемах (исключая аллохтонный азот) зависит от наличия в воде органических веществ и их трансформации микроорганизмами, которая, в свою очередь, определяется окислительно-восстановительными условиями в среде. Образующееся в результате фотосинтеза органическое вещество фитопланктона, а также зоопланктона и микроорганизмов после отмирания клеток минерализуется до аммонийных и нитратных солей аммонифицирующими и нитрофицирующими бактериями (табл. 3). Аммонификация происходит как в окислительных, так и в восстановительных условиях, а нитрификация только в присутствии кислорода. Наибольшее количество аммонификаторов сосредоточено в иловых отложениях, в которых постоянно происходит продукция аммиака и вынос его в верхние слои воды.

В зависимости от окислительно-восстановительных условий из иловых отложений мезотрофно-евтрофных водоемов может поступить в воду от 0,2 до 80 мг $\text{N} - \text{NH}_4 / (\text{м}^2 \cdot \text{сут})$. В Угличском и Ивановском водохранилищах эта величина в среднем за год составляет 5–36 мг $\text{N} - \text{NH}_4 / (\text{м}^2 \cdot \text{сут})$, а в Рыбинском 0,2–18,9 мг $\text{N} - \text{NH}_4 / (\text{м}^2 \cdot \text{сут})$ (Трифонов, Былинкина, 1977). Максимальное количество аммонийного азота выделяется в середине лета при развитии в водоемах синезеленых водорослей (Денисова, Майстренко, 1965; Трифонов, 1980). Наиболее интенсивно аммиак выделяется в полиминеральных водоемах, с постоянно

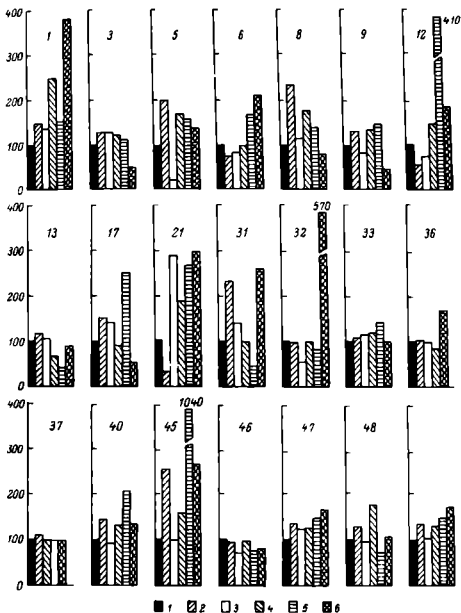


Рис. 17 Влияние биогенных элементов на интенсивность фиксации молекулярного азота в водных водорослях

1 - контроль, 2 - KNO_3 , 3 - NH_4Cl , 4 - K_2HPO_4 , 5 - лимонножелезистое железо, 6 - $KNO_3 + K_2HPO_4$. Цифры на графиках - номера станций.
По оси ординат - азотфиксация, в % к контролю

перемешиваемой водой, по сравнению с меромиктическими водоемами, в которых нижние слои не перемешиваются.

В толще воды численность аммонификаторов невелика. Однако в эпилимнионе при массовом развитии в летнее время синезеленых водорослей и частичном их отмирании создаются восстановительные условия и концентрация анаэробных и факультативно анаэробных аммонификаторов увеличивается иногда в сотни раз. Как следствие этого происходит интенсивное выделение в воду аммиака — до $3 \text{ мг N-NH}_4/\text{л}$ (Брагинский и др., 1968). Массовое развитие синезеленых водорослей в поверхностном слое воды приводит, особенно ночью, почти к полному потреблению кислорода.

Благодаря изменениям в течение дня окислительно-восстановительных условий в воде наблюдаются суточные колебания в содержании аммиачной и нитратной форм азота в сторону увеличения их количеств ночью соответственно в 3 и 20 раз (Денисова, Майстренко, 1965; Сиренко, 1972). Следовательно, источником поступления в воду солей аммония могут быть не только илы, но и толща воды в период массового развития синезеленых водорослей, а повышенные концентрации солей аммония в этот период в воде, несомненно, отрицательно влияют на азотфиксирующую активность водорослей.

В олиготрофных водоемах, бедных органическим веществом, продукция аммиачного азота невелика, и азот благодаря значительному содержанию кислорода в толще воды находится в основном в нитратной форме и в незначительном количестве.

Основные энергетические реакции в живой клетке связаны с метаболизмом фосфора. Азотфиксирующие организмы нуждаются в этом элементе, так как для восстановления одной молекулы азота до аммиака требуется большое количество энергии — 12—30 моль АТФ, содержащей в своем составе фосфор. В зависимости от вида организма и условий среды потребность в фосфоре для роста у синезеленых водорослей может различаться в десятки раз (Помилуйко, 1969). У *Aphanizomenon flos-aquae* и *Anabaena spiroides* хороший рост и высокая скорость азотфиксации наблюдаются при наличии в среде 540—600 мкг Р/л (Гусева, 1966). Азотфиксирующим штаммам *A. variabilis* и *Nostoc pulidosum* для оптимального роста требуется значительно больше фосфора — 4—5 мг/л (Смирнова и др., 1966). Содержания фосфора в водоемах олиго-мезотрофного типа (20—80 мкг Р/л) (Цеев, Чугунов, 1980) явно недостаточно для развития азотфиксирующих водорослей. Поэтому добавление к природной воде солей фосфора, как правило, усиливает процесс азотфиксации (Lundgren, 1978). В выжских водохранилищах добавление к исследуемой воде солей фосфора (рис. 17) увеличивало интенсивность азотфиксации от 110 до 250 % на 12 из 20 исследованных станций (Костяев, 1980б). Корреляция интенсивности азотфиксации с общим запасом в воде солей фосфора отмечалась и для других водоемов (Horne, Goldman, 1972; Vanderhoef et al., 1972), особенно при высокой

азотфиксирующей активности синезеленых водорослей (Hogne et al., 1979).

Круговорот фосфора в годовом цикле водоема аналогичен циклу железа. В иловых отложениях водоемов в значительном количестве присутствуют фосфаты железа и кальция. Растворимость фосфата кальция зависит от реакции среды, а фосфата железа — еще и от формы окисла. Наибольшее растворение соединений фосфора и железа происходит в анаэробных или микроаэрофильных условиях. Поэтому минимальные концентрации этих элементов в воде наблюдаются в периоды весенней и осенней циркуляций, когда вода насыщается кислородом. При этом железо и фосфор выпадают в осадок. Выделение железа в воду из илов в анаэробных условиях происходит в 5 раз интенсивнее, чем в аэробных (соответственно 1.5 и 8 мг Fe / (м² · сут). Выделение из илов фосфатов в Угличском и Ивановском водохранилищах составляет соответственно 0.5 и 1.75 мг P / (м² · сут). Содержание фосфатов в илах превышает их количество в толще воды в 10 раз и уменьшается по мере увеличения глубины ила (Былинкина, 1980).

В фотической зоне большинства изученных водоемов в период интенсивного развития синезеленых водорослей содержание железа и фосфора, особенно последнего, резко падает, но концентрация железа в воде Рыбинского, Угличского и Ивановского водохранилищ не снижается ниже 10 мкг/л. Вследствие изменения окислительно-восстановительных условий в течение дня, как это отмечалось выше, концентрация фосфора и железа повышается в ночное время соответственно в 1.5 и 1.6 раз (Денисова, Майстренко, 1965; Сиренко, 1972).

Таким образом, наличие в воде определенных форм железа, как и уровень концентрации в воде фосфора и азота, зависит от окислительно-восстановительных условий в водоеме. Содержание фосфора и железа в водоемах для развития азотфиксирующих водорослей вполне достаточно. Тот факт, что в водоемах на фоне дефицита биогенов происходит массовое развитие синезеленых водорослей (по гидрохимическим анализам), несомненно, указывает на интенсивную циркуляцию первых в воде за счет деструкционных процессов, которые, например в Рыбинском водохранилище, превосходят интенсивность новообразования органического вещества (Кузнецов и др., 1974). Скорость оборота фосфора наиболее интенсивна летом при массовом развитии синезеленых водорослей. Причем скорость оборачиваемости фосфатов зависит от физиологической активности водорослей и тем выше, чем меньше их содержание в воде. Средняя скорость поглощения и выделения минерального фосфора в период массового развития водорослей в Волжском плесе Рыбинского водохранилища составляет до 44 мкг/(л · сут) (Былинкина, 1980). По-видимому, скорость оборачиваемости и других биогенных элементов также высока.

При расчетах обеспеченности синезеленых водорослей биогенными элементами (азот, фосфор, железо) необходимо учи-

тивать способность водорослей мигрировать в более глубокие слои воды (на дно), где концентрация солей азота, фосфора и железа, как было показано, более высокая, чем в поверхностных слоях водоема. Полагают, что за счет накопления таким путем биогенных элементов из придонных слоев воды синезеленые водоросли могут многократно увеличивать биомассу (Сиренко, 1972).

Влияние тяжелых металлов на синезеленые азотфиксирующие водоросли

Интерес к тяжелым металлам в настоящее время сильно возрос в связи с тем, что их количество в морях и внутренних водах резко увеличилось (Barlett, Rabe, 1974; Cadmium... 1979; Патни, 1979).

Необходимость выяснения влияния тяжелых металлов на водоросли — первого звена трофической цепи в водоемах — преследует две главные цели: изучение действия тяжелых металлов на различные группы водорослей и возможность на основе этого прогнозировать последствия повреждения водорослей в условиях водоемов.

В отличие от азота и фосфора некоторые тяжелые металлы (цинк, медь и кобальт) для развития микроорганизмов требуются в незначительных количествах и поэтому относятся к группе микроэлементов. Для нормального развития микроорганизмов необходимо также наличие в среде и железа.

Потребность различных микроорганизмов в микроэлементах приблизительно следующая: железа — 15, цинка — 5, меди — 1 и кобальта — 1 мг на 100 г сухой биомассы (Pert, 1978). Тяжелые металлы входят в состав ферментов, которые осуществляют важные реакции клеточного метаболизма. В повышенных концентрациях эти металлы подавляют жизнедеятельность микроорганизмов. Установлено, что тяжелые металлы относятся к неспецифическим ингибиторам анаболизма и катаболизма клеток и вызывают инактивацию различных ферментов (Hugo, 1971). Их токсическое действие на микроорганизмы начинается проявляться при концентрации в среде более 10^{-4} моль (Pert, 1978).

По имеющейся обширной литературе по влиянию тяжелых металлов на рост, фотосинтез и дыхание различных групп водорослей наиболее резистентными к тяжелым металлам оказались зеленые водоросли (Накани, Корсак, 1976; Cadmium... 1979; Nriagu, 1980; Носов, Гельфанд, 1982; Сироткин, Корсак, 1982; Brown, Beckett 1985). У них подавление роста тяжелыми металлами наблюдается при высоких концентрациях — до нескольких миллиграммов на литр среды (Barlett, Rabe, 1974; Горюнова, 1980; Rachlin et al., 1982; Горюнова и др., 1984; Rebhum, Ben-Amotz, 1984). Отмечается, что характер действия тяжелых метал-

лов на водоросли зависит от температуры, pH, наличия других металлов и физиологического состояния водорослей (Шавырина, Гапачка, 1983).

Данных по влиянию тяжелых металлов на синезеленые азот-фиксирующие водоросли, которые вызывают цветение воды в водоемах, имеется мало.

Закономерности накопления тяжелых металлов различными водорослями сводятся в основном к следующему (Slary et al., 1983; Горюнова и др., 1984; Michnowicz, Weak, 1984; Улит, 1985): 1. Накопление металлов протекает на поверхности клеток. 2. Максимальное накопление происходит при минимальном содержании их в среде. 3. Коэффициент накопления увеличивается с уменьшением геометрического объема клетки и зависит от pH воды.

Железо. Железо входит в состав многих ферментов, участвующих в реакциях фотосинтеза и дыхания микроорганизмов. Железосодержащие ферменты, с одной стороны, непосредственно участвуют в синтезе хлорофилл-белкового комплекса, являясь катализаторами синтеза порфириновой части пигмента, с другой — играют важную роль в синтезе белка (Marsh et al., 1963). Негеминное железо входит в активный центр железосодержащего белка — ферредоксина, синтез которого зависит от содержания железа в культуральной среде. Фермент, осуществляющий фиксацию молекулярного азота, — нитрогеназа в общей сложности содержит 30 атомов негеминного железа.

Имеются данные (Hardie et al., 1983), указывающие на то, что железо оказывает влияние на азотный метаболизм синезеленых водорослей: недостаток его в среде вызывает уменьшение активности нитрит- и нитрат-редуктаз. Все это объясняет повышенное содержание в азотфиксирующих водорослях железа (Удельнова и др., 1974).

Накопление железа в клетках водорослей зависит от формы его соединений. При одинаковых количествах его в питательной среде (1.5 мг/л) ассимиляция этого элемента у разных видов водорослей различна. Рассмотрим в качестве примера 3 вида водорослей. У зеленой водоросли *Dictyosphaerium pulchellum* на 5-е сутки опыта содержание железа в клетках возросло от исходного (около нуля) до 1.07 мг/л в случае сульфата и хлорида железа, до 0.83—0.95 мг/л в случае $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + ЭДТА и лимоннокислого железа, и 0.33 мг/л в случае гидрата окиси железа. Затем темпы накопления хлорида и лимоннокислого железа в клетках *D. pulchellum* замедлялись, тогда как гидрата железа резко возростали. После 11 сут опыта концентрация хлорида железа и сульфата железа с ЭДТА в клетках этой водоросли снижались, а лимоннокислого железа оставалась почти неизменной (рис. 18).

У *Anabaena spiroides* на 5-е сутки опыта содержание нитрата и сульфата железа было одинаковым и составляло 0.85 мг/л, а содержание хлорида железа было 0.55 мг/л. Затем прож...

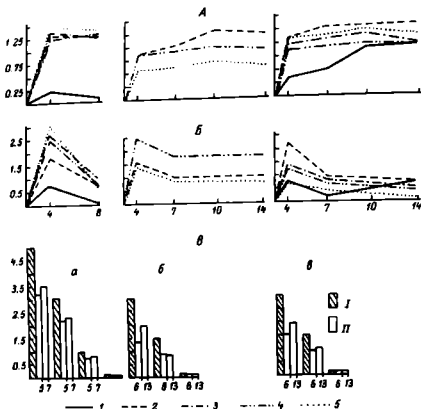


Рис 18 Накопление водорослями различных форм железа.

а — *Anabaena oscillarioides* f. *torulosa*, б — *A. spiroides*, в — *Dityosphaerium pulchellum*. А — в процессе роста. Б — на миллиграмм сухой массы. В — накопление различных концентраций железа в формах $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (I) и FeCl_3 (II, III). I' — внесено железа, I'' — накоплено железа водорослями. 1 — $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2 — $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, 3 — $\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ + ЭДТА, 4 — $\text{FeC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 5 — FeCl_3 .

По оси ординат — Fe, мг/л или Fe, мг/мг сухой массы, по оси абсцисс — сут

постепенное увеличение концентрации всех форм соединений железа. Максимальным оно было в случае сульфата железа. На внесение гидрата железа *A. spiroides* реагировала отрицательно, рост культуры практически отсутствовал. Однако *A. oscillarioides* и *Dityosphaerium pulchellum* были способны усваивать указанные формы железа. У *Anabaena oscillarioides* в первые 5 сут резко увеличивалось содержание в клетках водорослей всех форм железа, исключая гидрат окиси железа. Наибольшее его накопление наблюдалось в суспензии с хлоридом железа (1.47 мг/л). Ближние величины получены для $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + ЭДТА, пиррата и сульфата железа (1.2–1.35 мг/л). Менее всего использовалась этой культурой гидратная форма железа (не более 0.22 мг/л).

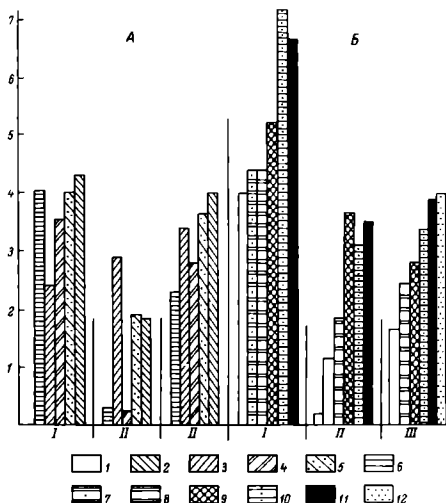


Рис. 19 Влияние форм железа на накопление биомассы водорослей

А - различные формы железа. Б - концентрация железа в формах $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ и FeCl_3 . I - *Dictyosphaerium pulchellum*, II - *Anabaena spirouides*, III - *A. oscillarioides* (только I - отсутствие железа, 2 - $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, 3 - $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, 4 - $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, 5 - $\text{Fe}_2\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 6 - FeCl_3 , 7 - 0.0015 мг/л, 8 - 0.015, 9 - 0.15, 10 - 1.5, 11 - 3, 12 - 5 мг/л

По оси ординат - сухая масса водорослей, мг на 100 мл среды

Анализ содержания железа в клетках водорослей показывает, что его интенсивное накопление идет в первые сутки опыта. Затем наблюдается его резкое снижение в единице сухой массы, вызванное возрастанием численности клеток, при этом общее количество железа продолжает оставаться постоянным. При замедлении роста водорослей содержание железа на единицу сухой массы изменяется незначительно (рис. 19)

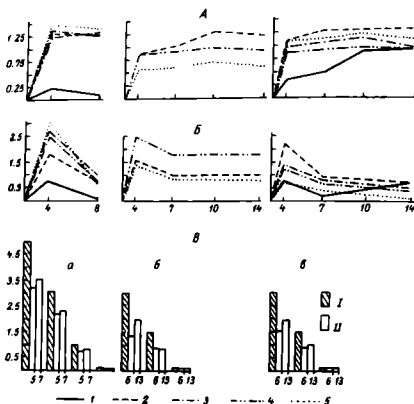


Рис. 18 Накопление водорослями различных форм железа

а — *Anabaena oscillarioides* (torulosa); б — *A. spiroides*; в — *Dictyosphaerium pulchellum*. А — в процессе роста; Б — на инкубации сухой массы; В — накопление различных концентраций железа в формах $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (I) и FeCl_3 (II). III — внесено железа, IV — накопление железа водорослями; 1 — $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, 2 — $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, 3 — $\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ + ЭДТА, 4 — $\text{FeC}_2\text{H}_3\text{O}_7 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, 5 — FeCl_3 . По оси ординат — Fe, мг/л или Fe, мг/г сухой массы, по оси абсцисс — сут.

постепенное увеличение концентрации всех форм соединений железа. Максимальным оно было в случае сульфата железа. На внесение гидрата железа *A. spiroides* реагировала отрицательно, рост культуры практически отсутствовал. Однако *A. oscillarioides* и *Dictyosphaerium pulchellum* были способны усваивать указанные формы железа. У *Anabaena oscillarioides* в первые 5 сут резко увеличивалось содержание в клетках водорослей всех форм железа, исключая гидрат окиси железа. Наибольшее его накопление наблюдалось в суспензии с хлоридом железа (1.47 мг/л). Близкие величины получены для $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + ЭДТА, цитрата и сульфата железа (1.2—1.35 мг/л). Менее всего использовалась этой культурой гидратная форма железа (не более 0.22 мг/л).

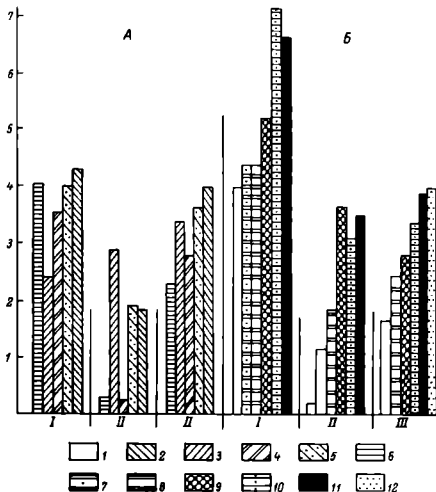


Рис. 19. Влияние форм железа на накопление биомассы водорослей

A — различные формы железа. Б — концентрации железа в формах $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ и FeCl_3 . I — *Dictyosphaerium pulchellum*, II — *Anabaena spiroides*, III — *A. oscillatoides* f. *torulosa*. 1 — отсутствие железа. 2 — $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, 3 — $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, 4 — $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{DTA}$, 5 — $\text{FeC}_2\text{H}_3\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 6 — FeCl_3 , 7 — 0.0015 мг/л, 8 — 0.015, 9 — 0.15, 10 — 1.5, 11 — 3, 12 — 5 мг/л.

По оси ординат — сухая масса водорослей, мг на 100 мл среды

Анализ содержания железа в клетках водорослей показывает, что его интенсивное накопление идет в первые сутки опыта. Затем наблюдается его резкое снижение в единице сухой массы, вызванное возрастанием численности клеток, при этом общее количество железа продолжает оставаться постоянным. При замедлении роста водорослей содержание железа на единицу сухой массы изменяется незначительно (рис. 19).

Клетки *A. spiroides* и *Dictyosphaerium pulchellum* наиболее полно используют железо в форме $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, а *Anabaena oscillarioides* лучше усваивает хлорид железа. Однако в пересчете на единицу сухой массы эти закономерности не сохраняются: у *A. spiroides* накапливалось в основном цитратное железо, тогда как у *Dictyosphaerium pulchellum* и *Anabaena oscillarioides* — хлоридная форма железа (рис. 19).

В опытах по влиянию на рост *A. spiroides* разных концентраций $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, а на *A. oscillarioides* и *Dictyosphaerium pulchellum* — FeCl_3 было показано, что поглощение внесенного железа было приблизительно одинаковым (60—70 % от внесенного). В пересчете на единицу сухой массы наибольшее количество железа у водорослей накапливалось при 1—1.5 мг/л.

Известно, что ЭДТА при минимальных концентрациях железа прочно связывает его и тем самым снижает доступность для некоторых растений и микроорганизмов. *Anabaena spiroides* по сравнению с *A. oscillarioides* и *Dictyosphaerium pulchellum* не способна усваивать железо из прочносвязанных форм. Это различие объясняется тем, что у *Anabaena oscillarioides* и *Dictyosphaerium pulchellum* поверхность клеток обильно покрыта слизью, на которой, по-видимому, происходят ионообменные реакции (Fogg, 1966), способствующие усвоению железа водорослями из прочных комплексов.

Для *Anabaena spiroides* максимальный прирост биомассы отмечался при внесении сернокислого железа, а для *A. oscillarioides* и *Dictyosphaerium pulchellum* — при наличии в среде хлорида железа. У *Anabaena spiroides* при внесении сернокислого железа совместно с 40 мг/л ЭДТА с гидратом окиси железа роста практически не наблюдалось по сравнению с *A. oscillarioides* и *Dictyosphaerium pulchellum*, которые значительно увеличивали свою биомассу. Максимальный рост *Anabaena spiroides* отмечался при концентрации 0.15—3.0 мг $\text{Fe}/\text{л}$, *A. oscillarioides* — 3—5 мг/л, *Dictyosphaerium pulchellum* — 1.5—3 мг $\text{Fe}/\text{л}$ (рис. 19).

По другим данным (Кароог, Sharma, 1979), для роста и азотфиксации у *Anabaena doliolum* на среде Кратца—Майерса железа необходимо 20 мг/л. Однако в этих опытах для выращивания водорослей использовалась среда с добавлением ЭДТА, что снижает доступность железа для водорослей.

Таким образом, оптимальными концентрациями для роста исследованных водорослей являются 0.15—3 мг $\text{Fe}/\text{л}$. Минимальный рост водорослей отмечен в среде без железа. Возможность роста некоторых водорослей в течение первых суток опыта в среде без железа объясняется, вероятно, внутренними ресурсами этого элемента в клетке, ранее накопленными при культивировании на среде с железом. Этот же факт может указывать и на пониженную требовательность к железу у *A. oscillarioides* и *Dictyosphaerium pulchellum*.

Anabaena spiroides наиболее остро реагировала на отсутствие железа. Железо оказывает влияние не только на скорость роста

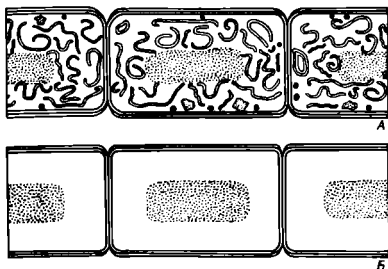


Рис. 20. Ультратонкое строение *Anabaena oscillarioides*, выращенной на среде с железом (А) и без железа (Б)

фототрофных микроорганизмов, но и на синтез ими пигментов (Аникушина и др., 1976).

Оптимальная концентрация железа для синтеза хлорофиллов у азотфиксирующих водорослей *A. oscillarioides* — 0,1 мг/л, у *A. spiroides* — 1,5 мг/л, т. е. второй вид более требователен к железу. Отсутствие железа в среде у обоих видов синезеленых водорослей вызывает типичный хлороз — усиление каротиногена, увеличение соотношения каротиноиды/хлорофилл «а» (Аникушина и др., 1976).

Таким образом, железо оказывает влияние на различные стороны метаболизма зеленых и синезеленых водорослей. Недостаток железа в среде приводит к нарушению синтеза хлорофилла, что подтверждается также электронно-микроскопическими исследованиями синезеленых водорослей.

Ультраструктура хлоротичных водорослей отличается от таковой контрольных водорослей главным образом отсутствием ламелл фотосинтетического аппарата (рис. 20), что было установлено и для других синезеленых водорослей (Guikema, Sherman, 1984). Следствием этого было подавление азотфиксации у *A. spiroides* и *A. oscillarioides*.

Максимальная величина фиксации молекулярного азота в расчете на 1 мг сухой массы у обоих видов водорослей отмечалась в вариантах с хлорным железом, минимальная — в вариантах без железа и с гидратом окиси железа. В присутствии $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + \text{ЭДТА}$ у *A. spiroides* азотфиксация отсутствовала (рост подавлен), а у *A. oscillarioides* она была значительной (рис. 21). Минимальная фиксация азота отмечена при отсутствии железа, максимальная — при добавлении хлорида железа.

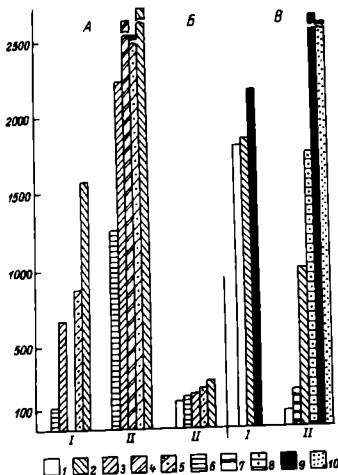


Рис. 21. Влияние форм железа на фиксацию молекулярного азота водорослями

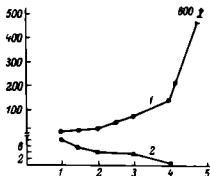
А — различные формы железа; В — кратковременный опыт В — FeCl_3 в различных концентрациях: I — *Anabaena spiroides*, II — *A. oscillarioides*; 1 — *torulosa*; 2 — 0,015 мг/л; 3 — 0,03 мг/л; 4 — 0,05 мг/л; 5 — 0,1 мг/л; 6 — 0,2 мг/л; 7 — 0,3 мг/л; 8 — 0,4 мг/л; 9 — 0,5 мг/л; 10 — 0,6 мг/л.

По оси ординат — количество фиксированного азота, мг / (см² · сут). Остальные обозначения те же, что на рис. 19.

С наиболее высокой скоростью азотфиксации у *A. oscillarioides* и *A. spiroides* происходила при содержании железа 3 мг/л. В вариантах без железа азотфиксация прекращалась на 4-е сутки, в среде с железом она была значительной и достигала максимума на 5-е сутки (рис. 22). Таким образом, максимальная азотфиксация соответствовала наибольшему накоплению железа водорослями. Ряд данных (Удельнова и др., 1974; Pascl, 1982) подтверждает эту закономерность. Максимальное накопление железа наблюдается в гетероцистах *A. cylindrica*, которая интенсивно фиксировала азот (рис. 23).

Рис. 22. Интенсивность азотфиксации *Anabaena spiroides* на среде с железом (1) и без железа (2).

По оси ординат — степень азотфиксации, отн. ед., по оси абсцисс — экспозиция, сут.



В опытах с водой волжских водохранилищ выявлено положительное влияние внесенного железа на азотфиксацию *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena spiroides* и *A. flos-aquae*. Положительный эффект наблюдался на 13 из 20 станций, а интенсивность азотфиксации составляла от 110 до 1040 % от контроля (без внесения железа) (см. рис. 17). Имеются наблюдения, что в природных условиях на сильном солнечном свете недостаток железа в воде вызывает массовую гибель синезеленых водорослей (Wurtsbaugh, Horne, 1983).

Медь, свинец, кадмий, цинк и кобальт. Наши эксперименты показали, что в клетках синезеленой водоросли *A. spiroides* наиболее интенсивно накапливается свинец и кадмий, значительно меньше — медь (рис. 24). С увеличением концентрации металла в среде содержание его в клетках водорослей в пересчете на единицу сухой массы возрастает. Для свинца при концентрациях 500 и 100 мкг/л эта величина оказалась одинаковой — $1.3 \cdot 10^{-2}$ мкг/л. Минимальное его содержание в клетках ($2 \cdot 10^{-3}$ мкг/л) обнаружилось при концентрации 5 мкг/л.

Аналогичные результаты получены и для кадмия в опытах с зелеными водорослями *Scenedesmus quadricauda* и *Chlorella pyrenoidosa*, у которых поглощение этого элемента клетками было в 3 раза выше поглощения кобальта и в 5 раз выше поглощения цинка (Горюнова, 1980; Горюнова и др., 1984).

Большее накопление металлов при минимальном содержании их в среде (табл. 4), несомненно, свидетельствует об их активном транспорте в клетки, что влияет на усиление размножения водорослей. При высоком содержании в среде, когда они оказывают токсическое действие, данный эффект отсутствует.

Небольшие концентрации свинца (0.005–0.01 мг/л) вызывают слабую стимуляцию роста у *Anabaena spiroides*. При концентрации свинца 0.2 мг/л рост водорослей прекращается (рис. 25).

В условиях водоема подавление свинцом роста у синезеленых водорослей происходило при концентрации его в воде 0.05–1.5 мг/л (Накани, Корсак, 1976; Балод, 1982), что весьма близко к нашим данным.

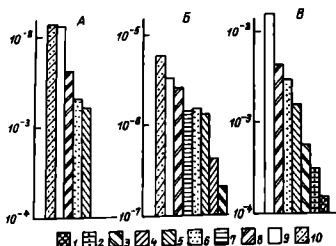


Рис 24 Накопление водорослями тяжелых металлов на единицу сухой массы.
 А — кадмий, Б — медь, В — цинк. 1 — 0,05 мг/л, 2 — 0,1, 3 — 1, 4 — 25; 5 — 50;
 6 — 100, 7 — 250, 8 — 500, 9 — 1000, 10 — 5000 мг/л.
 По оси ординат — концентрация металла, мкг

Действие ионов меди на размножение водорослей в интервале концентраций 0,0025—0,0075 мг/л оказалось сходным. В конце опыта наблюдалось снижение роста на 30—35 % от контроля (рис 25). Более токсичное действие отмечалось при концентрации меди 0,01 мг/л — размножение подавлялось примерно на 45 %. Медь в концентрациях 0,025—0,05 мг/л к концу опыта вызывала лизис клеток водорослей. Характер влияния меди на накопление сухой массы и изменение численности водорослей был аналогичным (рис 25; 26).

Таблица 4

Накопление тяжелых металлов *Alabastra spiralis* в зависимости от их содержания в среде, %

(по Анкишина и др., 1978)

| Исходное содержание металла, мкг %/л | Кадмий | Свинец | Медь |
|--------------------------------------|--------|--------|------|
| 0,05 | | | |
| 0,1 | | | |
| 1,0 | | | |
| 2,5 | | | |
| 5,0 | | | |
| 10,0 | | | |
| 25,0 | | | |
| 50,0 | | | |
| 100,0 | | | |
| 500,0 | | | |

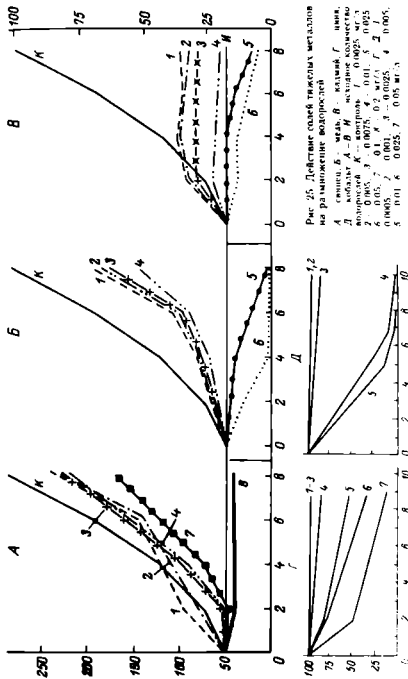


Рис. 25. Действие солей тяжелых металлов на размножение водорослей

А - свинец, Б - медь, В - кадмий, Г - цинк, Д - кобальт, А - В - H - исходное количество водорослей, К - контроль, I - 0.0025, II - 0.005, III - 0.0075, IV - 0.01, V - 0.025, VI - 0.05, VII - 0.1, VIII - 0.2 мг/л, Г - Д - 0.005, I - 0.01, II - 0.025, III - 0.05 мг/л.

25, 50, 100 мг/л. А - свинец, Б - медь, В - кадмий, Г - цинк, Д - кобальт, А - В - H - исходное количество водорослей, К - контроль, I - 0.0025, II - 0.005, III - 0.0075, IV - 0.01, V - 0.025, VI - 0.05, VII - 0.1, VIII - 0.2 мг/л, Г - Д - 0.005, I - 0.01, II - 0.025, III - 0.05 мг/л.

Данные других исследований (Ruhai, Singh, 1980) показывают, что характер действия меди на азотфиксирующие водоросли *A. dohlohim* зависит от формы азота в среде. Так, медь в концентрациях 0.0025–0.01 мг/л вызывала стимуляцию роста водоросли на среде без азота или в присутствии нитрата и подавляла рост водорослей в среде с аммонийным азотом.

У другой синезеленой водоросли *Spirulina platensis* летальный эффект отмечался при высокой концентрации меди в среде — 1.3 мг/л (Pande, Sarkar, 1981).

Ионы кадмия в тех же концентрациях, что и свинца (0.0025–0.0075 мг/л) вызывали небольшую стимуляцию скорости размно-

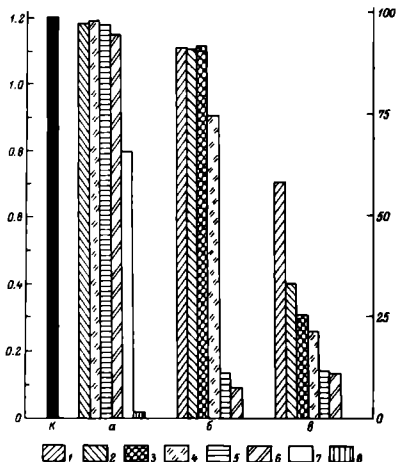


Рис. 26. Влияние солей тяжелых металлов на биомассу водорослей

По оси ординат слева — масса водорослей, мг из 10 мл среды; справа — %, к контролю. Обозначения те же, что и на рис. 25.

жения водорослей, но она была характерна лишь для начального периода опытов (рис. 26). Кадмий оказался для *Anabaena spiroides* более токсичным, чем свинец и медь. При концентрации Cd 0.0025 мг/л скорость роста водорослей снижалась на 65 %. При содержании в среде 0.025—0.05 мг Cd/л происходило полное подавление роста водорослей и наблюдался лизис клеток. Влияние кадмия на накопление биомассы водорослей было сходным с рассмотренным выше изменением численности *A. spiroides*.

Аналогичные результаты были получены в экспериментах с другими видами синезеленых азотфиксирующих водорослей, у которых подавление кадмием роста наблюдалось в интервале концентраций 0.01—0.06 мг/л (Henriksson, Dasilva, 1978; Stratton, Corke, 1979; Singh, Pandey, 1981; Носов, Гельфанд, 1982; Еропова и др., 1985).

На неблагоприятные условия среды водоросли обычно отвечают интенсивным спорообразованием. Количество спор в присутствии солей тяжелых металлов значительно превышало их число в контроле, особенно в опытах с медью (рис. 27). Итак, усиленное спорообразование у водорослей под влиянием металлов, не вызывающее заметного изменения численности и биомассы микроорганизмов, дает основание говорить об отрицательном влиянии металлов на *A. spiroides*.

Наличие в среде солей цинка и кобальта в концентрациях 0.005, 0.0025 мг/л соответственно также снижало скорость роста *A. spiroides*, а полное подавление развития культуры имело место в присутствии 0.05 мг/л цинка и 0.005 мг/л кобальта, т. е. кобальт на порядок токсичнее цинка (рис. 25).

В отличие от *A. spiroides* прекращение роста у зеленой водоросли *Solenastrum* sp. наблюдается при более высокой концентрации цинка — 0.12 мг/л (Barlett, Rabe, 1974).

В опытах с фитопланктоном Рыбинского водохранилища, в котором преобладали синезеленые водоросли, было установлено, что цинк в концентрации 0.1 мг/л подавляет первичную продукцию водорослей (Накани, Корсак, 1976) и их рост, не оказывая никакого влияния на зеленые водоросли (Сироткин, Корсак, 1982).

По данным С. В. Горюновой и Т. У. Максудова (1971), подавление роста некоторых цианобактерий происходит при концентрации кобальта 0.05 мг/л, что на порядок выше, чем установлено в наших опытах с *Anabaena spiroides*. Такое различие, вероятно, обусловлено не только видовыми особенностями исследованных водорослей (условия культивирования были сходными), но, по-видимому, в большей степени тем, что в упомянутой работе изучались культуры, находившиеся в конце логарифмической фазы роста, в которой их резистентность к металлам максимальна (см. наст. кн.: с. 65).

Исследованные металлы по степени угнетения роста водорослей можно расположить в следующей последовательности: Cd > Cu > Co > Zn > Pb.

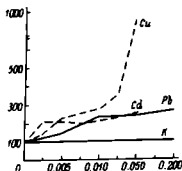


Рис. 27 Интенсивность образования у водорослей спор под влиянием металлов. По оси ординат — количество спор в среде с металлами, % к контролю (К); по оси абсцисс — концентрация металлов, мг/л.

Наиболее токсичное действие на развитие фототрофных микроорганизмов оказывает кадмий, наименее — свинец, хотя, как это было показано выше, накопление этих элементов водорослями было выше, чем других металлов.

Соли тяжелых металлов оказывают стимулирующее действие на синтез каротиноидов водорослей и снижают образование ими хлорофилла, что приводит к увеличению отношения каротиноиды/хлорофилл «а» (рис. 28).

Азотфиксация у *A. spiroides* более чувствительна к действию некоторых ионов тяжелых металлов, кроме меди и кобальта, чем размножение или накопление биомассы этих водорослей. При концентрации свинца в среде около 0.1 мг/л численность водорослей отличалась от контрольной на 40 %, биомасса — на 35 %, а скорость азотфиксации — на 70 % (рис. 25, 26, 29). При содержании кадмия 0.005—0.0075 мг/л количество водорослей составляло около 30 % от контроля, а способность к азотфиксации полностью подавлялась. При содержании в ростовой среде меди 0.0025—0.0075 мг/л, свинца 0.005—0.01 и кадмия 0.0026 мг/л характер действия ионов этих металлов на скорость азотфиксации был сходным с изменением численности водорослей в этих вариантах. Повышающаяся концентрация солей металлов сильнее подавляла азотфиксацию, чем размножение водорослей (рис. 25, 29).

Показано также, что у водорослей таких видов, как *Nostoc muscorum*, *Westiellopsis* sp., *Chlorogloea fritschii* небольшие концентрации кадмия, цинка и свинца (0.005—0.025 мг/л) оказывали стимулирующее действие на азотфиксацию. При увеличении концентраций тяжелых металлов в 5 раз (0.025—0.125) наблюдалось полное подавление азотфиксации (Henriksson, Dasilva, 1978).

У другой азотфиксирующей водоросли *Anabaena doliolum* ингибирующее действие ионов меди на азотфиксацию вызывалось такими же концентрациями, но этот эффект проявлялся лишь у водоросли на среде с аммонием (Ruhel, Singh, 1980).

Медь в концентрации 0.005 мг/л на 8-е сутки оказывала ингибирующее действие (80 %) на азотфиксацию *Anabaena* sp.,

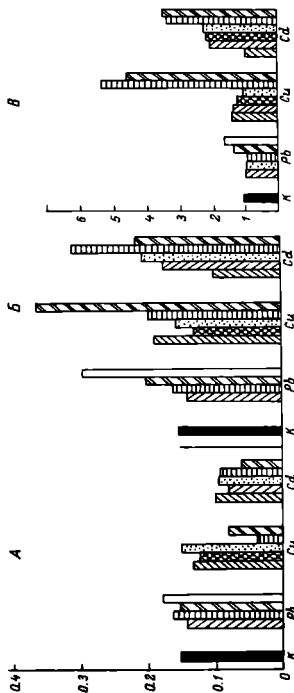


Рис. 2В. Влияние сильней тяжёлых металлов на пигменты водорослей

А - хлорофилл а, Б - хлорофилл б. В - индекс отношения каротиноидов/хлорофилл «а»

По оси ординат А, Б - относительное содержание пигментов на единицу сухой массы. В - индекс отношения каротиноидов/хлорофилл «а»

Степень обозначения 1г ж.с. - чёрный, 2г ж.с. - диагональ, 3г ж.с. - крест, 4г ж.с. - точка.

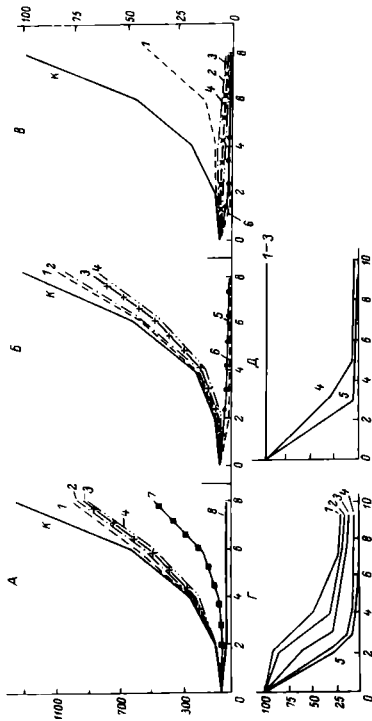


Рис. 24. Действие металлов на азотфиксацию водорослей.

Полнорифмовый слайд — А — В — фиксация молекулярного азота, отн. ед., справа — то же, % в контроле в конце опыта, Г, Д — то же, %, в конце опыта. Остальные обозначения те же, что и на рис. 25

Aphanizomenon flos-aquae, а при содержании меди в воде 0.01 мг/л полное подавление азотфиксации имело место уже на 2-е сутки опыта. Отрицательное действие меди на азотфиксацию было значительно сильнее, чем на фотосинтез синезеленых водорослей (Horne, 1978).

В опытах с *Anabaena spiroides* нами было показано (Аникушина и др., 1978), что стимулирующее действие свинца и кадмия на размножение водорослей в первые дни опыта не отражается на скорости азотфиксации. Однако действие небольших концентраций цинка и кобальта существенно различается. Цинк в концентрации 0.0025 мг/л на 9-е сутки подавлял фиксацию азота на 80 %, тогда как кобальт в той же концентрации не влиял на этот процесс (рис. 29). Возможно, что отсутствие эффекта кобальта в такой концентрации связано с тем, что в низких концентрациях он необходим водорослям для осуществления фиксации молекулярного азота (Горюнова, Максудов, 1971). У колонизальной синезеленой водоросли со слизью *Nostoc linckia* ингибирование азотфиксации наблюдалось при еще больших концентрациях хлористого кобальта, начиная с 0.2 моль (Kumar et al., 1985).

Итак, по степени ингибирующего действия на азотфиксацию у *Anabaena spiroides* исследованные металлы можно расположить в такой последовательности: $Zn > Cd > Co > Cu > Pb$.

Влияние тяжелых металлов на ультраструктуру *A. spiroides* показано на рис. 30.

Под влиянием солей тяжелых металлов происходит массовое образование спор толщиной 0.2—0.3 мкм, окруженных толстыми оболочками (см. рис. 2, Д). Ультраструктура спор, образовавшихся под влиянием различных металлов, практически одинакова. Однако у неспорулировавших клеток, находившихся под воздействием металлов, наблюдается ряд особенностей, зависящих от влияния того или иного металла (рис. 30). Под влиянием тяжелых металлов в первую очередь происходит нарушение в структуре газовых вакуолей. Под воздействием солей меди наблюдается специфическое увеличение внутритилакондных пространств.

Для выяснения вопроса, зависит ли устойчивость водорослей к ионам металлов от фазы роста, ежедневно исследовали влияние кобальта в одной и той же концентрации (0.02 мг/л) на их фотосинтез (температура в опыте 24 °C).

Фазы развития водорослей и минимальное время, необходимое для подавления кобальтом 50 % фотосинтеза водорослей, представлены на рис. 31. По мере роста водорослей их устойчивость к кобальту увеличивается, достигая максимального значения к концу логарифмической фазы интенсивного роста, затем падает. Таким образом, *A. spiroides* наиболее чувствительна к кобальту в начале фазы интенсивного роста, наименее — в конце ее.

Повышенная резистентность к металлам в лаг-фазе роста была характерна также и для зеленых водорослей (Горюнова, 1980).

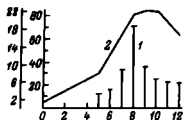


Рис 31 Фазы развития водорослей и резистентность их к кобальту.

1 — фотосинтез; 2 — численность водорослей

По оси ординат: слева — время, необходимое для подавления 50 % фотосинтеза водорослей ч, справа — численность водорослей, тыс. кл./мл. По оси абсцисс — дни наблюдения

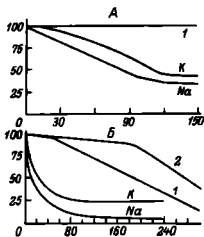


Рис 32 Влияние цинка (А) и кобальта (Б) на интенсивность выхода калия и натрия из водорослей

1 — фотосинтез; 2 — азотфиксация

По оси ординат — интенсивность фотосинтеза и азотфиксации, % к контролю; по оси абсцисс — время наблюдения, мин.

Возможно, это объясняется усиленным выделением молодыми клетками водорослей восстановительных веществ и более интенсивным функционированием в логарифмической фазе роста водорослей их защитных механизмов.

У синезеленых водорослей, как и других организмов, активный транспорт ионов через мембрану клетки осуществляет АТФаза, активируемая ионами магния, калия, натрия (Мирсалихова и др., 1969). Концентрация натрия и калия в клетке поддерживается на определенном уровне (Yost, 1975). Нарушение проницаемости мембраны при повреждении приводит к выводу этих элементов из клеток. Поэтому о состоянии цитоплазматической мембраны и о первичных реакциях клетки на какое-либо воздействие можно судить по изменению концентрации калия и натрия в клетках после контакта водорослей с тяжелыми металлами.

Оказалось, что при действии на водоросли цинка в небольшой концентрации изменения в содержании калия и натрия заметны уже через 30 мин после контакта их с металлом. Через 150 мин из клеток выходит 56 % ионов калия и 70 % натрия, а интенсивность фотосинтеза водорослей остается такой же, как и в контроле; только через 20 ч она на 20 % уменьшается по сравнению с контролем. В опыте с кобальтом в концентрации 0.04 мг/л (рис. 32, А) первичной реакцией водорослей на воздействие

Таблица 5

Токсические концентрации тяжелых металлов для высших водорослей

| Металл | Токсическая концентрация, мкг/л | ПДК в воде, мкг/л | Превышение ПДК над токсической концентрацией, раз |
|---------|---------------------------------|-------------------|---|
| Кадмий | 2,5 | 5 | 2 |
| Кобальт | >2,5<5 | 10 | 4—2 |
| Цинк | >5<10 | 10 | 2—1 |
| Медь | 7,5—10 | 10 | 1,3—1 |
| Свинец | 50 | 100 | 2 |

металла было существенное изменение проницаемости, выразившееся в значительной потере клетками в первые минуты калия (50 %) и натрия (64 %) при неизменной интенсивности фотосинтеза и азотфиксации за то же время. Через 60 мин потери калия составила 69 %, а натрия — 87 %, и началось снижение интенсивности фотосинтеза и азотфиксации. Их величины уменьшились за это время на 9 % и 6 % соответственно. Фотосинтез подавлялся быстрее и в большей степени, чем фиксация молекулярного азота у водорослей (рис. 32, Б). Следовательно, первичное действие цинка и кобальта на клетки водорослей, по видимому, выражается в действии на их цитоплазматическую мембрану и вызывает нарушение ее проницаемости. Следствием этого было сначала ингибирование фотосинтеза, затем фиксации молекулярного азота и наконец размножения водорослей. Таким образом, наибольшей токсичностью для *A. spiroides* обладают кадмий и кобальт, наименьшей — свинец. Токсические концентрации металлов для исследуемой водоросли в несколько раз меньше официально установленных предельно допустимых концентраций (ПДК) в воде (табл. 5).

Глава V

О СПОСОБНОСТИ ЛИШАЙНИКОВ И СВОБОДНОЖИВУЩИХ ГРИБОВ К АЗОТФИКСАЦИИ

Фиксация молекулярного азота у лишайников

Лишайники распространены на нашей планете в различных климатических зонах, но наибольшее их количество встречается в высоких широтах, где они часто образуют единственный растительный покров. Экология лишайников многообразна. Имеются типично водные лишайники, которые периодически омываются водой или же находятся в толще воды, например *Dermaparpon miniatum* (Гарнбова и др., 1978).

Лишайники относятся к группе низших растений и являются симбионтами грибов (микобионт) и водорослей — синезеленых и зеленых (фикобионт). Микобионты лишайников принадлежат в основном к сумчатым грибам (пиреномицеты и дискомицеты) и реже — к базидиомицетам. Среди фикобионтов (синезеленые водоросли) имеется много азотфиксаторов из родов *Calothrix*, *Stigonema*, *Nostoc* и др. Фикобионт в лишайнике может состоять или из зеленых, или только из синезеленых водорослей, но часто они в лишайниках находятся вместе.

Характер взаимоотношений между грибами и водорослями в лишайнике до сих пор не совсем ясен и характеризуется очень широко — от паразитизма гриба на водоросли — до мутуализма, приносящего пользу обоим компонентам. Несомненно, однако, что грибы и водоросли в лишайнике в той или иной степени взаимобразно используют продукты метаболизма.

В составе лишайников синезеленые водоросли, особенно нитчатые формы, сильно изменяются, но в отличие от ризобий они могут быть выделены из лишайника и функционировать без потери их нормального метаболизма и фиксации молекулярного азота.

По своему строению лишайники можно разделить на два типа: гомеомерный — водоросли расположены диффузно между гифами гриба, гетеромерный тип — водоросли в лишайнике образуют упорядоченный слой (сверху или снизу лишайника). Иногда водоросли находятся в специальных выростах — цефалодиях, расположенных на поверхности лишайников. Определенный тип строения лишайников накладывает свой отпечаток на характер метаболизма (включая и азотфиксацию) в природных условиях.

Способность фиксировать молекулярный азот в настоящее время обнаружена у 15 родов лишайников: *Collema*, *Peltigera*,

Lobaria, *Leptogium*, *Stereocaulon*, *Nephroma*, *Solorina*, *Lichina*, *Placopsis*, *Massalongia*, *Pannaria*, *Parmeliella*, *Placynthium*, *Polychidium*, *Slicia* (Millbank, 1974).

Азотфиксация у лишайников определяется исключительно наличием в них азотфиксирующих синезеленых водорослей. Микобионт азот не фиксирует (Millbank, Kershaw, 1970; Green et al., 1980), что также было подтверждено нашими опытами со свободноживущими грибами (Костяев и др., 1983).

Метаболизм азота у лишайников. В лишайниках наблюдается корреляция между скоростью азотфиксации и численностью гетероцист у синезеленых водорослей. У *Peltigera canina* содержится 3.5 % гетероцист, а у *P. aphthosa* до 22 % от общего количества клеток синезеленых водорослей, что и определяет различие в интенсивности азотфиксации этих лишайников (Hitch, Millbank, 1975).

У азотфиксирующих водорослей и грибов в лишайнике на фоне азотного метаболизма складываются своеобразные взаимоотношения. Содержание общего азота в биомассе азотфиксирующих лишайников достигает 2.2 %, а у неспособных к азотфиксации не более 0.83 % (Hitch, Stewart, 1973). Как было показано выше (см. наст. кн.: с. 25), у свободноживущих водорослей значительная часть фиксированного азота может выделяться во внешнюю среду. Благодаря способности синезеленых водорослей фиксировать молекулярный азот и выделять его в среду с последующей утилизацией азота грибами, лишайники занимают экологические ниши, бедные связанным азотом. Из-за быстрого поглощения фиксированного азота грибами, скорость азотфиксации в лишайниках выше, чем у водорослей, выделенных из них (Stewart, 1973), что объясняется снижением ингибирующего действия связанных форм азота на нитрогеназную активность водорослей.

Лишайники способны поглощать как аммонийный, нитратный, так и азот органических соединений (Smith, 1960). Преимущественное поглощение азота в лишайнике осуществляется в основном в зоне, где расположены водоросли, которые являются своеобразным насосом, снабжающим азотом грибной компонент лишайника. Около 90 % фиксированного водорослями азота у *P. aphthosa* используют грибы (Millbank, Kershaw, 1970). Таким образом, гифы гриба перехватывают большую часть фиксированного водорослями азота. Микобионт в лишайнике осуществляет активный метаболический контроль азотного обмена у фикобионта, вероятно, за счет ингибирования у водорослей белкового синтеза, как это наблюдается у синезеленых водорослей, симбиотирующих с высшими растениями (Gardner, Scott, 1982).

Поскольку у лишайников азотфиксация осуществляется только синезелеными водорослями, то и для них, по-видимому, будут справедливы основные закономерности, установленные для свободноживущих азотфиксирующих водорослей при действии таких факторов, как свет, температура, влажность и др.

Ниже мы коснемся действия на азотфиксацию лишайников лишь тех факторов среды, реакция на которые зависит от своеобразия биологической организации лишайников.

Влияние света. В условиях *in vitro* оптимум освещения (при благоприятной влажности и температуре) для нитрогеназной активности у многих лишайников (*Nephroma arcticum*, *Stereocaulon paschale*, *Collema tenuiforme*, *Peltigera rufescens*, *P. canina* и др.) весьма близок около 20 000 лк (Henriksson, Simu, 1971; Kallio et al., 1972; Maikawa, Kershaw, 1975; Crittenden, Kershaw, 1979). Однако для некоторых из них найден более низкий порог оптимальной освещенности — от 1000 до 8500 лк (Hitch, Stewart, 1973; Kallio, 1973; Englund, 1977; Mc Farlane, Kershaw, 1977).

Различная реакция на свет одних и тех же лишайников в процессе азотфиксации, по-видимому, объясняется неодинаковыми экологическими условиями (свет, температура, влажность), в которых находились лишайники перед опытом (Crittenden, Kershaw, 1979).

Для азотфиксации лишайников достаточен очень низкий порог освещенности — до 100 и даже 20 лк (Kallio et al., 1972; Kallio, 1973), что имеет большое экологическое значение в высокоширотных регионах в период белых ночей.

При низкой освещенности света скорость азотфиксации у *Stereocaulon paschale* выше в аэробных условиях (80 % $Ar + 20$ % O_2), но повышение освещенности до 6500 лк приводит к выравниванию интенсивности азотфиксации во всех газовых фазах (Kallio et al., 1972).

При переходе от света к темноте и обратно закономерности азотфиксации у лишайников аналогичные тем, которые были установлены у свободноживущих синезеленых водорослей (Сара-лов, Костяев, 1975; Костяев, 1976; Mc Farlane et al., 1976).

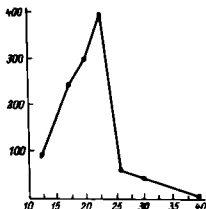
Длительность азотфиксации в темноте после предварительного освещения у некоторых лишайников может достигать 26 ч, и определяется она уровнем АТФ и восстановителей, накопленных лишайниками на свету (Hitch, Stewart, 1973; Mc Farlane et al., 1976; Crittenden, Kershaw, 1979).

В отличие от синезеленых водорослей у лишайников скорость азотфиксации в темноте после выключения света почти мгновенно снижается наполовину (Mc Farlane et al., 1976) и сильно зависит от наличия кислорода (Kallio, Kallio, 1973).

Влияние температуры. Широкий ареал распространения лишайников — от южных пустынь до Антарктиды — свидетельствует о том, что они приспособились как к низким, так и высоким температурам. Температурный коэффициент азотфиксации у свободноживущих синезеленых водорослей (Q_{10}) высок — от 3 до 7 (Fogg, 1971). У лишайников он ниже, чем у свободноживущих водорослей, так как водоросли в лишайнике от влияния низких температур защищены гифами грибов. Поэтому некоторые лишайники в природных условиях способны фиксировать азот при температуре ниже 0 °C (Horne, 1972; Granhall, Selander, 1973).

Рис. 33. Влияние температуры на азотфиксацию *Peltigera* sp.

По оси ординат — азотфиксация, отн. ед.,
по оси абсцисс — температура, °С.



В значительной степени устойчивость лишайников к низким температурам зависит от их морфологического строения. Например, лишайник *Peltigera canina*, у которого водоросли среди грибных нитей расположены диффузно, более стоек к низким температурам, чем *P. aptosa*, где синезеленые азотфиксирующие водоросли *Nostoc* sp. находятся на поверхности в специальных органах — цефалодиях.

Температурный оптимум азотфиксации у большинства лишайников находится в довольно узком интервале — 15—25 °С (Hitch, Stewart, 1973; Maikawa, Kershaw, 1975; Kallio, Kallio, 1976) (рис. 33), и он значительно ниже (20—35 °С), чем у свободноживущих синезеленых водорослей (за исключением термофильных видов) (Fay, Fogg, 1962; Stewart, 1966; Jones, Stewart, 1969). Азотфиксация у большинства лишайников прекращается при температуре 35—40 °С, что установлено также и в наших опытах с *Peltigera rufescens* при постоянном освещении (рис. 34).

Несмотря на способность лишайников к азотфиксации при температуре около 0 °С и ниже, температурный оптимум азотфиксации у них находится в интервале 15—25 °С (Kallio, 1976) и не зависит от интенсивности света и от географии лишайников (Kallio, 1976; Kallio, Kallio, 1978). Температурный оптимум азотфиксации гораздо выше, чем температурный оптимум фотосинтеза у фикобионтов. Например, ассимиляция углекислоты у азотфиксирующих лишайников *Stereocaulon alpinum* и *Nephroma arcticum* может происходить при температурах —24 и —5 °С соответственно. Возможность фотосинтеза при отрицательных температурах объясняется тем, что вода в лишайниках находится между гифами грибного компонента и образование льда не повреждает лишайники (Тыртиков, 1983).

Таким образом, нитрогеназа у лишайников не приспособлена к низким температурам, что может быть причиной дефицита азота в районах с холодным климатом (Арктика, Антарктида и т. д.) (Englund, Meyerson, 1974).

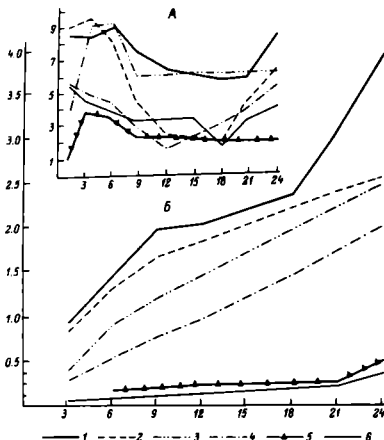


Рис. 34. Интенсивность азотфиксации у лишайника *Peltigera* sp. в зависимости от освещения и температуры.

По оси ординат: А — температура, °С; освещенность, лк. 1 — 4800, 2 — 3600, 3 — 3000, 4 — 2600, 5 — 2000, 6 — 1000; Б — азотфиксация, $\text{мг N} / (\text{мг} \cdot \text{сут})$. По оси абсцисс — время экспозиции, ч.

Наши эксперименты *in situ* с *Peltigera rufescens*, проведенные в осенний период в сентябре—октябре, выявили большую зависимость азотфиксации лишайника от температуры, чем от освещенности (рис. 34). Изменение температуры в среднем на 10° (с 2.7 °С до 13 °С) вызывало возрастание азотфиксации в 17 раз — с 0.35 до 6.0 $\text{мг N} / (\text{мг} \cdot \text{сут})$. Безусловно, в опытах *in situ* усиление процесса азотфиксации было вызвано не только температурным фактором, но и освещенностью, которая в период опытов колебалась в среднем от 2600 до 4800 лк.

Лишайники очень быстро реагируют на изменение температуры от -4° до +10 °С. Быстрое повышение температуры вызывало высокую интенсивность азотфиксации (рис. 34). У лишайников

P. aphthosa и *Stereocaulon paschale* также не установлено связи между их температурной адаптацией и нитрогеназной активностью (Шапиро, 1979). Однако по другим данным (Kallio et al., 1972), у *Nephroma arcticum* и *Stereocaulon paschale* такая связь существует, из-за чего у охлажденных лишайников азотфиксация при оптимальной температуре восстанавливается очень медленно (до 12 ч).

Низкая температура способствует консервации «ассимиляционной силы», накопленной лишайниками на свету при положительной температуре: азотфиксация в темноте после размораживания наблюдалась только после предварительного освещения. Такие же закономерности были установлены и у свободноживущей синезеленой водоросли *Sphaeromonostoc zetterstedtii* (Костяев, 1981).

Верхний температурный предел для азотфиксации находится около 35—37 °C (Шапиро, 1979), что также установлено нами в опытах с *Peltigera rufescens* при постоянном освещении. Оптимальная температура для азотфиксации этого лишайника находится около 20—22 °C (рис. 33).

Итак, температурный минимум и оптимум фиксации молекулярного азота у лишайников ниже, чем у свободноживущих водорослей.

Влияние увлажнения. В лишайнике водоросли находятся при более благоприятном режиме влажности по сравнению с почвенными водорослями. В природе они способны длительное время переносить глубокое иссушение — до воздушно-сухого состояния, а после дождей быстро восстанавливать свою жизнедеятельность. По нашим наблюдениям, у высушенного лишайника при комнатной температуре (22 °C) процесс азотфиксации начинался через 30 мин после его увлажнения. У других видов лишайников через 4 ч после увлажнения степень азотфиксации увеличивалась в 40 раз (Kallio, 1976).

В зависимости от экологических условий обитания лишайников наблюдается их индивидуальная реакция на увлажнение. Так, у *P. canina*, *P. envansiana*, *P. protextata* и *P. polydactyla* максимальная азотфиксация наблюдалась при влажности таллома 95, 60, 60 и 85 % соответственно (Kershaw, 1974). У *P. aphthosa* из северной Финляндии максимум азотфиксации отмечался при 200—250 % (Kallio, Kallio, 1976), у *Stereocaulon paschale* — при 500 % насыщения таллома водой (Kallio, 1973).

В экспериментах *in situ* в Мурманской области при низкой влажности азотфиксация различных лишайников была слабой — не более 0.02 мкг N / (мг · сут),¹ но она резко возрастала при их увлажнении (табл. 6). Установлена линейная зависимость интенсивности азотфиксации от степени увлажнения лишайников. Мы не выявили индивидуальной реакции лишайников на увлажнение, однако у всех видов азотфиксация была максимальной

¹ Исследования Т. Ю. Толпышевой

Таблица 6
Интенсивность азотфиксации лишайников

| Лишайники | Влажность 10 %, t 10—18 °С | | Влажность 100 %, t 9—12 °С, освещенность 3600 лм | |
|---------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|---|-----------------------------------|
| | мкг N/ (мг · сут) | мкг N/ (см ² · сут) | мкг N/ (мг · сут) | мкг N/ (см ² · сут) |
| Мурманская область | | | | |
| <i>Peltigera aphthosa</i> | 0.004 | 0.040 | 1.20 | 12.6 |
| <i>P. scabrata</i> | 0.005 | 0.060 | 0.50 | 6.0 |
| <i>P. polydactyla</i> | 0.010 | 0.120 | 0.20 | 2.3 |
| <i>P. canina</i> | 0.010 | 0.112 | 4.20 | 44.0 |
| <i>P. erumpens</i> | 0.004 | — | — | — |
| <i>P. spuria</i> | 0.011 | — | — | — |
| <i>Nephroma parile</i> | 0.020 | — | — | — |
| <i>N. arcticum</i> | 0.010 | 0.110 | 0.50 | 5.5 |
| Тюменская область | | | | |
| <i>Peltigera aphthosa</i> | — | — | 1.16 | 11.5 |
| <i>P. scabrata</i> | — | — | 1.14 | 12.0 |
| <i>P. polydactyla</i> | — | — | 0.85 | 7.6 |
| <i>P. rufescens</i> | — | — | 6.00 | 48.0 |

при полном насыщении таллома водой (рис. 35) и практически прекращалась при потере ими 70 % воды.

При постепенном высушивании *Peltigera rufescens* в течение 4 ч на свету или в темноте (интенсивность света 4000 лк, температура 22 °С) и последующем увлажнении таллома через 25 сут азотфиксации в темноте наблюдалась только у лишайника при световом варианте и составляла 0.1 мкг N/(мг · сут) или 0.8 мкг N/(см² · сут). Следовательно, при медленном высушивании лишайника на свету у него образуются энергия и редуцтанты, которые сохраняются длительное время в сухом талломе и могут быть реализованы в процессе азотфиксации в темноте при увлажнении.

Предложена регрессионная модель для расчета интенсивности азотфиксации (продукции этилена) в зависимости от температуры и влажности лишайников (Kallio, Kallio, 1976).

$$E = t \sqrt{M(a - bt)},$$

где E — количество образовавшегося этилена за час на мг сухой массы лишайника; t — температура; M — влажность, a и b — коэффициенты, варьирующие в зависимости от экологических условий.

Таким образом, для азотфиксации лишайников влажность имеет решающее значение по сравнению с другими факторами среды — температурой, освещенностью и т. д.

Лишайники могут длительное время сохраняться в сухом состоянии, не теряя при этом азотфиксирующей активности. На-

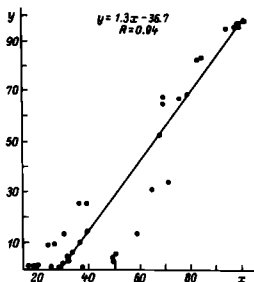


Рис. 35. Влияние увлажнения на азотфиксацию *Pelligera* sp

По оси ординат — азотфиксация, % к контролю; по оси абсцисс — влажность лишайников, %

пример, *Stereocaulon paschale* в высушенном состоянии над селитратом сохранял азотфиксирующую способность в течение 75 нед (Huss-Danell, 1977). Поразительная способность к длительному выживанию выявлена у синезеленой водоросли *Nostoc commune*, которая, пролежав в гербарии 107 лет, возобновила свою жизнедеятельность после увлажнения (Camegon, 1962, цит. по: Генкель, Пронина, 1972).

Однако при увлажнении лишайников *Peltigera canina*, *P. aphthosa*, *P. polydactyla*, *P. erumpens*, *Collema furfuraceum*, *Nephroma resuspinatum*, *N. parile*, *Solorina crocea*, *Stereocaulon paschale* из гербария Московского университета (сборы с 1823—1979 гг. из разных мест СССР) оказалось, что они, включая и виды, собранные в 1979 г., не были способны фиксировать молекулярный азот.

Причина отсутствия азотфиксации у лишайников из гербарной коллекции, по-видимому, может заключаться не в продолжительности хранения, а в несоблюдении постоянства условий хранения, главным образом в колебании влажности. Известно, что лишайники высушенные, а затем увлажненные, обладают повышенной протеолитической активностью, ведущей к разрушению белка (Шалиро, 1979). У большинства лишайников из гербарной коллекции после увлажнения ощущался характерный запах аммиака, что указывало, возможно, на распад белка грибного компонента, хотя по внешнему виду лишайники после увлажнения, например *Collema furfuraceum*, собранные в 1897 и 1975 гг., не отличались. По-видимому, высокие концентрации аммиака,

образовавшегося при деструкции белка у микобионта, и были основной причиной подавления нитрогеназной активности у синезеленых водорослей лишайниках.

Вероятно, по этой же причине у них происходило резкое снижение азотфиксации при сравнительно низкой температуре (25—30 °C), при которой у многих лишайников отмечается максимальная протоплазмическая активность (Шалиро, 1979).

Для длительного сохранения азотфиксирующей способности лишайники необходимо хранить при постоянной низкой влажности, а температурный фактор при этом (не выше 40 °C) существенного значения не имеет.

О способности грибов к азотфиксации

Имеются противоречивые сведения о способности грибов фиксировать элементарный азот. Так, ряд авторов (Андреюн, 1968; Наплекова, 1971), применяя для определения классические методы Кьельдаля и меченого азота (^{15}N), требующие длительной экспозиции, указывают на то, что представители более 20 родов главным образом дрожжи и дейтеромикеты фиксируют молекулярный азот. Другие же исследователи (Millbank, 1969; Бабьева и др., 1977, 1980; Kurtzman, 1978; Садыков и др., 1980), используя для определения нитрогеназной активности высокочувствительный и быстрый ацетиловый метод, такую способность не выявили ни у одного из исследованных ими видов 12 родов (преимущественно дрожжи). Миллбанк (Millbank, 1969) на основании изученных им 14 культур родственных родов — *Bullera*, *Pullularia*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* — высказал предположение, что эукариотные организмы не обладают способностью фиксировать молекулярный азот.

История развития исследований по установлению азотфиксирующей способности грибов подробно изложена в монографии Мишустина и Шильниковой (1968).

Нами проведены исследования культур грибов, принадлежащих к 25 родам, выделенных в различных пунктах СССР из воды, рыб и гниющей водной растительности. Грибы выращивали в пробирках (200×20 мм) поверхностным способом на жидкой среде Чапека (8 мл), где сахароза была заменена глюкозой. Среда была использована в двух вариантах — с содержанием NaNO_3 (0.05 г/л) и без источника азота. В обоих случаях pH среды колебалась в пределах 4.7—4.8. В качестве посевного материала применяли суспензию (1 мл) спор и фрагментов гиф грибов, выращенных на агаризованном пивном сусле. В таком виде пробирки выдерживали в течение 7 сут при температуре 20—22 °C.

Выросший мицелий грибов переносили в пенициллиновые пузырьки, в которые, кроме контрольных, вводили ацетилен. Затем через сутки определяли на хроматографе газовый состав во флаконах.

Таблица 7

Систематический состав исследованных грибов

| Название систематической групп | Количество исследованных | | Название систематических групп | Количество исследованных | |
|--------------------------------|--------------------------|---------|--------------------------------|--------------------------|---------|
| | видов | культур | | видов | культур |
| <i>Mastigomycotina</i> | | | <i>Deuteromycotina</i> | | |
| <i>Achlya</i> * | 7 | 8 | <i>Acremonium</i> * | 1 | 2 |
| <i>Brevilegnia</i> * | 1 | 1 | <i>Aureobasidium</i> | 3 | 31 |
| <i>Dictyuchus</i> * | 1 | 2 | <i>Botrytis</i> | 1 | 1 |
| <i>Pythium</i> * | 4 | 6 | <i>Candida</i> | 1 | 1 |
| <i>Saprolegnia</i> * | 3 | 4 | <i>Cryptococcus</i> | 1 | 1 |
| | | | <i>Geomyces</i> * | 1 | 1 |
| <i>Ascomycotina</i> | | | <i>Hormonema</i> * | 3 | 10 |
| <i>Chaetomium</i> * | 1 | 2 | <i>Moniliella</i> * | 2 | 2 |
| <i>Emericellopsis</i> * | 1 | 2 | <i>Penicillium</i> | 5 | 6 |
| <i>Petriella</i> * | 1 | 1 | <i>Phaeococcomyces</i> * | 1 | 1 |
| <i>Pichia</i> * | 2 | 2 | <i>Phoma</i> | 4 | 32 |
| <i>Pseudeurotium</i> * | 1 | 2 | <i>Rhodotorula</i> | 8 | 13 |
| <i>Sordaria</i> * | 1 | 1 | <i>Torulopsis</i> | | |
| <i>Stannaria</i> * | 1 | 1 | | | |

* Роды исследованы впервые.

Указанным способом было исследовано 132 культуры 56 видов грибов, принадлежащих к 25 родам (табл. 7).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что у всех исследованных грибов отсутствует нитрогеназная активность. Не обнаружено и эндогенного выделения грибами этилена. Однако на среде без солей азота в большинстве случаев наблюдался заметный рост грибов, особенно культур родов *Achlya*, *Rhodotorula*, *Saprolegnia*.

На основании этого можно было бы сделать вывод о способности грибов фиксировать элементарный азот. Однако, как указано выше, ацетиленовым методом такой способности у грибов не установлено. Некоторый рост грибов в среде без солей азота происходил, видимо, за счет усвоения ими газообразных соединений азота (Millbank, 1969), постоянно присутствующих в воздухе, а также за счет соединений азота, освобождающихся в результате частичного автолиза инокулума и первичного мицелия.

Неправильный вывод о способности к азотфиксации грибов может быть следствием того, что исследованные культуры содержали азотфиксирующие бактерии. При этом деятельность последних значительно стимулируется продуктами метаболизма грибов (Бабьева и др., 1977, 1980). Поэтому сделанный разными авторами вывод о том, что грибы способны усваивать молекулярный азот, является следствием методических погрешностей.

Таким образом, на основании литературных данных и собственных исследований, охватывающих грибы, различные по своей биологии и уровню филогенетического развития, можно сделать вывод о том, что представители царства *Fungi* в целом не обладают способностью усваивать молекулярный азот.

Глава VI

ЗАКОНОМЕРНОСТИ АЗОТФИКСАЦИИ В ВОДОЕМАХ РАЗЛИЧНОЙ ТРОФНОСТИ

Экологические ниши азотфиксаторов. В летнее время в водоемах разнообразных типов можно выделить три экологические зоны локализации азотфиксирующих организмов.

I. В литорали водоемов (на мелководье) на дне, на органических и неорганических субстратах (камни, железобетонные сооружения, коряги, высшие водные растения) формируется комплекс обрастания, состоящий из водорослей родов *Anabaena*, *Tolypothrix*, *Calothrix*, *Gloeotrichia*, *Nostoc*, *Hapalosiphon*, а также из азотфиксирующих бактерий родов *Azotobacter*, *Clostridium*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodospirillum* (Finke, Leeley, 1978).

II. В толще воды в соответствии со световыми и окислительно-восстановительными условиями, а также в зависимости от интенсивности перемешивания и наличия органических и неорганических субстратов — метана, сероводорода, железа и т. д. — формируются несколько экологических ниш с разным набором микроорганизмов — синезеленых водорослей и бактерий. Основные виды водорослей, определяющих азотфиксацию в воде различных географических широт, в основном относятся к родам *Anabaena* (*A. flos-aquae*, *A. scheremetievii*, *A. circinalis*, *A. lemmermannii*) и *Aphanizomenon* (*A. flos-aquae*), планктонные водоросли из рода *Gloeotrichia* встречаются реже.

В микроаэрофильных условиях, возможно, определенную роль в восстановлении азота играют и безгетероцистные виды водорослей, например *Cloencapsa* sp. (Саралов, 1979), у которых в чистых культурах обнаружена азотфиксация (Rippka et al., 1979).

III. Экологической зоной могут быть также донные отложения, которые служат местом поселения азотфиксирующих бактерий, окисляющих органические вещества, метан, водород и сероводород. Это бактерии в основном из родов *Clostridium*, *Azotobacter*, *Methylobacter*, *Pseudomonas* и *Desulfovibrio*.

Разнообразие экологических ниш азотфиксаторов и различная интенсивность в них азотфиксации можно охарактеризовать, рассмотрев два типа водоемов: мелкие полимиктические водоемы, с ветровым перемешиванием воды до дна, и глубокие меромиктические водоемы, с постоянной стратификацией нижних слоев воды (рис. 36).

В полимиктических водоемах, таких как Рыбинское водохранилище, вследствие небольшой глубины и интенсивных ветров, в летнее время вода практически перемешивается до дна. Поэтому

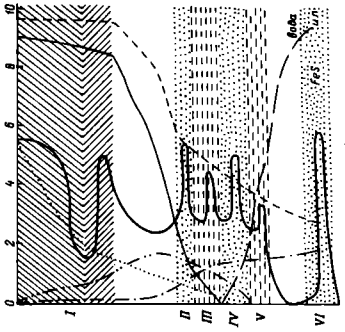
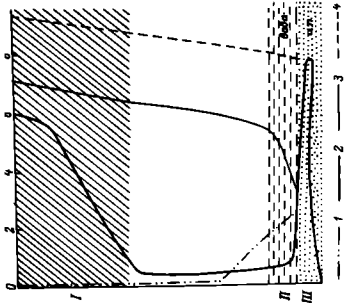


Рис. 36. Экологические ниши азотфиксаторов в полимиктическом (А) и меромиктическом (Б) водоемах и интенсивность азот фиксации в них (по Саралов, 1979)

1... нитраты, 2... азотфиксация, 3... кислород, 4... температура, 5... аммоний, 6... свет, 7... сероводород, I - VI... экологические ниши

По оси абсцисс: глубина, м; по оси ординат: концентрация азота, мг/л (л - литр), концентрация кислорода, мг/л; нитраты и аммоний.

здесь, как правило, редко наблюдается послыйный градиент кислорода и температуры. Синезеленые азотфиксирующие водоросли — *Aphanizomenon flos-aquae*, *Aphanobaena scheremetievii*, *A. spiroides*, *A. lemmermanii*, *A. flos-aquae* и *Gloeotrichia echinulata* в мелководной зоне водохранилища распространены до дна, а в более глубоких его частях концентрируются в фотическом слое 3—4 м, где наблюдается максимум азотфиксации. В толще воды численность азотфиксирующих бактерий родов *Clostridium* и *Azotobacter* незначительна. Они в основном концентрируются в донных отложениях, где образуют в полимиктическом водоеме вторую экологическую нишу азотфиксаторов. В донных отложениях доминируют микроаэрофильные условия. Таким образом, в полимиктических водоемах основная роль в азотфиксации принадлежит синезеленым гетероцистным водорослям, протекает она здесь в аэробных условиях.

Другая группа водоемов (меромиктические озера) характеризуется постоянством физико-химических условий в хемоклине и гипolimнии в течение всего года. В этих водоемах в эпилимнии возможно ветровое перемешивание воды до глубины 2—3 м, но более глубокие слои воды в циркуляции не участвуют. К таким водоемам относятся, например озера Карагаер и Кононьер (Кузнецов, 1970).

В меромиктических водоемах в толще воды в соответствии с окислительно-восстановительными условиями и наличием определенных субстратов для автотрофных и гетеротрофных азотфиксаторов можно выделить несколько экологических ниш (рис. 36, Б). В хорошо прогреваемом эпилимнии в летнее время интенсивно развиваются синезеленые водоросли, которые в зависимости от ветрового перемешивания поверхностных слоев воды могут встречаться на глубине до 7—8 м. Но основная их масса концентрируется, как правило, в слое воды до глубины 3 м. Часто глубина локализации водорослей превышает глубину проникновения света, но даже и в этом случае водоросли могут фиксировать азот при условии их предварительного освещения на поверхности воды. Ниже распространения азотфиксирующих водорослей с понижением температуры воды в аэробной зоне металимниона могут находиться бактерии сем. *Azotobacteriaceae* и *Spirillaceae*. Микроаэробная зона металимниона благоприятна для развития фото- и хемолитотрофных бактерий, активность которых зависит от количества восстановленных соединений, поступающих из ниже лежащей анаэробной зоны. При наличии света и сероводорода в анаэробной зоне гипolimниона развиваются пурпурные и зеленые серные азотфиксирующие бактерии. Далее с глубиной в еще более восстановленных условиях чаще встречаются сульфатвосстанавливающие микроорганизмы. В поверхностном слое иловых отложений развиваются бактерии, в основном из рода *Clostridium* и др., окисляющие метан, водород и сероводород.

Интенсивность азотфиксации в водоемах зависит от наличия экологических ниш азотфиксаторов (рис. 36).

Максимальная азотфиксация наблюдается преимущественно в полимиктических евтрофных водоемах, несколько слабее — в димиктических. В указанных водоемах основную роль в азотфиксации играют синезеленые водоросли.

В глубоких меромиктических озерах вследствие своеобразия физико-химических условий заметную роль в азотфиксации играют фототрофные бактерии, которые фиксируют азот в примерно одинаковых количествах с синезелеными водорослями (рис. 36, Б).

Другим важным экологическим фактором является степень проникновения света в глубину водоемов. Как правило, имеется положительная корреляция между интенсивностью света на определенной глубине и азотфиксацией. Однако зависимость азотфиксации от света не так четко выражена, как фотосинтеза.

Как правило, максимум азотфиксации в водоемах находится в поверхностном слое воды, но при сильной солнечной инсоляции он может перемещаться на глубину до 5 м (Horne, Fogg, 1970). Сильный свет на поверхности воды вызывает фотодеструкцию пигментного комплекса у водорослей (Horne, 1979) и усиливает их фотодыхание, в результате энергия и редуцтанты у водорослей отвлекаются от процесса восстановления азота (Lex et al., 1972).

Корреляции между азотфиксацией и светом в условиях водоема можно не обнаружить, если не учитывать динамики освещенности. Например, азотфиксация утром в пасмурную погоду может оказаться выше ожидаемой, если освещенность предыдущего дня была высокой. Может иметь место и противоположная ситуация (Horne, Fogg, 1970; Саралов, 1977). Фотосинтез реагирует на свет мгновенно и в темноте отсутствует. Азотфиксация у водорослей наблюдается и в темноте, так как в этих условиях они могут использовать «ассимиляционную силу» и другие восстановительные субстраты, накопленные на свету (Саралов, Костяев, 1975). В связи с этим параллельное течение процессов фотосинтеза и азотфиксации наблюдается лишь до глубины проникновения света, в то же время фиксация молекулярного азота часто отмечается ниже фотической зоны (Lännergren et al., 1974). В афотической зоне происходит так называемая темновая азотфиксация, которая отличается от ночной, хотя и имеет ту же природу (Horne, 1979). Темновая азотфиксация — это азотфиксация у водорослей, перемещенных со света в темноту (в афотической зоне, в темной склянке). Ночная азотфиксация, которая в водоемах до 1970 г. не была известна, происходит в воде только ночью при условиях, отличающихся от дневных. Интенсивность ночной азотфиксации может достигать 30 % от дневной. Темновая азотфиксация в дневное время при перенасыщении воды кислородом может вообще отсутствовать. Ночная азотфиксация, начинающаяся с наступлением сумерек, почти всегда имеет место в водоемах. Интенсивность азотфиксации в ночное время определяется тремя факторами: предшествующим освещением (запасом энергии), потребностью водорослей в азоте, концентрацией в воде кислорода. Известно, что в ночное время благодаря интенсивному дыханию

гидробионтов концентрация кислорода резко падает. Это служит своеобразным пусковым механизмом ночной азотфиксации водорослей, в которой принимают участие не только их гетероцисты, но и вегетативные клетки. Из-за этого в ночное время часто отсутствует корреляция между интенсивностью азотфиксации и количеством гетероцист (Horne, 1979). Динамика азотфиксации в течение суток изображена на рис. 37. Максимум ее, как правило, приходится на полдень.

Вследствие локальности («пятнистости») распределения азотфиксирующих водорослей по акватории водоемов, интенсивность азотфиксации в поверхностных слоях воды колеблется в десятки, иногда в сотни раз (Horne et al., 1979). Наши наблюдения в одной точке Центрального плеса Рыбинского водохранилища показали, что интенсивность азотфиксации за несколько минут может измениться почти на порядок: 13 ч 25 мин — 12 мкг N/л, 13.40 — 1.4, 13.45 — 4, 14 ч 25 мин — 2.4 мкг N/л за 5 ч экспозиции. Причина этого — перемещение масс азотфиксирующих водорослей под влиянием течений. Интенсивное перемешивание воды способствует распределению водорослей и приводит к усреднению азотфиксации.

Сезонная динамика азотфиксации. Она наблюдается в водоемах и почвах умеренной зоны и определяется в основном температурным фактором (рис. 38). Например, в Рыбинском водохранилище начало азотфиксации в толще воды совпадает с появлением *Anabaena spiroides* и *Aphanizomenon flos-aquae* в середине июня при температуре воды 15—16 °C. Процесс заканчивается в октябре, когда температура воды снижается до 8—7 °C, хотя синезеленые водоросли встречаются в большом количестве (Саралов, 1977). Сходные результаты получены и для других водоемов (Granhall, Lundgren, 1971).

В полярных районах (Арктика, Антарктика) также прослеживается сезонность в азотфиксации, однако ее период из-за низких температур здесь более короток, а азотфиксирующие организмы представлены в основном водорослями родов *Nostoc*, *Anabaena* и лишайниками, у которых более низкий температурный оптимум азотфиксации, что позволяет им фиксировать азот даже при 0 °C (Fogg, Stewart, 1968). Необходимо указать на исключительную роль в азотфиксации водорослей и лишайников в водоемах и почвах высоких широт. Здесь за счет синезеленых водорослей — свободноживущих, эпифитных и ассоциированных со мхами, азотфиксация является основным источником пополнения азотом (Granhall, Lid-Torsvik, 1975).

В водоемах тропического экваториального климата благодаря стабильной температуре воды нет цикличности в развитии синезеленых водорослей и, следовательно, отсутствует сезонность в азотфиксации. Суточные вариации в азотфиксации, например в озерах Уганды, превышают ее годовые колебания. В толще воды этих озер азотфиксирующие микроорганизмы составляют виды, обычные для других водоемов — *Anabaena* и *Aphanizomenon* (Ganl, Horne, 1975).

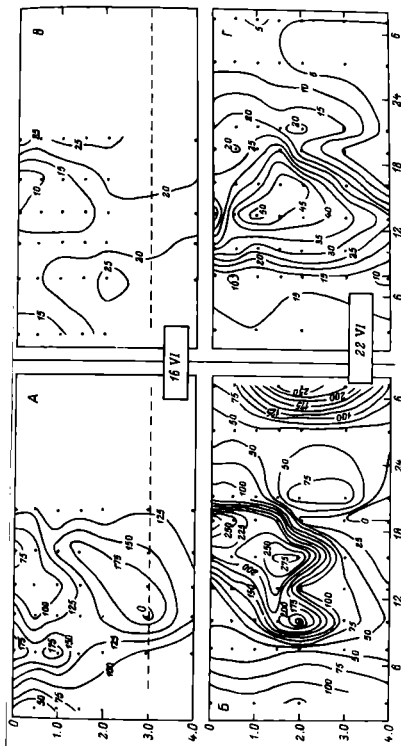


Рис. 37 Интенсивность диффузии в толще воды в течение суток в оз. Кинерет (Погле, 1979)

А, Б — интенсивность диффузии по глубине, мм/с; В, Г — концентрация хлорофилла $a+b$, mg/l . По оси ординат — глубина, м; по оси абсцисс — время суток.

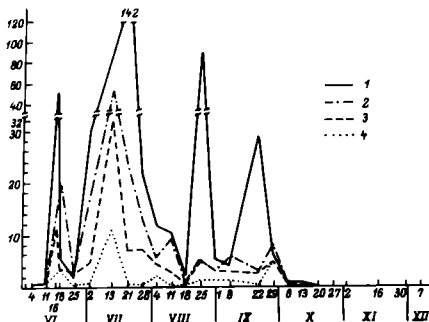


Рис. 38. Сезонная динамика азотфиксации в водоемах (Torrey, Lee, 1976).

Глубина: 1 — 0 м; 2 — 2 м; 3 — 3 м; 4 — 8 м.

По оси ординат — интенсивность азотфиксации, ммоль C_2H_4 / (л · ч); по оси абсцисс — дата наблюдений.

Интенсивность фиксации молекулярного азота в водной толще

В августе 1973 г. и летом 1981—1982 гг. нами впервые изучалась интенсивность азотфиксации в водоемах, расположенных в различных географических зонах. Исследованные водоемы относятся преимущественно к мезотрофному типу, кроме олиготрофных Онежского озера и водоемов Большеземельской тундры.

Рыбинское водохранилище. Изучение интенсивности азотфиксации в воде Рыбинского водохранилища впервые было начато А. И. Сараловым в мае 1973 г. (Саралов, 1978). Аналогичные исследования нами были проведены в конце июля—начале августа того же года и вновь повторены летом в 1981—1982 гг. (Костяев и др., 1985).

Азотфиксация начинается, как правило, с середины июня, когда в фитопланктоне появляются синезеленые водоросли *Anabaena scheremetievii*, *A. spiroides*, *A. flos-aquae*. В середине лета в фитопланктоне доминирует *Aphanizomenon flos-aquae* и азотфиксация в водоеме достигает максимума. Гетеротрофная азотфиксация в толще воды отсутствует. Наибольшая интенсивность азотфиксации отмечалась в Моложском плесе (1.6—2.9 мг N/

/ ($\text{м}^3 \cdot \text{сут}$)), но она не превышала $20 \text{ мкг N} / (\text{л} \cdot \text{сут})$ (см. табл. 10).

В 1981 г. пробы фитопланктона отбирали из слоя 0—2 м, где в основном концентрируются синезеленые водоросли, а в 1982 г. — из слоев 0—2 м, 2—6 и 6 м — дно с последующим расчетом средних величин для всего столба воды. При определении фотосинтеза и азотфиксации склянки инкубировали в баке с заборной проточной водой в одинаковых температурных и световых условиях.

Результаты гидрохимических и биологических анализов представлены в табл. 8 и на рис. 39 и 40. Отдельные значения, отклоняющиеся от среднего больше чем на три сигмы не учитывались, поскольку они не принадлежали генеральной совокупности.

Температура воды в июле—августе отличалась от таковой в сентябре на 4—6 °С. В июле доминировала штилевая солнечная погода; в августе 1981 г. преобладала переменная облачность, а в сентябре обоих лет была пасмурная погода с сильными ветрами.

Интенсивность азотфиксации варьировала в широких пределах и возрастала от июля к сентябрю 1982 г. в среднем в 5 раз, что было связано с увеличением численности азотфиксирующих водорослей *Aph. flos-aquae*. Там, где они отсутствовали, азотфиксация не обнаруживалась.

В период массового развития синезеленых водорослей наблюдалась высокая корреляция азотфиксации с концентрацией хлорофилла «а», которая характеризовала в данный момент степень развития водорослей.

В августе 1981 г., когда пробы отбирались с поверхности (0—2 м), где концентрируются обычно синезеленые водоросли, интенсивность азотфиксации была значительно выше. При максимальном скоплении *Aph. flos-aquae* на поверхности воды (что привело к уменьшению прозрачности воды до 15 см) в штилевую солнечную погоду на ст. Вельегонск она достигала рекордной величины — $900 \text{ мкг N} / (\text{л} \cdot \text{сут})$. В сентябре 1981 и 1982 гг. ее интенсивность была практически одинаковой (в среднем 24.3 и $26.0 \text{ мкг N} / (\text{л} \cdot \text{сут})$) соответственно (рис. 39; табл. 7), хотя в 1981 г. анализировались пробы воды с поверхности. Но в сентябре обоих лет из-за сильных ветров вода в водохранилище была перемешана до дна.

Интенсивность азотфиксации в 1981—1982 гг. в Рыбинском водохранилище была гораздо выше, чем летом 1973 г. (табл. 8; 11). Это, несомненно, было связано с увеличением в последние годы численности азотфиксирующих водорослей, что отражает общую тенденцию евтрофирования Рыбинского водохранилища.

Закономерности продуцирования органического вещества во внутренних водоемах в процессе фотосинтеза фитопланктона изучены исчерпывающе, но гораздо хуже исследована интенсивность азотфиксации и связанные с ней другие параметры. По этой причине в литературе, особенно отечественной, мало данных о соотношении азотфиксации и фотосинтеза у водорослей, об

Таблица 8

Интенсивность фотосинтеза, азотфиксации и физико-химические условия в Рыбинском водохранилище

| Азот, фосфор, хлорофилл «а» | 1981 г. | | 1982 г. | |
|---|----------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| | август (4, 7, 31) | сентябрь (1-6) | август (9-14) | сентябрь (9-16) |
| Хлорофилл «а», мкг/л | 31 10.5—68.3 | 22 7.1—38.3 | 10 2—36.2 | 12 2.1—24.4 |
| Фотосинтез, мкг С/(л · сут) | 1285 355—2800 | 604 230—1006 | 642 168—2527 | 356 108—1076 |
| Азотфиксация, мкг N/(л · сут) | 45.2 6.5—900 | 24.3 7—68 | — | — |
| Температура воды, °С | 19.7 16.8—23.4 | 15.4 13.6—18.6 | 19.7 18—22.8 | 13.5 11.4—16.4 |
| Солнечная радиация, мДж/(м² · сут) * | 4.7 2.5—7.8 | 2.8 1.7—3.3 | 9.5 9—11.2 | 2.5 1.8—3.5 |
| Прозрачность, см | 102 15—130 | 120 90—170 | 136 85—180 | 105 50—140 |
| Сила ветра, м/с | 5.2 3.2—7 | 6.3 3.7—7.6 | 3.6 2.8—4.5 | 7.6 5.3—10.6 |
| NH ₄ | 28 10—70 | 103 10—400 | 94 50—150 | 51 20—70 |
| NO ₃ | 91 0—160 | 107 60—140 | 272 40—470 | 232 20—550 |
| N _{общ} | 950 720—1250 | 983 720—1310 | 877 650—1120 | 1016 550—1310 |
| PO ₄ | 17 0—30 | 25 12—50 | 23 0—45 | 29 10—80 |
| P _{общ} | 83 60—106 | 83 56—120 | 72 48—92 | 79 44—104 |

Примечание: Над чертой — средние данные, под чертой — пределы колебаний

* — Энергия солнечной радиации на глубине максимального фотосинтеза.

удельной азотфиксации и о роли фиксации молекулярного азота в пополнении водоемов связанным азотом.

Поэтому основное внимание уделялось изучению количественных связей интенсивности азотфиксации с фотосинтезом водорослей и с некоторыми физико-химическими параметрами в Рыбинском водохранилище.

Поставленная задача обусловила проведение комплексных и синхронных исследований.

Известно, что в водоемах летом развиваются не только сине-зеленые, но и другие водоросли — зеленые, диатомовые и т. д., которые не фиксируют молекулярный азот, но вносят свой вклад в общий пул фотосинтеза и концентрацию пигментов суммарного

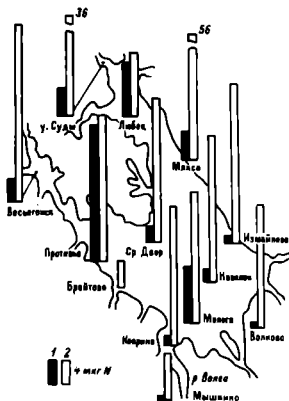


Рис. 39. Интенсивность азотфиксации в Рыбинском водохранилище в 1982 г., $\text{мкг N} / (\text{л} \cdot \text{сут})$.

1 — июль; 2 — сентябрь

фитопланктона. С учетом этого сопоставление азотфиксации синезелеными водорослями с интенсивностью фотосинтеза и содержанием пигментов всего фитопланктона в определенной степени искусственно. Однако это оправдано с экологической точки зрения, так как сопоставления дают количественные представления о важнейших процессах, которые определяют продуктивность водоемов.

Удельная активность азотфиксации фитопланктона, рассчитанная на микрограмм хлорофилла «а», возросла с июля по сентябрь 1982 г. в 2—5 раз, а ее максимальные значения не превышали $7.5 \text{ мкг N} / \text{мкг хлорофилла «а»}$ (рис. 40. А). Имеется достоверная и достаточно высокая корреляция между интенсивностью азотфиксации и содержанием хлорофилла «а» в фитопланктоне (табл. 9). Но эта корреляция отсутствовала в июле 1982 г. при небольшой численности азотфиксирующих водорослей ($r = 0.45$ при $r_{0.1} = 0.52$). Для сравнения укажем, что в этот период

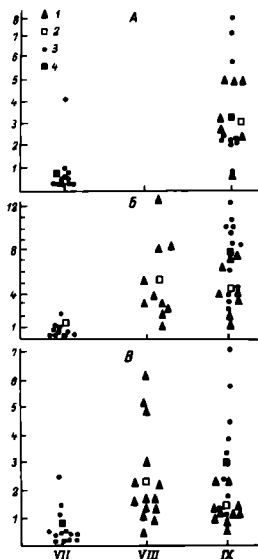


Рис. 40. Соотношение интенсивности азотфиксации с концентрацией хлорофилла «а» (А, мг N/мг хл. «а»), фотосинтезом (Б, %) и содержанием общего азота (В, %) в Рыбинском водохранилище.

1 - данные за 1982 г., 2 - средние данные за 1982 г., 3 - данные за 1981 г., 4 - средние данные за 1981 г.

Таблица 9

Корреляционные связи между интенсивностью азотфиксации, фотосинтеза и некоторыми физико-химическими параметрами в Рыбинском водохранилище в июле—сентябре 1981—1982 гг.

$$r_{0.10} = 0.27; r_{0.01} = 0.32$$

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|----|---|------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1 | 0.73 | 0.60 | 0.08 | -0.60 | 0.27 | 0.04 | -0.19 | -0.30 | 0.26 | -0.27 | -0.05 | -0.23 |
| 2 | | 1 | 0.82 | 0.27 | -0.45 | 0.52 | -0.21 | -0.23 | -0.51 | 0.25 | -0.38 | 0.01 | -0.28 |
| 3 | | | 1 | -0.19 | -0.62 | 0.26 | -0.36 | -0.24 | -0.45 | 0.23 | -0.32 | 0.13 | -0.18 |
| 4 | | | | 1 | 0.34 | 0.64 | -0.14 | 0.11 | 0.20 | -0.12 | -0.22 | -0.30 | 0.18 |
| 5 | | | | | 1 | 0.17 | 0.18 | 0.04 | 0.22 | -0.30 | 0.10 | -0.28 | 0.14 |
| 6 | | | | | | 1 | -0.42 | -0.01 | 0.01 | 0.06 | -0.10 | -0.03 | -0.14 |
| 7 | | | | | | | 1 | -0.20 | -0.06 | 0.02 | 0.22 | -0.20 | -0.07 |
| 8 | | | | | | | | 1 | 0.28 | -0.11 | 0.15 | 0.26 | 0.42 |
| 9 | | | | | | | | | 1 | 0.32 | 0.48 | 0.15 | 0.10 |
| 10 | | | | | | | | | | 1 | 0.14 | 0.29 | -0.13 |
| 11 | | | | | | | | | | | 1 | 0.51 | 0.03 |
| 12 | | | | | | | | | | | | 1 | -0.20 |
| 13 | | | | | | | | | | | | | 1 |

Примечание 1 — азотфиксация, 2 — фотосинтез, 3 — хлорофилл «а», 4 — свет, 5 — прозрачность воды, 6 — температура, 7 — электропроводность, 8 — NH_4 , 9 — NO_3 , 10 — $\text{N}_{\text{общ}}$, 11 — PO_4 , 12 — $\text{P}_{\text{общ}}$, 13 — $\text{Fe}_{\text{общ}}$.

корреляция между фотосинтезом и концентрацией хлорофилла «а» была высокой ($r = 0.89$ при $r_{0.1} = 0.52$).

Индексы отношения интенсивностей азотфиксации и фотосинтеза (азот к углероду) возрастали с июля по сентябрь 1982 г. в 10 раз, достигая в среднем 8 %, а в августе—сентябре 1981 г. они были меньше и практически одинаковыми — 4.8—4.4 % (рис. 40, Б). Наблюдается широкий разброс единиц отношения азота к углероду в течение отдельных периодов наблюдений. Это вызвано несколькими причинами: неоднородным флористическим составом фитопланктона, степенью активности азотфиксирующих водорослей, но в основном это было связано с различной реакцией фотосинтеза и азотфиксации на изменение световых условий в водоеме, когда уменьшение освещенности вызывало большую депрессию фотосинтеза, чем азотфиксации. Поэтому в различных водоемах азотфиксация в отличие от фотосинтеза у синезеленых водорослей обнаруживается глубже распространения света (Lännergren et al., 1974).

Корреляционный анализ выявил тесную связь азотфиксации с фотосинтезом водорослей (табл. 9). При небольшой численности азотфиксирующих водорослей в июле эта связь была слабой: $r = 0.53$ при $r_{0.1} = 0.52$.

Для анализа вклада азотфиксации в бюджет азота в водоемах хорошим показателем служит величина отношения интенсивности азотфиксации к содержанию в воде общего азота ($\text{N}_2 : \text{N}_{\text{общ}}$). Эффективность азотфиксации была незначительна в июле (0.3 %) и повышалась в сентябре в среднем до 3 % за сутки (рис. 40, Б). Максимальные единичные значения $\text{N}_2 : \text{N}_{\text{общ}}$ не превышали 8 %

за сутки. Данные за август 1981 г. не представлены, так как мы не располагали анализами содержания общего азота в воде за этот период. Ранее проведенные исследования (июль—октябрь 1973 г.) в Рыбинском водохранилище показали, что среднесуточная эффективность азотфиксации фитопланктоном за этот период в среднем составляла не менее 1 % от содержания в воде общего азота (см. табл. 11), что заметно выше соответствующих значений, указанных в работе А. И. Саралова (1978). В последнем случае не проводились параллельные измерения азотфиксации и содержания общего азота в воде.

Обращает на себя внимание тенденция увеличения в последние годы соотношения $N_2 : N_{\text{общ}}$ в Рыбинском водохранилище, что, несомненно, связано с повышением продуктивности в этом водоеме азотфиксирующих синезеленых водорослей.

Считается, что в водоемах постоянно поддерживаемые высокие скорости азотфиксации у водорослей маловероятны, так как существует верхний предел количества клеточного азота, который может быть восполнен ежесуточно за счет азотфиксации не более чем на 5—6 % (Stewart, 1969). Необходимо учитывать способность синезеленых водорослей выделять в окружающую среду определенное количество (до 50 %) фиксированного азота (Sharma, Singh, 1981), за счет чего эффективность суточной азотфиксации может быть выше указанных 5—6 %.

Фиксация молекулярного азота у синезеленых водорослей в отличие от фотосинтеза не зависит от дефицита солей азота в воде, хотя высокие концентрации его могут ингибировать этот процесс. В остальном уровень азотфиксации и фотосинтеза у водорослей в водоемах определяется сходными экологическими условиями: температурой, освещенностью, биогенными элементами и др.

Для количественной оценки связи физико-химических условий с интенсивностью фотосинтеза и азотфиксации в Рыбинском водохранилище был проведен корреляционный анализ, представленный в виде матрицы (табл. 9). Коэффициенты корреляции, расположенные в матрице симметрично по отношению к главной диагонали, равны между собой, а диагональные элементы матрицы равны единице.

Проведенная обработка выявила различную связь переменных, но следует отметить, что она всегда была логически обоснованной. Наиболее сильная положительная корреляция установлена между тремя взаимозависимыми переменными — фотосинтезом, азотфиксацией и количеством хлорофилла «а». В данном случае концентрация хлорофилла «а» в воде была пропорциональна количеству водорослей, в основном синезеленых, на что указывает высокий отрицательный коэффициент корреляции между хлорофиллом «а» и прозрачностью воды: чем больше водорослей, тем меньше ее прозрачность. Отсюда вполне закономерно следует достоверная отрицательная корреляция между прозрачностью воды, фотосинтезом и азотфиксацией, которые функционально зависят от количества синезеленых водорослей.

Характер корреляционных связей между фотосинтезом и азотфиксацией и другими физико-химическими переменными в основном аналогичен. Но для фотосинтеза была характерна более тесная связь с интенсивностью света, температурой и с содержанием хлорофилла «а».

Установлена достоверная отрицательная корреляция между фотосинтезом, азотфиксацией, хлорофиллом и содержанием в воде нитратного азота и минерального фосфора, причем, для фиксации молекулярного азота эта связь была выражена слабее. Такая обратная зависимость трех взаимосвязанных переменных от наличия в воде биогенов однозначно указывает на интенсивное их потребление при массовом развитии водорослей. Не выявлено корреляционной зависимости между интенсивностью азотфиксации и концентрацией в воде аммонийного азота — ингибитора нитрогеназной активности синезеленых водорослей.

Таким образом, летом в Рыбинском водохранилище концентрация связанного азота не ингибирует азотфиксирующую активность синезеленых водорослей.

Имеются и другие корреляционные связи между гидрохимическими параметрами, но они менее важны.

Для анализа совокупной связи между азотфиксацией, фотосинтезом и остальными переменными (табл. 9) рассчитана множественная корреляция R . Если исследуемая величина не находится в линейной корреляционной связи с учитываемыми факторами, или же она мала, то значение R равно нулю или близко к нему. При наличии сильной корреляционной связи названных факторов значение R близко к единице. В нашем случае для азотфиксации $R_1 = 0.86$, а для фотосинтеза водорослей $R_2 = 0.97$, что свидетельствует о значительном влиянии на азотфиксацию и фотосинтез водорослей совокупности взятых переменных. Это дает основание рассматривать фотосинтез и азотфиксацию у водорослей в водоеме, как сложные вероятностные процессы, подверженные действию комплекса факторов, причем ни один из них, взятый в отдельности, не определяет эти процессы с достаточной эффективностью.

Онежское и Ладожское озера. В июле—августе 1973 г. впервые проводились исследования интенсивности фиксации азота в Онежском и Ладожском озерах. Для сравнения также измерялась азотфиксация в Рыбинском и Череповецком водохранилищах. По химическому составу воды (табл. 10) Рыбинского и Череповецкого водохранилищ весьма близки. Довольно резко отличаются Онежское и Ладожское озера. Так, минеральный фосфор в Онежском озере практически отсутствовал, в Ладожском его концентрации порядка 0.004 мг/л были на пределе чувствительности методики. Содержание минерального азота в озерах было значительным (0.24 мг/л), что указывает на слабое использование его при дефиците фосфора. Определенное представление об уровне продукционных процессов в каждом из исследованных водоемов может дать усредненная численность (в 1 л) водорослей всех система-

Таблица 10

Характеристика водоемов (июль—август 1973 г.)

| Тип и название водоема | t, °C | Прозрач-ность, м | Солнеч-ная ра-диация, нДж/(м ² ·с) | p-PO ₄ , мг/л | Содержание N, мг/л | | Численность водорослей, млн. кл/л | |
|------------------------------|-----------|------------------|---|--------------------------|--------------------|-----------------|-----------------------------------|----------------|
| | | | | | NO ₃ | N _{ам} | общая | азот-фиксаторы |
| Мезотрофные | 19.6 | 1.2 | 3.9 | 0.013 | 0.46 | 1.13 | 82.6 | 27.0 |
| Рыбинское водоохранилище | 19—20 | 0.8—1.4 | 3.1—4.6 | | | | | |
| Череповецкое водоохрани-лище | 20 | 1.3 | 2.9 | 0.018 | 0.30 | 0.80 | 37.2 | 15.0 |
| | | 0.5—1.9 | 2.5—3.3 | | | | | |
| Ладожское озеро | 14.2 | 3.3 | 3.5 | 0.004 | 0.24 | 0.65 | 23.3 | 5.2 |
| | 13—15.6 | 2.0—4.6 | 2.3—4.2 | | | | | |
| Олиготрофные | 17.8 | 4.8 | 4.7 | 0.003 | 0.22 | 0.50 | 6.4 | 0.5 |
| Онежское озеро | 16.6—18.8 | 3.7—5.3 | 1.2—6.3 | | | | | |

Примечание. Здесь и в табл. 11: над чертой — средние данные, под чертой — пределы колебания.

тических групп. Их величина коррелирует с общим запасом биогенных элементов. Поэтому максимальное количество водорослей отмечалось в Рыбинском и Шекснинском водохранилищах, минимальное — в Онежском и Ладожском озерах (табл. 10).

В исследованный период в водоемах развивались практически одни и те же азотфиксирующие синезеленые водоросли, указанные выше для Рыбинского водохранилища. Исключение составляла колониальная водоросль *Gloeotrichia echinulata*, которая встречалась в северной части Рыбинского и Череповецкого водохранилищ.

Интенсивность азотфиксации в Онежском и Ладожском озерах была примерно в 15 раз ниже, чем в Рыбинском и Череповецком водохранилищах (рис. 41, 42; табл. 11). Закономерности в распределении интенсивности азотфиксации по акватории двух озер не наблюдалось. Можно лишь отметить, что в Онежском озере несколько большие величины азотфиксации наблюдались в восточной части озера. В этом озере относительно низкая интенсивность азотфиксации обусловлена слабым развитием азотфиксирующих водорослей, а в Ладожском озере (при 10-кратном превышении их численности) уменьшение азотфиксации было связано с понижением температуры воды до 14 °C (табл. 10). Так, для различных азотфиксаторов было установлено, что изменение температуры на 10 °C приводит к изменению скорости азотфиксации в 2—3 раза (Fogg, 1971).

В Онежском и Ладожском озерах за счет азотфиксации за сутки образовывалось около 0.09—0.14 % общего азота от содер-

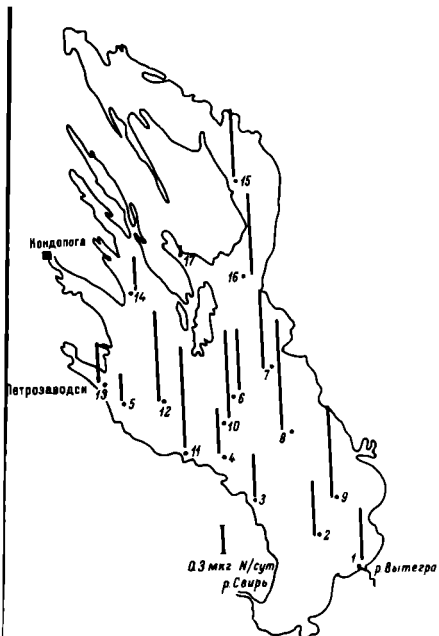


Рис 41 Интенсивность азотфиксации в Онежском озере
Цифры на рисунке — номера станций

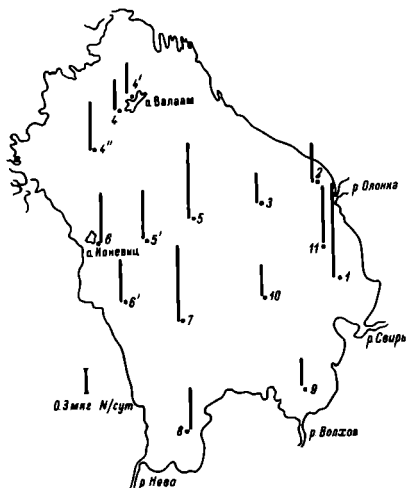


Рис. 42 Интенсивность азотфиксации в Ладожском озере.

Цифры на рисунке — номера станций

жания в воде (табл. 11), что составляло 9—14 % от аналогичных величин в Рыбинском и Череповецком водохранилищах. Тем не менее можно определенно говорить о наиболее благоприятных условиях для популяции азотфиксирующих синезеленых водорослей в Онежском озере, на что указывают высокие величины удельной азотфиксации — 1.36 мкг N на 1 млн. кл водорослей, которые превосходили аналогичные значения в Рыбинском и Череповецком водохранилищах в 3—5 раз. Это было обусловлено, с одной стороны, высокой прозрачностью воды и повышенной суммарной солнечной радиацией, с другой — низким содержанием в воде Онежского озера связанных форм азота. В Ладожском

Таблица 11

Интенсивность фиксации молекулярного азота в водоемах

| Водоем | Фиксировано за сутки | | Удельная азотфиксация, мг/л или кг водорослей |
|----------------------------|----------------------|-------------------|---|
| | мг N/л | % от общего азота | |
| Рыбинское водохранилище | 0.5 | 1.01 | 0.31 |
| | 2.3—24.2 | 0.4—1.7 | |
| Череповецкое водохранилище | 6.3 | 1.12 | 0.42 |
| | 2.5—15.5 | 0.6—2 | |
| Онежское озеро | 0.68 | 0.14 | 1.36 |
| | 0.3—1.2 | 0.05—0.28 | |
| Ладожское озеро | 0.61 | 0.09 | 0.15 |
| | 0.25—1.1 | 0.03—0.2 | |

озере, напротив, низкие величины удельной азотфиксации при значительной численности водорослей свидетельствовали о неблагоприятном физиологическом состоянии для азотфиксаторов.

Сопоставление численности гетероцистных водорослей с интенсивностью азотфиксации выявило определенную положительную корреляцию между ними (рис. 43). Правда, эта корреляция не всегда обнаруживалась. Например, численность азотфиксирующих водорослей в Ладожском озере была почти на порядок больше, чем в Онежском озере при одинаковой интенсивности азотфиксации, что было вызвано понижением температуры воды в Ладожском озере (табл. 10).

Азотфиксация в Онежском озере происходит, по-видимому, только за счет деятельности азотфиксирующих водорослей, так как количество бактерий-азотфиксаторов в толще воды озера крайне мало (Александрова, 1973).

Учитывая тесную связь процессов азотфиксации и фотосинтеза, можно предположить, что полученные величины азотфиксации в исследованных водоемах при определенной численности азотфиксирующих водорослей не являются максимальными, поскольку энергия солнечной радиации на глубине 0.25 м за весь период исследований (табл. 10) была ниже оптимальной для фотосинтеза — 250—300 кал/(см² · сут), или 10.4—12.5 мДж/(м² · сут) (Пырина, Трифонова, 1979).

Волжские водоемы (от г. Калинин до г. Астрахани). В июле—августе 1976 г. в волжских водоемах наибольшее количество гетероцистных водорослей встречалось до г. Ульяновска (от ст. 1 до ст. 21), ниже Ульяновска их количество уменьшалось, а после г. Астрахани они в воде вообще отсутствовали (рис. 44). Наиболее часто встречались водоросли, которые были характерны и для других водоемов: *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena scheremetievii*, *A. lemmermanii*, *A. flos-aquae*.

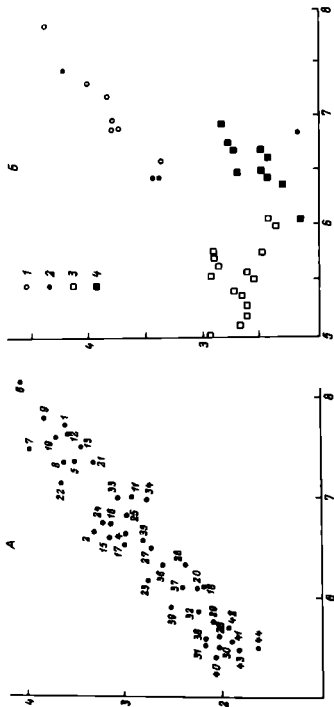


Рис. 43. Соотношение интенсивности азотфиксации и численности синезеленых водорослей в различных водоемах.

А — величина отношения (цифры — номера станций); Б: водохранилища — Рыбинское (1), Череповецкое (2), озеро — Онежское (3), Ладожское (4).

По оси ординат — логарифм величины азотфиксации, $\text{mg N} / (\text{L} \cdot \text{сут})$; по оси абсцисс — логарифм численности водорослей, $\text{мл} / \text{л}$.

Азотфиксация в июле—августе колебалась в пределах 0.1—13.5 мкг N/(л·сут) и коррелировала с численностью гетероцистных водорослей (рис. 44).

По интенсивности фиксации молекулярного азота всю исследованную трассу р. Волги можно разбить на два участка: с повышенной азотфиксацией (ст. 1—24), где она в среднем составляла 3.4 мкг N/(л·сут) и с пониженной азотфиксацией — 0.31 мкг N/(л·сут) (ст. 25—44). Низкая интенсивность азотфиксации была характерна для незарегулированных участков реки (см. рис. 44) с интенсивным течением. Удельная азотфиксация, рассчитанная на миллион клеток гетероцистных водорослей, варьировала в пределах 0.08—0.47 мкг N/млн. кл. (Костяев, Ягодка, 1980), что указывало на физиологическую гетерогенность исследованных популяций синезеленых водорослей. В волжских водоемах отмечалась довольно четкая зависимость интенсивности азотфиксации от степени освещенности. Так, удельная активность водорослей в солнечные дни в среднем была 0.30, при переменной облачности — 0.20 и в пасмурные дни — 0.17 мкг N на 1 млн. кл. в сутки, что составляло 100, 67 и 57 % соответственно. Из этого следует, что переход освещенности от минимальной (пасмурные дни) до максимальной (солнечные дни) может вызвать увеличение активности азотфиксирующих водорослей примерно в 2 раза. Учитывая, что размах колебаний удельной азотфиксации в волжских водоемах значительный (0.08—0.47 мкг N/(л·сут)), можно заключить, что помимо действия светового фактора существенное влияние на активность водорослей оказывают и другие причины, суммарное действие которых приводит к изменению физиологического состояния азотфиксирующих водорослей.

Фиксация молекулярного азота в темноте составляла в среднем 25 % от таковой на свету. Опыты, поставленные в солнечную погоду на ст. 33 с водорослями (с преобладанием *A. flos-aquae*), помещенными со света в темноту, показали, что синезеленые водоросли способны в течение довольно длительного периода фиксировать азот в темноте. Через 26 ч скорость азотфиксации составляла 10 % от таковой в первые часы пребывания водорослей в темноте (Костяев, Ягодка, 1980). По данным Леннергрена (Lännergren et al., 1974), в опытах с природным фитопланктоном, состоящим в основном из *Gloeotrichia echinulata*, фиксация в темноте через 13 ч составляла около 10 % от величины фиксации в первые часы.

Большеземельская тундра. Особенностью экологических условий обитания растительности в тундровых водоемах и почвах является дефицит минеральных азотсодержащих соединений.

Исследования водоемов и почв проводились в июле 1977 и 1978 гг. в пяти районах, относящихся к двум подзонам. Южная часть подзоны северной типичной тундры включает Вашуткины озера и расположенную в 80 км от них систему Безымянных озер в пределах своеобразного в геоморфологическом отношении

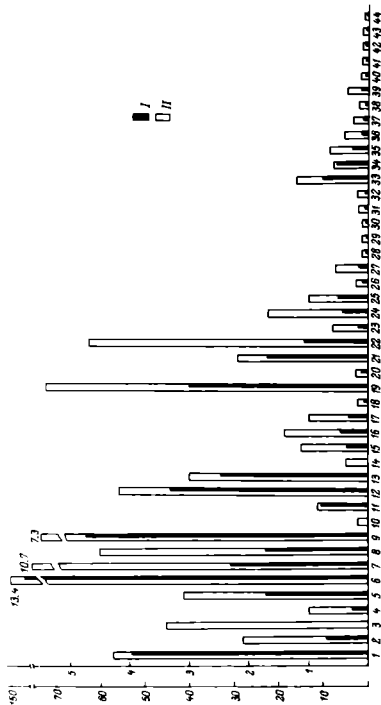


Рис. 44 Интенсивность фиксации молекулярного азота и численность гетероцистных водорослей в водlogged soils

По оси ординат: I — интенсивность водорослей, млн кл./г; II — интенсивность азотфиксации, кгт N/га (сут). По оси абсцисс: номера станций 1—2 Рыбинские водохранилища; 3—8 Горьковский; 9—15 Чебоксарские; 16—24 Куйбышевское; 25—29 Саратовское; 30—36 Волгоградские водохранилища; 37—44 р. Волга

района Вашуткиных озер. В подзоне южной кустарниковой тундры обследована Харбейская система озер, близлежащая система оз. Сеттей и окрестности г. Воркуты.

Водоемы Большеземельской тундры характеризуются минерализацией воды преимущественно гидрокарбонатно-кальциевого характера, нейтральной или слабокислой реакцией среды, малым содержанием солей азота, фосфора и слабыми нитрификационными процессами (Власова, 1976). При изучении азотфиксирующей активности в водоемах подзоны типичной тундры минерализация равнялась 10—46 мг/л, а южной кустарниковой в пределах Воркутинского промышленного района — до 200 мг/л. Как и в других обследованных высокоширотных водоемах, здесь основным источником азотсодержащих соединений является аммоний при малом содержании нитритов и нитратов и полном их отсутствии в весенне-летний период. С начала июля, когда в толще воды крупных озер вскоре после их вскрытия доминируют зимне-весенние виды золотистых и зеленых водорослей (Гецен, 1976), на быстро прогреваемых мелководьях при дефиците аммонийного азота, слабокислой реакции среды, высоких концентрациях железа, температуре воды 11—14 °C (табл. 12) и оптимальном кислородном режиме, 80—100 % насыщения, начинает вегетировать молодая популяция синезеленых водорослей. В своеобразных экологических условиях достаточно удаленных друг от друга озер при низких значениях численности и биомассы синезеленых основной процент приходится на способные к азотфиксации гетероцистные виды родов *Anabaena* (планктон) и *Nostoc* (обрастания). Макроскопические образования во взвешенном состоянии и на стеблях осоки, сабельника и арктофилы почти целиком состояли из азотфиксирующих *Anabaena augstumalis* и *A. cylindrica*.

В гумифицированных озерах Воркутинской тундры на одном стебле мха *Drepanocladus exannulatus* количество видов рода *Nostoc* достигало 500 колоний. На каменистых мелководьях водоемов систем Харбейских и Вашуткиных озер в массе развивались виды рода *Rivularia* и *Calothrix*.

Небольшая численность азотфиксирующих водорослей в толще воды обусловила низкие величины азотфиксации — 0.3—1 мкг N/(л · сут) (табл. 12). При крайне холодной затяжной весне и почти полном отсутствии азотфиксаторов в конце июля 1978 г. в толще воды озер азотфиксация вообще не улавливалась. При увеличении численности азотфиксаторов она достигала большой интенсивности — 20 мг N/(л · сут). Такая величина является ориентировочной, поскольку большая численность водорослей в опытах была создана путем тотальных сборов из толщи воды макроскопических скоплений синезеленых водорослей. Азотфиксация водорослей в обрастаниях колебалась в пределах 0.0076—0.4 мг/см² поверхности цветковых растений и 12—17.5 мг N/м² плавающей дернины водяных мхов с эпифитирующими на них азотфиксаторами. Рекордная величина азотфиксации — 40 540 мг N/(м² · сут) — обнаружена у собранных с камней сине-

Таблица 12

Гидрохимические условия и интенсивность азотфиксации в водоемах Большеземельский тундры

| Район и дата отбора проб | Характер отбора | t у поверхности, °C | pH | NH ₄ , мг/л | PO ₄ , мг/л | Численность азотфиксаторов, млн/см ³ | Интенсивность азотфиксации, мг N/(см ³ × сут) |
|---------------------------------|----------------------------|---------------------|-----|------------------------|------------------------|---|--|
| Харбейское озеро 5 VII 1977 | Смыв с осокни и сабельника | 10.7—13 | 6 | 0.20 | 0.02 | 0.9 | 0.0076 |
| | Отжим мха | 10.7—13 | 6 | 0.01 | — | 0.031 | 0.0036 |
| | Фильтрация воды | 10.7—13 | 6 | 0.09 | 0.01 | 0.02* | 0.0003* |
| | Тотальный сбор водорослей | 10.7—13 | 7 | — | — | 800* | 19.7* |
| г. Воркута 9 VII 1977 | Смыв с печеночника | 10.7—13 | 6.5 | — | — | 0.06 | 0.0033 |
| | Смыв со мха | 14 | 7 | 0.27 | 0.04 | 0.001 | 17.5** |
| | Тотальный сбор водорослей | 14 | 7 | — | — | 40* | 14.3* |
| | Смыв со мха | 13 | — | — | — | 0.52 | 12** |
| Вашутинское озеро 24 VI 1977 | Фильтрация воды | 19—20 | 7 | 0.12 | 0.03 | 0.09* | 0.001* |
| | Смыв с камней | 15—19 | 7 | 0.12 | 0.03 | 28*** | 40** |
| | Тот же | 21.8 | 7 | 0.15 | 0.02 | 41*** | 540** |
| | Смыв с эриктофилы | 14—15 | 7 | — | 0.02 | 0.01 | 0.4 |

* Численность азотфиксаторов и интенсивность азотфиксации в литре.

** То же на 1 м³.*** То же в колониях/см³.

зеленых водорослей на мелководье Вашуткиных озер при максимальной температуре 21.8 °C.

В большинстве случаев световая азотфиксация превосходила темновую, что указывало на преимущественную роль в процессах накопления атмосферного азота азотфиксирующих водорослей по сравнению с бактериями. Доля темновой азотфиксации в среднем для всех обследованных озер составила 23 %.

Необходимо отметить, что при наличии водорослей доля темновой азотфиксации не является мерилем бактериальной деятельности, так как водоросли после освещения могут фиксировать азот в темноте, где интенсивность азотфиксации в среднем составляла 20—25 % от световой (Stewart, 1973; Костяев, 1976). Поиск коррелятивных связей между различными показателями выявил связь азотфиксации в озерах Большеземельской тундры только с численностью азотфиксаторов.

Интенсивность фиксации молекулярного азота в водоемах Большеземельской тундры сравнима или же превосходит ее величины, установленные для других высокоширотных водоемов. В толще воды двух озер Аляски азотфиксация в июле—августе составила всего $5 \cdot 10^{-6}$ мг N/(л · сут) (Dugdale et al., 1959), в то время как при массовом развитии *Anabaena flos-aquae* азотфиксация одного из субарктических озер этого региона достигала 24 мг N/(м² · сут) (Billaud, 1968), что близко к нашим данным при максимальной численности *A. augstumalis*. В олиготрофных озерах Антарктиды в летний период при температуре 4 °C азотфиксация составила 16—133 мкг N/(м² · сут) (Horne, 1972). В оз. Мендота (США) азотфиксация, измеренная по изотопной методике, в октябре составила 0.8 мкг N/(л · сут) и оценивалась как очень высокая (Dugdale et al., 1959).

В шведской части тундры в присутствии *Sphagnum* и *Drepanocladus*, окруженных свободноживущими водорослями из родов *Calothrix*, *Hapalosiphon*, *Nostoc* и *Scytonema* при температуре 7 °C азотфиксация составила 1.33 мг N/(м² · сут), а во мхах с эпифитными и ассоциированными синезелеными водорослями она достигала 29.4 мг N/(м² · сут). Но наибольшие значения ее (36 мг N/(м² · сут)) установлены в присутствии свободноживущих водорослей (Granhall, Selander, 1973).

Интенсивность азотфиксации на камнях при массовом развитии на них водорослей *Calothrix*, *Rivularia*, *Gloeocapsa* достигает 11 мг N/(м² · сут) (Wärmling, 1973), что близко к некоторым нашим данным при массовом развитии на камнях указанных водорослей (табл. 12).

В почвах Большеземельской тундры ведущее положение занимают синезеленые водоросли, среди которых доля азотфиксирующих видов по численности составила 40—83 %, по биомассе — 30—92 %. На пятнах минерального грунта во всех обследованных районах развивается специфичная для данного региона днатомово-ностоко-стигонемовая группировка водорослей. Например, по берегам Вашуткиных озер виды рода *Nostoc*

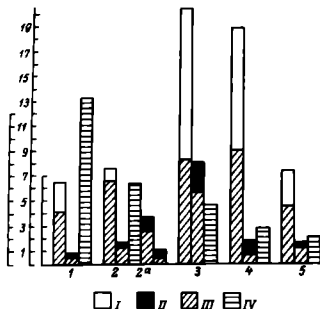


Рис. 45 Численность, биомасса и нитрогенная активность водорослей в почвах Большеземельской тундры (в июле 1977—1978 гг.)

По оси ординат слева направо — азотфиксация, $\text{мкг N} / (\text{см}^2 \cdot \text{сут})$, численность, $\text{млн кл} / \text{см}^2$, биомасса, $\text{мг N} / \text{см}^2$. По оси абсцисс — место и год наблюдений: 1 — оз. Харьбей, 1977, 2 — г. Воркута, 1978, 2a — г. Воркута, 1977, 3 — оз. Сетей, 1978; 4 — Вышутинки озеро, 1977, 5 — Безымянная система озер, 1978. I — численность, II — биомасса водорослей, III — азотфиксаторы, IV — нитрогенная активность водорослей.

составили в ней 21—41 % по численности и 29 % по биомассе, а виды рода *Stigonema* достигали 96 % численности и 99 % биомассы. Водоросли концентрируются в верхнем органическом слое. В нижележащих минеральных горизонтах азотфиксаторы отсутствуют. Это обусловило в поверхностном слое почвы повышенную азотфиксацию ($2\text{--}7 \text{ мкг N} / (\text{м}^2 \cdot \text{сут})$), которая иногда в 20 раз превосходила азотфиксацию в минеральном горизонте ($0.6\text{--}1.3 \text{ мкг N} / (\text{м}^2 \cdot \text{сут})$) (рис. 45). Световая азотфиксация превышала темновую. Доля темновой азотфиксации в тундровых почвах обследованных районов составила в среднем 32 %. Это свидетельствует о преимущественной роли водорослей в процессах накопления атмосферного азота. Вероятно, определенная азотфиксация имела место и в глубинных слоях почвы в анаэробных условиях, которая не учитывалась, но, по-видимому, не играет существенной роли (Егоров и др., 1978).

Важная экологическая ниша для поселения азотфиксирующих водорослей в тундре — моховая дернина, для которой основным эдификатором являются виды рода *Nostoc*. Биомасса *Nostoc* в Большеземельской тундре по расчетной сырой массе достигает

Таблица 13

Численность азотфиксаторов и азотфиксация на мхах
целинной тундры

| Район и дата отбора проб | Азотфиксаторы, тыс. колоний/м ³ | Влажность, % | Азотфиксация мг N/(м ² · сут) | |
|----------------------------|---|-----------------|---|---------|
| | | | свет | темноте |
| г Воркута | | | | |
| 8 VII 1977 | 12 | 40 | 2.6 | 1.6 |
| 10 VII 1977 | 12 | 50 | 0.11 | 0.05 |
| 17 VII 1977 | 1600 | 6 | 0.40 | 0.42 |
| Безымянная система озер | | | | |
| 23 VII 1978 | 50 | 580 | 1.2 | 0.6 |

23 г/м² моховой синузии. Интенсивность азотфиксации в присутствии мха с водорослями варьировала от 0.11 до 2.6 мг N/(м² · сут) (табл. 13).

Развитие *Nostoc* в моховой дерновине в условиях тундры имеет большое экологическое значение, так как виды этого рода способны сохранять активность нитрогеназы при высыхании и быстро повышать ее при повторном увлажнении. В опытах с увлажнением после высушивания *Sphaeronostoc* было установлено (Костяев, 1981), что азотфиксация начиналась через 30 мин после контакта водорослей с водой. Азотфиксация коррелировала с численностью азотфиксирующих водорослей и влажностью почвы моховой дерновины. Максимальная азотфиксация в почвах отмечена в районе Харбейских озер (рис. 45), при 76—88 %-ной влажности, на мхах целинной тундры — при заметном их увлажнении, несмотря на меньшую численность азотфиксаторов по сравнению с таковой в сухой дерновине (табл. 13).

В других исследованиях данные по интенсивности азотфиксации также находятся в тесной связи со степенью развития водорослей и влажностью почв. В прибрежной тундре на Аляске при температуре 20 °С максимальная азотфиксация, 2.33 мг N/(м² · сут), отмечалась во впадинах с преобладанием *Nostoc commune*, в местах же с избыточным увлажнением в присутствии мхов с водорослями — 1.56 мг N/(м² · сут), а на возвышенных сухих местах азотфиксация была минимальной и не превышала 0.63 мг N/(м² · сут) (Granhall, Selander, 1973).

На основании измерений азотфиксации в тундровых почвах в районе г Воркуты можно составить баланс азотфиксации. При этом мы исходили из следующих предположений. Площадь покрытия почвы водорослями составляла 20 %. Моховая дерновина занимала 80 % площади. Тогда при благоприятном режиме влажности и температуре 12—15 °С в течение месяца на гектар целинной тундры поступит в среднем 1.6—9 кг атмосферного азота. Наибольший вклад в баланс азота вносит поверхностный органический горизонт пятен при доминировании на них азотфик-

сирующих водорослей — 1.5—7.5 кг N / га, моховая дерновина — 0.96 кг N / га и минеральный горизонт — 0.065—0.37 кг N / (га · мес). Установленная для Большеземельской тундры интенсивность азотфиксации минерального горизонта почв довольно близка к величинам, найденным при исследовании азотфиксации подзолистых почв Кольского полуострова (Егоров и др., 1978), в которых при низкой температуре с минимальными значениями 2—14 °С она составила 0.11—0.23 кг N / га за сезон. Максимальная интенсивность азотфиксации в Большеземельской тундре сходна с величиной наибольшего накопления азота *Nostoc* в пойме р. Витки при 2.6—22 %-ном покрытии почвы водорослями — 8.35 кг N / (га · мес) (Панкратова, 1973).

Таким образом, в экосистеме высоких широт основное значение принадлежит биологической фиксации за счет свободноживущих, эпифитных и ассоциированных со мхами синезеленых водорослей, что согласуется с выводами биогеоценологических исследований в субарктической тундре (Granhall, Lid-Torsvik, 1975).

Интенсивность фиксации молекулярного азота эпифитным комплексом пресноводных макрофитов

Азотфиксирующие бактерии и синезеленые водоросли распространены не только в толще воды, илах, но и обрастают водные растения, занимающие обширные площади. Чтобы иметь представление о размерах азотфиксации в водоемах, необходимо знать долю в них азотфиксирующего эпифитного комплекса водных макрофитов. По данному вопросу имеется всего ряд работ, выполненных в прудах, соляных болотах и морях (Carpenter, 1972; Head, Carpenter, 1975; Finke, Leeley, 1978).

Исследования проводились с 1978 по 1982 г. в верхневолжских водохранилищах и озерах Латвии (Костяев, 1982, 1984).

Растения отбирались из различных участков водоемов в основном двух экологических зон: 1 — из открытых частей водоемов и 2 — из мелководных, хорошо прогреваемых заливов с замедленным водообменом.

Волжские водоемы. Температурные условия в 1979 и 1980 гг. были близкими: июнь—август — 19—23 °С, сентябрь—октябрь — 13—7 °С. Довольно сходной была и суммарная солнечная радиация. Так, отношение дней с определенной освещенностью к общему количеству дней исследования в 1979 и 1980 гг. соответственно составляло: пасмурные дни — 0.3, 0.38; переменная облачность — 0.27, 0.31; солнечные дни — 0.41, 0.38.

С середины июня в мелководных, хорошо прогреваемых заливах с замедленным водообменом в эпифитном комплексе растений в заметном количестве появляются макроскопические колонии синезеленых водорослей *Gloeotrichia natans* и *Gl. pisum*, в августе достигавшие максимального развития. Особенно интенсивно водоросли развивались на макрофитах с сильно

рассеченной листовой поверхностью (рис. 46). Сырая масса водорослей, собранная в августе с одного растения из залива около г. Калязина, достигала у горца земноводного 8 г, у рдеста пронзеннолистного 28 г и у урути колосистой 35 г. На растениях из открытых частей водоемов с повышенной циркуляцией воды они лишь изредка встречались отдельными колониями. Помимо глеотрихий, в обрастании растений азотфиксирующие водоросли были представлены и другими видами родов — *Anabaena*, *Calothrix*, *Tolypothrix*, но их биомасса была ничтожной по сравнению с ней. Исследования под сканирующим электронным микроскопом показали, что глеотрихия внедряется в ткани растения-хозяина (рис. 47). Возможно, между растением и азотфиксирующими водорослями осуществляется взаимополезный обмен метаболитами. У растений из открытых частей водоемов эпифитный азотфиксирующий комплекс состоит, по-видимому, из бактерий родов *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Azotobacter* (Finke, Leeley, 1978). Довольно часто на этих растениях встречаются безгетероцистные синезеленые водоросли рода *Phormidium*, грибы и шаровидные колонии бактерий (рис. 48).

Всего было исследовано 30 видов растений. Эндогенного выделения ими этилена обнаружено не было.

Результаты измерения степени азотфиксациии с июня по октябрь в расчете на 1 г сухой массы растений представлены в табл. 14.

В летнее время процесс азотфиксациии регистрировался почти повсеместно, а ее интенсивность была тесно связана со степенью развития на макрофитах водорослей *Gleotrichia natans* и *Gl. pilsim*. В зависимости от количества синезеленых водорослей на макрофитах, а следовательно, от интенсивности азотфиксациии исследованные растения разделены на две группы: растения, в обрастании которых глеотрихия или отсутствовала или встречалась редко — отдельными колониями, и растения с интенсивным водорослевым обрастанием (преимущественно из мелководных заливов).

Азотфиксирующая активность *Gl. natans*, снятой с урути, рдеста пронзеннолистного и телореза в августе (температура 20 °С, солнечная погода) соответственно составляла 40, 35 и 22 мкг N / (г · сут).

Интенсивность азотфиксациии растений обеих групп отличалась в среднем в 80—150 раз. Иногда эта разница в зависимости от степени развития водорослей на одном и том же растении достигала 2000 раз.

В 1979 г. наибольшая величина азотфиксациии наблюдалась в июле—августе при максимальной температуре воды — 19—20 °С, затем с падением температуры в октябре до 7 °С снизилась до минимума. Тем не менее при низкой температуре азотфиксациия у растений второй группы в среднем более чем в 70 раз превышала ее интенсивность у растений первой группы. В конце июня—начале июля 1980 г. у растений с водорослями интенсивность азотфиксациии достигла 390 мкг N / (г · сут), но после недельного периода

Интенсивность азотфиксации (мкг N/(г · сут)) в присутствии растений из Угличского и Иваньковского водоемов

| Вид | 1979 г. | | | | 1980 г. | | | |
|---------------------------------|-----------|-------------|-----------|-------------|------------|--------|----------|-----------|
| | июль | август | сентябрь | октябрь | июль | август | сентябрь | октябрь |
| <i>Polygonum amphibium</i> | 0.5 — | 2.25 192 | 2 50 | 1 55 | 1.25 45 | — | — | 0.4 60 |
| <i>Sparganium erectum</i> | 0.8 — | 0.4 720 | 1.25 — | 0.2 70 | 0.8 — | — | — | — |
| <i>Scirpus lacustris</i> | 0.08 — | 2.2 200 | 2.4 60 | 0.65 400 | 4.2 42 | — | — | 0.2 37 |
| <i>Auphar lutea</i> | 0.25 — | 0.8 — | — | 0.65 — | 4 — | — | — | 0.32 — |
| <i>Amphizaea alba</i> | 0.26 — | 1.2 — | 2 — | 1 260 | 2.5 — | — | — | — |
| <i>Ranunculus circinatus</i> | 4.2 — | — | 12 120 | 0.6 140 | 4 — | — | — | — |
| <i>Hydrocharis morsus-ranar</i> | 1.25 — | 9.10 — | 5 860 | 0.2 — | — | — | — | 190 — |
| <i>Glyceria maxima</i> | 4 — | — | 5 — | — | 3.2 8 | — | — | — |
| <i>Gl. fluitans</i> | — | 1 410 | — | — | 3 — | — | — | 1 25 |
| <i>Sporadella pollyrhiza</i> | — | 4 260 | 3.6 — | — | — | — | — | — |
| <i>Lemna minor</i> | 0.9 — | 20 500 | 12 70 | 26.4 — | 0.45 — | — | — | 1.5 — |
| <i>Oenanthe aquatica</i> | 0.04 — | 0.6 — | — | 0.5 — | 1.5 — | — | — | — |
| | — | — | — | — | 2.5 — | — | — | 1.25 — |

Т а б л и ц а 14 (продолжение)

| Вид | 1979 г | | | | 1980 г. | | | |
|--------------------------------|-----------|--------------|------------|-------------|------------|-----------|------------|------------|
| | июнь | июль | август | сентябрь | октябрь | ноябрь | декабрь | сентябрь |
| <i>Typha angustifolia</i> | 0.25 — | 1.2 — | — | 0.7 — | 0 — | 0.8 — | — | 0.28 — |
| <i>T. latifolia</i> | — | 4.4 — | 10 — | — | 0.03 — | 0.8 — | — | — |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | 0.24 — | 2.8 — | 4 — | 1.6 — | 0 — | — | — | — |
| <i>Potamogeton lucens</i> | 0.12 — | 6 — | 5.25 — | 1 48 | 0.16 — | 0.75 — | 1 — | 0.32 — |
| <i>P. pectinatus</i> | 2 — | 12 700 | 1.2 — | 2.6 — | 0.04 — | 1.6 — | 0.8 — | 0.2 — |
| <i>P. crispus</i> | 1.85 — | 2.5 — | 1 230 | 1.05 231 | 0.55 — | 1 — | — | — |
| <i>P. natans</i> | 1.25 — | — | — | 2.25 120 | 0.02 — | 2.5 — | — | 3.25 — |
| <i>P. perfoliatus</i> | 0.25 — | 4.6 1530 | 2.2 837 | 2.2 125 | 0.15 16 | 2.8 — | 0.85 65 | 0.15 80 |
| <i>Lemna trisulca</i> | 1.2 — | 7.85 1380 | 10 700 | 4 680 | 0.04 — | 6 — | 4 — | — |
| <i>Sagittaria sagittifolia</i> | 1.25 — | 10 280 | 8 386 | 2.5 634 | 0.3 — | 4.8 — | 2 200 | 0.45 40 |
| <i>Butomus umbellatus</i> | 1 — | 1.25 — | 1.24 — | 0.85 — | 0.04 — | 1.6 — | — | — |

Таблица 14 (продолжение)

| Вид | 1979 г | | | | 1980 г | | | |
|---------------------------------|-----------|-------------|---------------|--------------|------------|-----------|-------------|--------------|
| | июль | июль | август | сентябрь | сентябрь | июль | июль | сентябрь |
| <i>Stratiotes alodes</i> | 0.82 — | 20 1360 | 3.2 334 | 1.25 150 | 0.45 5 | 10 — | 1.65 100 | 0.45 100 |
| <i>Phragmites communis</i> | 0.5 — | 0.8 — | 1 420 | 0.05 46 | 0.2 — | 0.85 — | 1.2 — | 0.04 — |
| <i>Myriophyllum spicatum</i> | 1 — | 4 1560 | 1.6 1300 | 1 270 | 0.25 10 | 8 — | 6 620 | 0.8 240 |
| <i>Equisetum fluviatile</i> | 0.2 — | 4.25 890 | 20 600 | 0.4 38 | 0.02 — | 0.8 — | 4 41 | 0.4 20 |
| <i>Alisma plantago-aquatica</i> | — | 10.2 — | — | 0.45 — | 0.05 — | 0.6 — | — | — |
| <i>Elodea canadensis</i> | — | 3.6 233 | 10 360 | 6.2 50 | — — | 1.6 — | 1 40 | 1.25 — |
| Среднее | 1 — | 5.6 698 | 4.66 492.3 | 1.4 210.3 | 0.1 7.7 | 2.7 — | 2.54 217 | 0.72 90.7 |

Примечание. Над чертой — азотфиксация у растений без водорослей (первая группа), под чертой — азотфиксация у растений с водорослями (вторая группа).

ливневых дождей, усилившего скорость течения воды, количество водорослей на макрофитах резко уменьшилось и азотфиксация снизилась до 65 мкг N / (г · сут). В первой группе растений увеличение циркуляции воды в такой степени на азотфиксацию не повлияло — она уменьшилась лишь в 1,6 раза.

В литературе отрицательное влияние дождевых осадков на азотфиксацию связывается с ингибирующим действием повышенных концентраций ионов аммония в осадках (Torrey, Lee, 1976). Однако это маловероятно. Более убедительным кажется, что интенсивные осадки действуют на водоросли как неблагоприятный механический фактор, увеличивая циркуляцию воды.

Интенсивность азотфиксации в 1980 г. была примерно в 2 раза ниже, чем в 1979 г. (табл. 14).

В 1979—1980 гг. проводились исследования в районе подогретых вод Конаковской ГРЭС (Мошковичский залив). Контрольные растения отбирались из близлежащего Бабнинского залива, не подверженного влиянию подогрева. Для Мошковичского залива характерны повышенная температура (табл. 15) и интенсивные течения. Можно было предположить, что подогрев воды создает благоприятные условия для развития в перифитоне растений синезеленых водорослей. Но наблюдения показали, что в обрастании растений Мошковичского залива практически отсутствовал наиболее активный азотфиксатор — глеотрихия (на контрольных растениях глеотрихия отсутствовала). Интенсивность азотфиксации у растений из Бабнинского залива равнялась или превышала таковую растений из Мошковичского залива. Лишь в октябре, когда температура воды вне зоны подогрева снизилась до 7 °С, азотфиксация в Бабнинском заливе была в 2 раза ниже, чем в Мошковичском.

Таблица 15

Интенсивность азотфиксации у водных растений в Мошковичском и Бабнинском заливах

| Залив | Дата | Температура, °С | Азотфиксация, мкг N / (г · сут) |
|--------------|----------|-----------------|---------------------------------|
| Мошковичский | 1979 г. | | |
| | сентябрь | 23 | 0,44 |
| | октябрь | 17 | 0,90 |
| | 1980 г. | | |
| Бабнинский | июнь | 28—30 | 3,0 |
| | сентябрь | 22 | 0,90 |
| | 1979 г. | | |
| | сентябрь | 15 | 0,72 |
| | октябрь | 7 | 0,44 |
| | 1980 г. | | |
| | июнь | 20 | 4,50 |
| | сентябрь | 13 | 0,75 |

Таблица 16

Сезонная интенсивность фиксации молекулярного азота ($\text{мг N} / (\text{м}^2 \cdot \text{сут})$) в Угличском и Ивановском водоемах в 1979 г.

| Водоем | Июнь | Июль | Август | Сентябрь | Октябрь |
|------------|------|--------|--------|----------|---------|
| Угличский | 0.33 | 1.84 | 1.53 | 0.46 | 0.03 |
| | — | 172.75 | 162.40 | 69.30 | 2.55 |
| Ивановский | 0.37 | 2.07 | 1.70 | 0.50 | 0.04 |
| | — | 197.70 | 182.0 | 77.70 | 2.85 |

С целью выяснения возможных причин низкой интенсивности азотфиксации в присутствии растений из Мошковичского залива были поставлены опыты, в которых исследовалась азотфиксация глеотрихии в воде из теплого и контрольного заливов при температуре 20°C . Оказалось, что интенсивность азотфиксации в воде Мошковичского залива была в 2—3 раза ниже, чем в воде Бабнинского залива. Таким образом, низкая интенсивность азотфиксации в теплом заливе, по-видимому, определяется двумя факторами. С одной стороны, интенсивные течения воды препятствуют закреплению на растениях микроскопических колоний глеотрихии, с другой, неблагоприятный химический состав воды отрицательно влияет на нитрогеназную активность водорослей. В последнем случае таким репрессором нитрогеназы может быть аммоний, высокое содержание которого характерно для подогретых вод (Кошелева, 1977).

Расчет интенсивности азотфиксации по месяцам в 1979 г. на 1 м^2 растений первой и второй групп представлен в табл. 16. Масса растений на 1 м^2 взята из работы И. В. Довбни (1979) за вычетом массы надводной части растений. Азотфиксация при интенсивном обрастании растений синезелеными водорослями достигала в среднем $200 \text{ мг N} / (\text{м}^2 \cdot \text{сут})$, а при отсутствии или слабом развитии водорослей на макрофитах она не превышала $2 \text{ мг N} / (\text{м}^2 \cdot \text{сут})$. В пересчете на гектар за весь вегетационный сезон (июнь—октябрь) интенсивность азотфиксации в двух водоемах для растений со слабым обрастанием водорослями составила $1.25\text{—}1.4 \text{ кг N} / \text{га}$ за сезон, а для растений с обильным обрастанием — $123\text{—}138 \text{ кг N} / \text{га}$ за сезон.

Учитывая, что содержание общего азота в высших водных растениях в среднем составляет около 2 % сухого вещества (Экзерцев, 1978; Довбня, 1979), можно рассчитать потенциальный вклад азотфиксации в общий баланс азота, накопленного макрофитами за сезон. Для растений со слабым обрастанием азотфиксирующими водорослями этот вклад в среднем составил 2 %, а при интенсивном обрастании — около 210 % от содержания в высших растениях общего азота.

Для определения суммарной азотфиксации за сезон на всю площадь, занимаемую макрофитами, необходимо знать площадь

Интенсивность азотфиксации (мг N/(г·сут)) в присутствии растений и общее на них водорослей (баллы)

| Вид | Озеро | | | | | | |
|---------------------------------|----------|---------|---------|----------|----------|----------|---------|
| | Азавесте | Икенис | Дегдес | Резнас | Рүшону | Эди | Ускас |
| <i>Polygonum amphibium</i> | 2 (0) | 2,4 (0) | — | — | 3 (0) | 0,6 (0) | 1,4 (0) |
| <i>Sorpus lacustris</i> | 3 (0) | 5,2 (1) | 1,8 (0) | 120 (3) | 27 (2) | 0,6 (0) | 1,6 (0) |
| <i>Nuphar lutea</i> | — | — | 1,2 (0) | — | — | 1,2 (0) | 2,8 (0) |
| <i>N. pumila</i> | 1 (0) | 2,6 (0) | — | — | — | — | — |
| <i>Nymphaea candida</i> | — | 5,3 (1) | — | — | — | — | 2,8 (0) |
| <i>Ranunculus circinalis</i> | 33 (2) | — | — | — | — | — | — |
| <i>Hydrocharis morsus-ranae</i> | 23 (2) | — | — | — | — | — | — |
| <i>Carex rostrata</i> | 24 (2) | — | — | — | — | 1,4 (0) | — |
| <i>Typha angustifolia</i> | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | — | — | 3,4 (0) | — | — | — | 0,4 (0) |
| <i>Potamogeton lucens</i> | — | — | 2 (0) | 51 (3) | 20 (2) | 0,8 (0) | — |
| <i>P. heterophyllus</i> | 52,5 (3) | 1 (0) | — | — | — | — | — |
| <i>P. natans</i> | 38 (2) | — | — | — | — | 1,6 (0) | 42 (2) |
| <i>P. perfoliatus</i> | 3,6 (0) | — | 5,3 (3) | — | 27,5 (2) | 0,68 (0) | 90 (3) |
| <i>P. compressus</i> | 84 (3) | — | — | — | — | — | — |
| <i>Lemna trisulca</i> | 20,8 (2) | — | — | — | — | — | — |
| <i>Stratiotes aloides</i> | 2,8 (0) | — | — | 17,5 (2) | — | — | — |
| <i>Phragmites communis</i> | 0,8 (0) | — | 2,4 (0) | 75 (3) | 22 (2) | 1 (0) | 17 (2) |
| <i>Myriophyllum spicatum</i> | 20 (2) | 37 (2) | — | — | — | — | — |
| <i>Equisetum fluviatile</i> | 1,6 (0) | — | — | — | — | — | — |
| <i>Alisma plantago-aquatica</i> | 10,8 (2) | 50 (3) | — | — | — | — | — |
| <i>Elodea canadensis</i> | 2,8 (0) | — | — | — | — | — | — |
| <i>Fontinalis antipyretica</i> | 76 (3) | — | — | — | — | — | — |

Примечание. В скобках 0 — отсутствие водорослей, 1 — единично, 2 — много, 3 — очень много

Таблица 18
Интенсивность фиксации молекулярного азота в озерах Латвии
в августе 1980 г.

| Озеро (дата) | Площадь, га | Тип озера | t, °C | Фиксировано азота, мкг N/(г · сут) |
|-----------------|----------------|-------------|-------|--|
| Алауксте (9—12) | 796 | Мезотрофный | 18.2 | 2.26 38.20 |
| Инесяс (10—11) | 534 | » | 18.6 | 3.30 43.50 |
| Дагдас (16—18) | 487 | Евтрофный | 18.2 | 2.16 53.00 |
| Резнас (17—18) | 5598 | Мезотрофный | 18.6 | 65.87 3.0 |
| Рушону (17—18) | 2312 | » | 18.5 | 23.60 1.54 |
| Эши (18—21) | 1184 | » | 19.0 | 0.0 1.80 |
| Усмас (23—25) | 3890 | Евтрофный | 18.2 | 52.26 |
| Среднее | — | — | — | 2.34 46.07 |

растений, интенсивно обрастающих азотфиксирующими водорослями. Для Угличского водохранилища эта площадь была принята равной 125 га, а для Ивановского водохранилища — 1500 га. Общая площадь, занимаемая растениями в Угличском и Ивановском водоемах, соответственно составляет 1230 га и 7585 га (Экзерцев, 1978). Суммарная азотфиксация за сезон 1979 г. в Угличском водохранилище составляла 16.5 т азота, в Ивановском — 220 т. В 1980 г. интенсивность азотфиксации в присутствии макрофитов была примерно в 2 раза ниже, чем в 1979 г.

Озера Латвии. В августе 1980 г. на семи озерах Латвии проводилось изучение интенсивности фиксации молекулярного азота *in situ* в присутствии высших водных растений.

Растения отбирались в литорали и в глубокой части озер. Исследованные озера различаются по трофности и степени зарастания макрофитами — от 25 до 50 % (Спурис, 1963). Температура воды в период исследований была около 18.5 °C (см. табл. 18). Всего было изучено 23 вида растений. Почти во всех исследованных озерах на макрофитах (кроме оз. Эши) в той или иной степени в обрастании встречались макроскопические колонии синезеленой азотфиксирующей водоросли *Gloeotrichia pism*, особенно на растениях прибрежной зоны.

Приуроченности этих водорослей к какому-либо виду растений не наблюдалось. Как правило, они поселялись на поврежденных

или старых растениях. На молодых макрофитах водоросли не поселялись даже в том случае, когда они находились среди растений, сплошь покрытых глеотрихией. Наиболее интенсивно обрастали тростник и камыш в оз. Резнас, а в оз. Эши глеотрихия на растениях практически отсутствовала.

Из табл. 17 хорошо видна тесная связь интенсивности азотфиксации, рассчитанной на грамм сухой массы растений, с обилием на них водорослей. Размах колебания интенсивности азотфиксации был широк — 0.60—120 мкг N / (г · сут). По каждому озеру представлены усредненные данные азотфиксации (табл. 18). В присутствии растений с водорослями азотфиксация была примерно в 30 раз выше, чем у растений без водорослей.

Для определения суммарной азотфиксации за сезон всей площадью макрофитов в озерах Латвии необходимо знать не только их общую площадь, но и площадь растений с водорослями. В настоящее время такие данные отсутствуют.

Таким образом, полученные результаты в различных водоемах СССР указывают на одну общую тенденцию — чем интенсивнее развиваются в обрастаниях растений гетероцистные водоросли (в основном из рода *Gloeotrichia*), тем интенсивнее идет азотфиксация.

В мелководных, хорошо прогреваемых заливах верхневолжских водохранилищ условия для массового развития на растениях *Gloeotrichia* были благоприятнее, чем в озерах Латвии, где мелководные заливы встречаются редко. Поэтому и азотфиксация у растений с водорослями из озер Латвии была ниже, чем из волжских водоемов.

В аналогичных исследованиях на озерах и прудах США, где на водных растениях также развивалась *Gloeotrichia*, азотфиксация в зависимости от обилия этих водорослей колебалась от 24 до 145 мкг N / (г · сут) (Finke, Leeley, 1978; Moeller, Roskoski, 1978).

Наши данные более сходны с результатами, полученными при исследованиях на рисовых полях Кубань, в водоемах штата Мичиган, где в массе развивались *Gloeotrichia natans* и виды из родов *Nostoc*, *Anabaena*, *Calothrix*, *Cylindrospermum*, а интенсивность азотфиксации достигала 25 кг N / (га · мес) — 70 кг N / (га · год) (Вахрушев, 1974; James, 1985). Полученные результаты могут быть использованы при расчете баланса азота в озерах и водохранилищах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные вопросы, рассмотренные в монографии, относятся к биологии, экологии и роли синезеленых азотфиксирующих водорослей как накопителей азота в различных водоемах. В сравнительном плане в ней представлены некоторые данные по биологии и азотфиксирующей активности синезеленых симбиотирующих водорослей в лишайниках.

Способность к азотфиксации среди синезеленых водорослей распространена очень широко. Раньше считалось, что ею обладают только водоросли с гетероцистами, однако в последнее время способность к азотфиксации установлена у многих безгетероцистных видов синезеленых водорослей.

Механизм азотфиксации у синезеленых водорослей сходен с таковым у других азотфиксирующих микроорганизмов. Отличие заключается лишь в том, что у водорослей основные факторы азотфиксации — АТФ и доноры электронов — генерируются в световой стадии фотосинтеза, а например у гетеротрофных бактерий, они образуются в процессе трансформации органических соединений. Поэтому основным условием для протекания азотфиксации у синезеленых водорослей является их освещение, а далее азотфиксация может протекать в темноте. Длительность темновой азотфиксации у синезеленых водорослей определяется интенсивностью предварительного освещения.

Считается, что роль света для нитрогеназы у синезеленых водорослей заключается лишь в снабжении ее энергией в процессе циклического фотофосфорилирования, как это было показано в экспериментах с *Anabaena cylindrica*. Однако имеются и другие данные, свидетельствующие о том, что эффективность фотосистемы I для азотфиксации разных видов синезеленых водорослей неодинакова. По-видимому, для длительного поддержания оптимального уровня АТФ для азотфиксации водорослей необходимо функционирование не только циклического, но и нециклического электронного транспорта.

Синезеленые азотфиксирующие водоросли способны использовать не только видимый свет ($\lambda = 400-700$ нм), но и длинноволновые ($\lambda = 300-390$ нм) ультрафиолетовые лучи. Эти лучи в водоеме могут проникать на значительные глубины и по своей интенсивности достигают 5—10 % от суммарного солнечного излучения.

Длинноволновые ультрафиолетовые лучи в зависимости от интенсивности могут или подавлять, или стимулировать фиксацию молекулярного азота у синезеленых водорослей. Эффективность этих лучей для азотфиксации у водорослей на фоне действия видимого света имеет тенденцию к снижению при увеличении интенсивности видимого света. Таким образом, в условиях *in situ* длинноволновое солнечное излучение можно рассматривать как важный экологический фактор.

Азотфиксация — восстановительный процесс, очень чувствительный к кислороду в условиях *in vitro*. Возможность азотфиксации у различных синезеленых водорослей в аэробных условиях *in situ* обеспечивается разнообразными механизмами защиты нитрогеназы от кислородной инактивации. Нитрогеназа у некоторых синезеленых водорослей локализована в толстостенных гетероцистах, которые не выделяют кислород (у них отсутствует фотосистема II) и обладают интенсивным дыханием. Кроме того, выделение ими водорода, катализируемое нитрогеназой, способствует в околоклеточном пространстве инактивации кислорода. Однако некоторые представители безгетероцистных синезеленых водорослей (роды *Gloeocapsa*, *Gloeothoece*) также способны фиксировать молекулярный азот в аэробных условиях. У этих водорослей, вероятно, имеется так называемый конформационный механизм защиты нитрогеназы, который заключается в своеобразной структурной организации ферментативного комплекса, как это имеет место у аэробных азотфиксаторов из рода *Azotobacter*.

Кроме указанных специализированных механизмов защиты нитрогеназы в условиях *in situ* при фотосинтетическом перенасыщении воды кислородом синезеленые водоросли способны выделять обильную слизь и экзогенные восстановители, что также в определенной степени нейтрализует отрицательное влияние кислорода на водоросли (Сиренко, 1972).

Безгетероцистные синезеленые водоросли — хроококковые, плеврококковые, осцилляториевые и т. д., у которых отсутствует механизм защиты нитрогеназы от кислорода, способны к азотфиксации лишь в анаэробных или микроаэрофильных условиях (содержание растворенного кислорода от 0.1 до 1 мг/л).

Помимо кислорода ингибирование синтеза и активности нитрогеназы у большинства азотфиксирующих микроорганизмов вызывается высокими концентрациями аммиака, добавленного в среду непосредственно или восстановленного из других соединений. Однако в водоемах такие концентрации аммиака наблюдаются редко, а летом в период массового развития водорослей количество связанного азота резко уменьшается, иногда до аналитического нуля. Поэтому в водоемах, как правило, связанный азот не ингибирует азотфиксирующую активность синезеленых водорослей. На внесение в условиях *in situ* одних и тех же концентраций связанного азота синезеленые водоросли реагируют противоречно — от стимуляции до ингибирования азотфиксации.

Это связано с тем, что характер реакции азотфиксирующих водорослей на связанный азот зависит от экологических условий и от фазы развития самих организмов.

В последнее время в водоемах наряду с биогенными элементами все большее экологическое значение приобретают соли тяжелых металлов. В повышенных концентрациях тяжелые металлы выступают в роли неспецифических ингибиторов анаболизма и катаболизма у различных микроорганизмов. Важность изучения действия тяжелых металлов на различные организмы такова, что

некоторым из них (кадмию, меди и цинку) посвящены отдельные тома (Copper in the Environment, 1979; Cadmium in the Environment, 1980).

В литературе имеются обширные и противоречивые сведения о влиянии тяжелых металлов на водоросли. Противоречивость этих сведений объясняется тем, что тяжелые металлы легко вступают в реакцию с компонентами среды (органическими кислотами, гуминовыми и фульвокислотами, фосфатами и т. д.), а также с продуктами метаболизма, например синезеленых водорослей, являющимися сильными комплексообразователями (Mc Knight, Morel, 1979). В результате этого образуются трудно-растворимые комплексы, меняется форма нахождения металлов в среде и их токсичность для водорослей. По этим причинам бывает очень трудно увязать реакцию водорослей на конкретную концентрацию металла в среде.

В свете вышесказанного возникает вопрос, какова ценность весьма противоречивых данных, полученных в опытах с водорослями в средах, разных по химическому составу? Необходима ли стандартизация среды в опытах с тяжелыми металлами?

Если ставится задача экологического прогнозирования (мониторинга) последствий действия тяжелых металлов на водные микроорганизмы в условиях водоемов, то такая стандартизация условия проведения экспериментов вряд ли нужна. Природная вода представляет сложную и неизвестную многолигандную и многокомпонентную систему, которую трудно смоделировать средой определенного химического состава. Опыты с тяжелыми металлами в различных условиях в определенной степени моделируют разнообразие ситуаций в водоемах, а результаты этих опытов дают представление о спектре действия тяжелых металлов на микроорганизмы в зависимости от гидрохимических условий.

У водорослей имеются два механизма поглощения тяжелых металлов: неспецифическая адсорбция или ионно-обменные реакции; специфическое поглощение элементов в результате активного транспорта тяжелых металлов через клеточную мембрану.

Для сравнения укажем, что у различных лишайников, в составе которых имеются азотфиксирующие синезеленые водоросли, поглощение тяжелых металлов осуществляется в основном микобиотом.

Об активном транспорте металлов у синезеленых водорослей свидетельствуют повышенное их накопление клетками на свету и при небольшом содержании металлов в среде.

Для оптимального развития водорослей железо необходимо в больших концентрациях, чем другие тяжелые металлы. Однако потребность в этом элементе у синезеленых водорослей по сравнению с другими водорослями понижена. Среди синезеленых водорослей более требовательными к железу оказались азотфиксирующие виды, у которых оно концентрируется преимущественно в гетероцистах в период активной азотфиксации.

Для разнообразных процессов метаболизма синезеленых

водорослей железо необходимо в различных концентрациях, но больше всего в нем нуждаются размножающиеся водоросли — до нескольких миллиграммов в литре среды.

Дефицит железа в среде вызывает у синезеленых водорослей типичный «хлороз», которому предшествуют нарушение в биосинтезе хлорофилла, усиление каротиногенеза и редукция фотосинтезирующих ламелл. Это, в свою очередь, приводит к нарушению фотосинтеза, азотфиксации и прекращению размножения водорослей. Несмотря на постоянное присутствие в водоемах значительных концентраций железа, оно для азотфиксирующих синезеленых водорослей, по-видимому, малодоступно, так как дополнительное внесение небольших концентраций в различных водоемах вызывает стимуляцию азотфиксации.

Потребность у синезеленых водорослей в других тяжелых металлах (кобальт, кадмий, медь, цинк и свинец) очень незначительна. Основное внимание нами было уделено токсикологии этих элементов. У синезеленых водорослей наблюдается быстрая реакция на присутствие указанных металлов (в течение нескольких минут) и выражается в интенсивном выходе из клеток калия и натрия, вероятно, в результате нарушения проницаемости клеточной мембраны. Другие процессы, фотосинтез и азотфиксация, ингибируются намного позднее.

У синезеленых азотфиксирующих водорослей под влиянием тяжелых металлов происходит интенсивное образование спор, нарушается синтез хлорофилла и усиливается каротиногенез, а в ультраструктуре водорослей наблюдается разбухание внутритилакоидного пространства и деструктуризация газовых вакуолей.

Наибольшей резистентностью к тяжелым металлам синезеленые водоросли обладают в период максимального роста, что отмечается также и для других водорослей (Горюнова, 1980; Горюнова и др., 1984).

По степени токсичности для синезеленых азотфиксирующих водорослей тяжелые металлы можно расположить в ряду: $Cd > Co > Zn > Cu > Pb > Fe$.

Среди синезеленых водорослей наиболее чувствительной к тяжелым металлам оказалась *Anabaena spiroides*, для которой токсические концентрации металлов были очень низкими: $Cd < 2.5$, $5 < Co < 2.5$, $10 < Zn < 5$, $Cu = 7.5-10$, $Pb = 50$ мкг/л.

Благодаря высокой чувствительности к тяжелым металлам *A. spiroides*, ее можно рекомендовать в качестве тест-объекта в различных токсикологических исследованиях.

По сравнению с азотфиксирующими синезелеными водорослями большой способностью аккумулировать тяжелые металлы обладают лишайники, среди которых многие фиксируют азот атмосферы. Нарушение различных сторон метаболизма у лишайников (фотосинтез, дыхание и азотфиксация) вызывается очень высокими концентрациями тяжелых металлов — в десятки, а то и в сотни раз большими, чем это имеет место у других организмов (Инсарова, 1983).

Устойчивость лишайников к большим концентрациям металлов объясняется, вероятно, тем, что они связываются в хелатные комплексы на поверхности микобионта и не проникают в клетки грибов и водорослей (Вайнштейн, 1982). Механизм действия тяжелых металлов на лишайники сходен с таковым у других микроорганизмов и заключается в нарушении ими барьера клеточной проницаемости.

Анализируя закономерности азотфиксации в водоемах, необходимо заметить, что ее интенсивность зависит от трофии и перемешиваемости (миктичности) водоемов. Трофия водоемов определяет интенсивность азотфиксации, а степень их перемешиваемости обуславливает количество и длительность существования экологических ниш азотфиксирующих микроорганизмов.

Основная роль в азотфиксации в толще воды различных водоемов принадлежит синезеленым гетероцистным водорослям из родов *Anabaena* и *Aphanizomenon*. Гетеротрофная азотфиксация в воде практически отсутствует, однако она имеет большое значение в плах различных водоемов. В водоемах в соответствии с их трофией на масштабы азотфиксации оказывают влияние напряженность процессов новообразования органического вещества и его последующая минерализация микроорганизмами.

В олиготрофных водоемах любой степени перемешивания при дефиците биогенных соединений в течение всего года продуцирование органического вещества и его деструкция микроорганизмами незначительны. Эти водоемы характеризуются небольшой численностью водорослей и слабым фотосинтезом. Поэтому вода в олиготрофных водоемах не перенасыщается кислородом, и он здесь не выступает в роли ингибитора нитрогеназной активности водорослей. В этих водоемах также слабо идут процессы аммонификации и нитрификации, из-за чего соли аммония в воде не накапливаются, и он не оказывает отрицательного влияния на активность азотфиксирующих водорослей.

Небольшая численность синезеленых водорослей и, по-видимому, дефицит солей фосфора в олиготрофных водоемах обуславливают низкую интенсивность азотфиксации, за счет которой здесь продуцируется за год не более 1 % азота от общего его содержания в воде.

Для мезо-евтрофных водоемов характерны интенсивные процессы новообразования органического вещества и его деструкция микроорганизмами, что оказывает сильное влияние на гидрохимию этих водоемов. Здесь синезеленые азотфиксирующие водоросли бурно развиваются и вызывают «цветение» воды. В этот период азотфиксация в воде может достигать очень больших значений — до 600—900 мкг N / (л · сут). На большую скорость азотфиксации в воде указывает тот факт, что интенсивность связывания атмосферного азота синезелеными водорослями, например, в Рыбинском мезотрофном водохранилище может достигать 10 % от фотосинтеза всего фитопланктона.

Вклад азотфиксации в общий баланс азота за год может

составить 8—10 % в мезотрофных и до 50 % в евтрофных водоемах. В высокопродуктивных водоемах летом отрицательное влияние на азотфиксацию у водорослей могут оказать перенасыщение воды кислородом (до 250 %) и дефицит ряда биогенных элементов. Поэтому при большой напряженности процессов фотосинтеза и азотфиксации отмечается отрицательная корреляция между ними и содержанием в воде связанного азота и фосфора.

В зависимости от степени перемешивания водоемов возможен интенсивный выброс из илов в толщу воды значительного количества аммония, который подавляет азотфиксацию. В мезотрофных полимиктических водоемах (Рыбинское водохранилище, озера Доткас, Резнас и др.) вынос солей аммония из илов идет более или менее постоянно, но в малых количествах, поскольку периодическое перемешивание не позволяет этим соединениям накопиться в илах. В летнее время связанные формы азота в толще воды быстро потребляются неазотфиксирующими водорослями. В димиктических мезо-евтрофных водоемах (озера Эркен, Мендота, Белое и др.) вертикальное перемешивание воды происходит 2 раза — весной и осенью. За зиму и лето в илах этих озер накапливается значительное количество аммонийных солей, которые весной и летом выносятся в толщу воды и подавляют азотфиксацию (Torgge, Lee, 1976; Horne, 1978).

При переходе от олиготрофных к евтрофным водоемам величина азотфиксации должна уменьшаться по причине усиленного образования в илах евтрофных водоемов связанного азота. Но одновременно с этим происходит интенсивное потребление фитопланктоном солей азота, в результате чего снижается действие азотного пресса на азотфиксирующие водоросли. Однако при сравнении удельной азотфиксации водорослей указанная выше тенденция, по-видимому, действительно имеет место: значения удельной азотфиксации в олиготрофном Онежском озере были выше, чем в мезотрофных Рыбинском и Череповецком водохранилищах.

Особенно наглядно влияние связанных форм азота на интенсивность азотфиксации проявляется в илах димиктических евтрофных озер, в которых интенсивность восстановления молекулярного азота гораздо ниже, чем в илах полимиктических евтрофных озер (Кузнецов и др., 1985). В полимиктических озерах благодаря постоянному перемешиванию воды до дна в илах не происходит накопления связанного азота. Можно предположить, что и в меромиктических, постоянно стратифицированных водоемах, отрицательное действие связанного азота на азотфиксацию проявляется в такой же степени, как и в димиктических водоемах. Однако вследствие больших глубин в меромиктических водоемах минерализация органических веществ и использование ее продуктов происходит непосредственно в толще воды (Кузнецов, 1970). Поэтому в илах этих водоемов не происходит интенсивного накопления азота, а величины азотфиксации здесь близки к таковым в полимиктических озерах мезотрофного типа (Саралов, 1979).

Важной экологической нишей для развития азотфиксирующих водорослей является литораль водоемов, где на глубине 1—1.5 м макрофиты интенсивно обрастают колониями синезелеными водорослями из рода *Gloetrichia*. В этой зоне при массовом их развитии азотфиксация в Угличском и Ивановском водохранилищах достигает 138 кг N / га за сезон (июнь—октябрь), что превосходит рекордные значения ее в полимиктическом евтрофном оз. Доткас (Саралов, 1978), и она сравнима с таковой у водного папоротника *Azolla* (Greenland, 1981).

В высокоширотных регионах накопление азота за счет азотфиксации водорослями имеет преимущественное значение по сравнению с другими источниками поступления азота в эти экосистемы.

В высокоширотных водоемах в обрастании мхов развиваются преимущественно водоросли из рода *Nostoc*. При этом интенсивность азотфиксации достигает также большой величины — до 17.5 мг N / (м² · сут).

Далее следует отметить, что источники поступления в водоем фиксированного азота не ограничиваются вышеуказанными экологическими нишами. Сюда же следует отнести гетеротрофную азотфиксацию в процессе разложения отмершей растительности. При этом интенсивность азотфиксации в среднем может достигать 50 мкг N / (г · сут).

Важное значение имеет также азотфиксация у синезеленых водорослей и бактерий, обрастающих неорганические субстраты — камни, сваи, железобетонные сооружения и т. д., которая, например, в обрастаниях верхневолжских шлюзов составила (с мая по октябрь) в среднем 0.5 мг N / (м² · сут).

Интенсивная азотфиксация наблюдается на дне литорали до глубины 1 м, где развиваются синезеленые гетероцистные виды водорослей из родов *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Stratonostoc*, *Ablabaena* и др. В этой зоне при оптимальных световых и температурных условиях интенсивность азотфиксации может достигать значительных величин — до 600 мкг N / (л · сут).

Имеется несколько путей использования азота, фиксированного синезелеными водорослями. Это, во-первых, его непосредственное усвоение (кроме самих азотфиксаторов) в симбиотических ассоциациях (лишайники, саговники, печеночники, папоротники, листостебельные мхи), у которых в качестве фикобионта функционируют азотфиксирующие водоросли. По-видимому, у синезеленых водорослей со стороны растения-хозяина, или микобионта, осуществляется активный контроль азотного метаболизма.

С одной стороны, непосредственное усвоение неазотфиксирующими водорослями фиксированного азота также имеет место летом в различных водоемах при развитии азотфиксирующих водорослей, когда они интенсивно выделяют азот в воду.

С другой стороны, азот, фиксированный синезелеными водорослями, может усваиваться другими организмами по следующим цепям.

1. Водоросли → нехищные и растительоядные рыбы
зоопланктон
2. Водоросли → зообентос → рыбы
простейшие
3. Водоросли → минерализация → неазотфиксирующие
водоросли →
зоопланктон
зообентос → рыбы
4. Водоросли → минерализация → макрофиты

Таким образом, фиксированный синезелеными водорослями азот в водоемах в итоге оказывает влияние на различные трофические звенья и существенно определяет рыбопродуктивность в водоемах (Лякнович, Просяник, 1965; Ногне, 1978).

В различных почвах также интенсивно развиваются азотфиксирующие водоросли, которые после минерализации служат в качестве азотного удобрения и тем самым положительно влияют на урожай полезных растений (Панкратова, 1973; Калининская, Миллер, 1977; Метейко, 1980). Например, за счет азотфиксации урожай риса может поддерживаться на уровне 2 т / (га · год) без всякого внесения азотных удобрений (Сваминатан, 1984).

Необходимо расширение изучения физиологии азотфиксации у разных по биологии и экологии синезеленых водорослей. Это позволит выявить среди них наиболее активных азотфиксаторов, что может иметь практическое значение при промышленном получении аммиака в результате фотоассимиляции атмосферного азота. Необходимо также исследование механизма взаимодействия между различными растениями и синезелеными водорослями, например у мхов и макрофитов. По-видимому, у этих растений с водорослями существует тесная связь (о чем свидетельствуют электронные фотографии), позволяющая им взаимнообразно использовать продукты метаболизма. Результаты этих исследований позволят в будущем более эффективно решить важную проблему создания систем «полезное растение — азотфиксирующие водоросли» (Корженевская и др., 1984).

И наконец, в плане исследования экологии азотфиксации в различных экосистемах существует много белых пятен. У нас в стране закономерности азотфиксации и ее значение изучены лишь в некоторых водоемах и почвах. Не исследованы многие уникальные экосистемы, такие как Байкал, Каспийское море и т. д. Здесь исследователя ждет много нового в отношении разнообразия азотфиксирующих микроорганизмов, экологических ниш азотфиксаторов и т. д.

Практически отсутствует исследование интенсивности и значения азотфиксации у лишайников.

Изучение экологических аспектов азотфиксации позволит с большей полнотой оценить вклад азотфиксации в бюджет азота в различных местообитаниях, что в конечном итоге позволит эффективно регулировать потенциальное плодородие водных и наземных экосистем.

ЛИТЕРАТУРА

- Александрова Д. Н. Бактериопланктон и микрофлора донных отложений Онежского озера. — В кн.: Микробиология и первичная продукция Онежского озера. Л., 1973, с. 5—83.
- Аникушина Л. А., Аникушин Н. Ф., Костьев В. Я., Сигарева Л. Е. Влияние железа на зеленые и синезеленые азотфиксирующие водоросли. — В кн.: Физиология, морфология и систематика водных организмов. М.; Л., 1976, с. 280—296.
- Аникушина Л. А., Аникушин Н. Ф., Костьев В. Я., Ягодка С. Н. Влияние солей тяжелых металлов на размножение пигментный комплекс, азотфиксацию и ультраструктуру синезеленой водоросли *Anabaena spirades*. — В кн.: Биология, морфология и систематика низших организмов. М.; Л., 1978, с. 122—131.
- Балоев М. Я. Действие сани на структурные и функциональные показатели природных сообществ фитопланктона Рижского залива. — В кн.: Экспериментальная токсикология. Рига, 1982, № 8, с. 33—50.
- Барашков Г. К. Сравнительная биохимия водорослей. М., 1972, с. 335—340.
- Брагинский Л. П., Береза В. Д., Величко М. М., Гринь В. Г., Гусынская С. Л., Денисова А. И., Литвякова М. А., Сысueva-Антилчуз А. Ф. «Пятна цветения», нагоные массы, выбросы синезеленых водорослей и происходящие в них биологические процессы — В кн.: Цветение воды. Киев, 1986, вып. 1, с. 61—91.
- Былавицкая А. А. Оценка литрогенных источников и некоторых антропогенных процессов при изучении круговорота фосфора в водохранилищах. — В кн.: Круговорот веществ и биологическое самоочищение водоемов. Киев, 1980, с. 13—18.
- Вавилов П. Задачи сельскохозяйственной науки в реализации продовольственной программы. — Коммунист, 1983, № 9, с. 73—85.
- Вайнштейн Е. А. Некоторые вопросы физиологии лишайников. III. Минеральное питание. — Ботан. журн., 1982, т. 67, № 5, с. 561—571.
- Васильев В. Е., Левитин М. Г. Влияние углекислотного голодания на некоторые синезеленые водоросли — Физиология растений, 1974, т. 21, вып. 6, с. 1207—1211.
- Вахрушев А. С. К методике определения азотфиксации синезеленых водорослей в полевых условиях. — В кн.: Методы изучения и практическое использование почвенных водорослей. Киров, 1972, с. 91—97.
- Вахрушев А. С. Определение азотфиксации синезеленых водорослей с помощью ^{15}N . Автореф. дис. канд. биол. наук. Киров, 1974, 25 с.
- Власова Т. А. Гидробиологические и гидрохимические условия биологического продуцирования в озерах Харьбейской системы. — В кн.: Продуктивность озер восточной части Большеземельской тундры. Л., 1976, с. 6—26.
- Гарабова Л. В., Дундин Ю. К., Коптцева Т. Ф., Филин В. Р. Водоросли, лишайники и миксообразные СССР. М., 1978, 366 с.
- Гендель П. А., Прохорова Н. Д. Физиология анабиоза при высыхании у некоторых водорослей, лишайников и мхов. — Методы изучения и практического использования почвенных водорослей. Киров, 1972, с. 106—113.
- Гецен М. В. Фитопланктон тундровых озер Харьбейской системы. — В кн.: Продуктивность озер восточной части Большеземельской тундры. Л., 1976, с. 33—35.

- Гегем М. В. Водоросли в экосистемах Крайнего Севера. Л., 1985. 165 с.
(Gogotov I. N. Hydrogen metabolism and nitrogen fixation in phototrophic bacteria. — In: Abstracts of Simp on procariotic photosynthetic organisms Freiburg, 1973, p. 118—125)
- Горбунова Н. П., Эмюг Дыг Тьен. Влияние концентрации азота в среде на образование гетероцист у некоторых синезеленых водорослей. — Науч. докл. Высш. школы. Биол. науки. 1970, № 3, с. 86—90.
- Горленко В. М., Дубинина Г. А., Кузнецов С. Н. Экология водных микроорганизмов М., 1977. 287 с.
- Горшова С. В. Исследование действия цинка, кобальта и кадмия на зеленые протококковые водоросли: Автореф. дис. . . канд. биол. наук. М., 1980. 20 с.
- Горшова С. В., Максимов В. Н., Паскалов С. Е. Поглощение и выведение тяжелых металлов микроводорослями в зависимости от их физиологического состояния. — Науч. докл. Высш. школы. Биол. науки, 1984, № 2, с. 67—72.
- Горшова С. В., Масудов Т. У. Потребность в кобальте у некоторых азотфиксирующих синезеленых водорослей. — Микробиология, 1971, т. 40, № 2, с. 297—304.
- Горшова С. В., Ржанова Г. Н., Ораевский В. К. Синезеленые водоросли. М., 1980. 229 с.
- Гусев М. В., Никитина К. А. Цианобактерии. М., 1979. 228 с.
- Гусев К. А. Фитопланктон Рыбинского водохранилища (сезонная динамика и распределение его основных групп). — Тр. биол. ст. «Борок», 1955, с. 10—18.
- Гусев К. А. Мутность и цветность воды Рыбинского водохранилища как химические факторы в развитии фитопланктона. — В кн.: Растительность водных водохранилищ. М.: Л., 1966, с. 64—77.
- Денисова А. И., Майстренко Ю. Г. Роль синезеленых водорослей в формировании гидробиологического режима Каховского водохранилища. — В кн.: Экология и физиология синезеленых водорослей. М., Л., 1965, с. 95—100.
- Довбин Н. В. Фитомасса гидрофильной растительности волжских водохранилищ. — В кн.: Флора и растительность водоемов бассейна Верхней Волги. Рыбинск, 1979, с. 155—167.
- Егоров В. И., Калининская Т. А., Миллер Ю. М. Несимбиотическая фиксация азота в подзолистых почвах Кольского полуострова. — Микробиология, 1978, т. 47, № 5, с. 854—859.
- Егоров С. Н., Крашенинников И. А., Короленко М. И., Корсаков М. Н. Воздействие кадмия и цинка на некоторые физиолого-биохимические параметры фитопланктона Балтийского моря. — Биол. науки, 1985, № 7, с. 52—55.
- Инсарова И. Д. Влияние тяжелых металлов на лишайники. В кн.: Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Л., 1983, т. II, с. 101—112.
- Калининская Т. А., Миллер Ю. М. Использование растениями риса азотсодержащих соединений, образованных синезелеными водорослями в результате фиксации молекулярного азота. — В кн.: Развитие и значение водорослей в почвах Нечерноземной зоны. Пермь, 1977, с. 56—58.
- Калининская Т. А., Панкратова Е. М., Ходякова В. Ф. Усвоение молекулярного азота цианобактериями, не образующими гетероцист. Микробиология, 1981, т. 50, № 3, с. 550—555.
- Калининская Т. А., Петрова А. И., Нелидов С. Н., Миллер Ю. М., Белов Ю. М. Фиксация азота в заселенных таежных почвах Казахстана. занятых посевами риса. — Микробиология, 1980, т. 49, № 5, с. 747—753.
- Kondratieva E. N. (Кондратьева Е. Н.) Interrelation between modes of carbon assimilation and energy production in phototrophic purple and green bacteria. In: Microbial Biochemistry / Ed. J. R. Quayle. Baltimore, 1979, p. 117.
- Кондратьева Е. Н., Гоготов И. Н. Молекулярный водород в метаболизме микроорганизмов. М., 1981. 342 с.
- Кондратьева Н. В. О недопустимости подчинения номенклатуры синезеленых водорослей (*Cyanophyta*) действию международного кодекса номенклатуры бактерий. — Ботан. журн., 1981, т. 66, № 2, с. 215—225.

- Корженевская Т. Г., Пивоварова Л. В., Баулина О. М., Бутенко Р. Г., Гусев М. В. Ассоциация растений регенерантов с азотфиксирующими цианобактериями. Докл. АН СССР, 1984, т. 274, № 4, с. 1016—1019.
- Костев В. Я. Условия фиксации молекулярного азота синезелеными водорослями. — В кн. Физиология, морфология и систематика водных организмов М., Л., 1978, с. 118—121.
- Костев В. Я. Фиксация молекулярного азота и фотосинтез у синезеленой водоросли *Anabaena spiroides* в длинноволновом ультрафиолетовом луче. — Докл. АН СССР, 1979, т. 248, № 4, с. 1018—1020.
- Костев В. Я. Реакция цианобактерий на некоторые тяжелые металлы. — Микробиология, 1980а, т. 49, № 5, с. 821—824.
- Костев В. Я. Фиксация молекулярного азота и фотосинтез у цианобактерий в красном свете. — Микробиология, 1980б, т. 49, № 1, с. 349—351.
- Костев В. Я. Фиксация молекулярного азота колоннальной синезеленой водорослью *Nostoc zetterstedtii* Aresch. — Физиология растений, 1981, т. 27, № 1, с. 210—212.
- Костев В. Я. Фиксация молекулярного азота эпифитным комплексом водных растений озер Латвии. — Микробиология, 1982, т. 51, № 6, с. 1015—1018.
- Костев В. Я. Определение интенсивности фиксации молекулярного азота в водоемах в присутствии высших водных растений. — Гидробиол. журн., 1983, т. 19, № 2, с. 92—94.
- Костев В. Я. Фиксация молекулярного азота эпифитным комплексом пресноводных макрофитов. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1984, № 1, с. 117—123.
- Костев В. Я., Бакулина А. Г. Фиксация молекулярного азота синезелеными водорослями в некоторых водоемах. — В кн.: Круговорот веществ и биологическое самоочищение водоемов. Киев, 1980, с. 117—121.
- Костев В. Я., Милько А. А., Извекова Г. И. О способности грибов фиксировать молекулярный азот. — Микробиология, 1983, т. 52, № 4, с. 667—668.
- Костев В. Я., Мавеева Н. М., Разгулин С. М., Сметанов М. М. Связь фиксации молекулярного азота с фотосинтезом фитопланктона и с некоторыми экологическими факторами в Рыбинском водохранилище. — Микробиология, 1985, т. 54, № 3, с. 484—489.
- Костев В. Я., Ягодца С. Н. Фотосинтез водорослей в ультрафиолетовом свете. — Докл. АН СССР, 1977, т. 237, № 3, с. 743—745.
- Костев В. Я., Ягодца С. Н. Фиксация молекулярного азота синезелеными водорослями в водных водохранилищах, и влияние биогенных элементов на ее интенсивность. — В кн.: Круговорот веществ и биологическое самоочищение водоемов. Киев, 1980, с. 109—116.
- Котельева С. И. Гидрохимический режим водоемов в условиях подотгрева. — Гидробиол. журн., 1977, т. 13, № 3, с. 100—111.
- Кротович В. Л. Молекулярные механизмы биологической фиксации азота. — Вестн. АН СССР, 1979, т. 7, с. 23—32.
- Кузнецов С. И. Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность. Л., 1979. 440 с.
- Кузнецов С. И., Романченко В. И., Кузнецова Н. С., Бакулина А. Г. Характеристика микробиологических процессов круговорота органических веществ в Рыбинском водохранилище в 1971 г. — В кн.: Флора, фауна и микроорганизмы Волги. Л., 1974, с. 5—18.
- Кузнецов С. И., Саралов А. И., Назина Т. И. Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. М., 1986. 211 с.
- Куца Э. Г. О проблемах экологии и географического распределения синезеленых водорослей. — В кн.: Биология синезеленых водорослей. М., 1989, вып. 2, с. 9—20.
- Львов Н. П., Сергеев Н. С., Кротович В. Л. Регуляция биосинтеза нитрогеназы у микроорганизмов. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1978, № 1, с. 33—43.
- Лыбинов В. И. Биология фиксации молекулярного азота. М., 1980. 167 с.
- Лыбинов В. П., Просвири Л. В. Развитие синезеленых водорослей в прудах Белорусской ССР. — В кн.: Экология и физиология синезеленых водорослей. М., Л., 1983, с. 139—143.
- Морехина А. И. Об источниках углерода при автотрофном питании синезеленых водорослей. — В кн.: Цветение воды. Киев, 1986, вып. 1, с. 187—196.

- Метейко Т. Я. Использование азотфиксирующих синезеленых водорослей в рискеении — В кн.: *Круговорот веществ и биологическое самоочищение водоемов*. Киев, 1980, с. 135—142.
- Мирсалимова Н. М., Ташмухамедов Б. А., Колтунов Ю. Б. Об активной аккумуляции монов клетками синезеленых водорослей. — В кн.: *Биология синезеленых водорослей*. М., 1969, т. 2, с. 175—180.
- Мишустин Е. Н. Биологический азот и его значение в сельском хозяйстве — Вестн. АН СССР, 1979а, т. 3, с. 59—68.
- Мишустин Е. Н. Круговорот азота и его соединений в природе. — В кн.: *Роль микроорганизмов в круговороте газов в природе*. М., 1979б, с. 68—91.
- Мишустин Е. Н., Калининская Т. А., Петрова А. Н. Влияние альгализации на урожай риса. — В кн.: *Повышение плодородия почв рисовых полей*. М., 1977, с. 204—222.
- Мишустин Е. Н., Кудеяров В. Н., Башкин В. Н. Круговорот азота на территории СССР. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1983, № 2, с. 165—179.
- Мишустин Е. Н., Павлюкова Е. М. Свободноживущие микроорганизмы почвы СССР. — В кн.: *Тр. X Междунар. конгр. почвоведов*. М., 1974, т. 9, с. 174—179.
- Мишустин Е. Н., Шальникова В. К. Биологическая фиксация атмосферного азота М., 1980. 531 с.
- Молекулярные механизмы усвоения азота растениями. М., 1983. 264 с.
- Накава Д. В., Корсаж М. Н. Действие цинка, хрома и кадмия на интенсивность фотосинтеза в краткосрочных экспериментах — Науч. докл. высш. школы. Биол. науки, 1978, № 9, с. 84—86.
- Народное хозяйство СССР в 1980 г. М., 1981, с. 7.
- Никитин Д. Н. Роль микроорганизмов в образовании и удалении углекислого газа. — В кн.: *Роль микроорганизмов в круговороте газов в природе*. М., 1979, с. 68—91.
- Носов В. Н., Гельфанд Е. С. Влияние кадмия, цинка и хрома на численность основных групп фитопланктона — В кн.: *Человек и биосфера*. М., 1982, вып. 6, с. 166—177.
- Павлюкова Е. М. Фиксация атмосферного азота синезелеными водорослями в природных условиях. — Ботан. журн., 1973, т. 58, № 3, с. 360—368.
- Павлюкова Е. Н. Распространение азотфиксации среди синезеленых водорослей. — Ботан. журн., 1978, т. 60, № 4, с. 583—598.
- Павлюкова Е. Н. Участие азотфиксирующих водорослей в накоплении азота в почве. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1979, № 2, с. 188—197.
- Павлюкова Е. М. Размеры азотфиксирующей деятельности синезеленых водорослей (цианобактерий) в зависимости от внесения азотных удобрений — В кн.: *Экологические последствия применения агрохимикатов: удобрений*. Тез. докл. Пушкино, 1982, с. 34—35.
- Патан С. А. Влияние загрязнения на биологические ресурсы и продуктивность мирового океана. М., 1979. 220 с.
- Перинова Г. И. Рост азотфиксирующих синезеленых водорослей в присутствии связанного азота. — Микробиология, 1988, т. 37, № 4, с. 668—671.
- Полухина Л. Е., Салуриская Г. Н., Шестаков С. В. Устойчивые и этилендиаминные мутанты *Anabaena variabilis* с дерепрессированной системой азотфиксации. — Микробиология, 1982, т. 51, № 1, с. 90—95.
- Помалуйко В. П. Влияние фосфора на продуктивность водорослей рода *Microcystis*. — В кн.: *Цветение воды*. Киев, 1980, вып. 2, с. 89—96.
- Правила охраны поверхностных вод от загрязнения сточными водами. М., 1976. 105 с.
- Проблемы фиксации азота. М., 1982. 505 с.
- Пшенин Л. И. Биология морских азотфиксаторов. Киев, 1980. 266 с.
- Пырева И. Л. Зависимость фотосинтеза фитопланктона от его биомассы и содержания хлорофилла. — В кн.: *Биология и продуктивность пресноводных организмов*. Л., 1987, с. 56—65.
- Пырева И. Л., Трифонова Н. А. Исследование продуктивности фитопланктона Ладожского озера. — Гидробиол. журн., 1979, т. 15, № 4, с. 26—31.
- Романовская В. А., Лидаченко Е. С., Соколов Н. Г., Малащенко Ю. Р. Фиксация молекулярного азота метаноиспользующими бактериями — Микробиол. журн., 1980, т. 42, № 6, с. 683—688.

- Садиков Б. Ф., Зусева Л. Д., Садикова Н. Ю. Оценка продуктивности симбиотической азотфиксации ацетиленовым методом. — Микробиология, 1983, т. 52, № 4, с. 658—662.
- Саралов А. И. Определение фиксации молекулярного азота в водной толще с помощью ацетиленового метода. — В кн.: Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1978, № 25, с. 44—46.
- Саралов А. И. Динамика фиксации молекулярного азота в интродуцируемом оз. Доткас. — В кн.: Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1977, № 35, с. 65—68.
- Саралов А. И. Фиксация молекулярного азота в Рыбинском водохранилище. — Гидробиол. журн., 1978, т. 14, № 5, с. 33—38.
- Саралов А. И. Фиксация молекулярного азота в озерах разных типов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук, М., 1979, 25 с.
- Саралов А. И., Даушита А. С. Фиксация молекулярного азота в озерах Латвийской ССР. — Гидробиол. журн., 1978, т. 24, № 6, с. 7—13.
- Саралов А. И., Костяев В. Я. Интенсивность фиксации молекулярного азота синезелеными водорослями и бактериями. — В кн.: Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1974, № 23, с. 13—16.
- Саралов А. И., Костяев В. Я. Действие света на фиксацию молекулярного азота синезеленой водорослью *Nanatosiphon fontinalis*. — В кн.: Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1975, № 25, с. 15—17.
- Саралов А. И., Крылова Н. Н., Бабаля Ж. К. Интенсивность фиксации молекулярного азота, нитрификация и денитрификация в водной толще и грунтовой высокогорного озера Севан. — В кн.: Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1983, № 59, с. 9—12.
- Сваминатан М. С. Рис. — В мире науки, 1984, № 3, с. 4—15.
- Седова Т. В., Гаагсбах М. М. К вопросу соотношения синезеленых водорослей и бактерий в системе растительного мира. — В кн.: Развитие и значение водорослей в почвах Нечерноземной зоны. Пермь, 1977, с. 143—144.
- Серебряк Л. А. Физиологические основы размножения синезеленых водорослей в водохранилищах. Киев, 1972, 204 с.
- Сироткин Н. В., Корсаж М. И. Влияние добавок цинка и хрома на развитие фитопланктона в модельных водоемах. — В кн.: Человек и биосфера. М., 1982, вып. 6, с. 136—142.
- Смирнова М. И., Ратушная М. Я., Кавцелавиц Р. М., Жарова Л. Г. Изучение роста и азотфиксации некоторых термофильных синезеленых водорослей. — В кн.: Управляемый биосинтез. М., 1986, с. 10—15.
- Слуис Э. Д. Высшая растительность озер Видземской возвышенности. — В кн.: Гидробиология и патология внутренних водоемов Прибалтики. Рига, 1983, с. 183—188.
- Судыма Е. Г., Шинкова Е. И., Костяев В. Я., Мушкетер П. А., Тулик Н. Д. Биохимия синезеленых водорослей. Киев, 1978, 262 с.
- Таха М. С. Значение света для роста некоторых синезеленых водорослей и фиксации ими азота. — Физиология растений, 1964, т. 11, № 3, с. 424—431.
- Трифопова Н. А. Источники поступления и распределение соединений азота в Рыбинском водохранилище. — В кн.: Крутооборот веществ и биологическое самоочищение водоемов. Киев, 1980, с. 5—13.
- Трифопова Н. А., Былинкина А. А. О влиянии донных отложений на содержание биогенных элементов в воде. — В кн.: Гидрологические и гидрохимические аспекты изучения водохранилищ. Боров., 1977, с. 74—90.
- Трухин Н. В. Оптимальные значения pH для роста некоторых синезеленых водорослей. — В кн.: Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1980, № 6, с. 7—10.
- Тучкович В. М. Вестник АН СССР, 1979, № 3, с. 131—133 (дискуссия).
- Тыртиков А. П. Фотосинтез арктических растений. — Бюл. МОИП Отд. биол., 1983, т. 88, вып. 1, с. 133—142.
- Удальцова Т. М., Пумева М. А., Лантенова Н. В., Карякин А. В. Содержание некоторых поливалентных металлов в синезеленых водорослях. — Микробиология, 1974, т. 51, № 1, с. 90—95.
- Улит В. В. Микро- и макроэлементы в оптимизации минерального питания микробов водорослей. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Киев, 1985, 40 с.
- Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. М., 1948, 400 с.

- Феостисова О. И. Определение оптимальных условий длины дня и интенсивности света для роста и накопления азота азотфиксирующими синезелеными водорослями. — В кн.: Биологический азот и его роль в земледелии. М., 1967, с. 317—325.
- Холцова В. М., Павиратова Е. М. Влияние микроаэрофильных условий на выживаемость и фиксацию азота некоторыми синезелеными водорослями. — В кн.: Развитие и значение водорослей в почве Нечерноземной зоны Пермь, 1977, с. 118—121.
- Цесб Я. Я., Чугунов Ю. А. Исследования по антропогенному евтрофированию пресных водоемов в СССР. — В кн.: Круговорот веществ и биологическое самоочищение водоемов. Киев, 1980, с. 39—53.
- Шавырина О. Б., Гапочка Л. Д. Влияние некоторых тяжелых металлов на рост культуры синезеленой водоросли *Synechocysts aquatilis*. — Науч. докл. Высш. школы Биол. науки, 1983, № 11, с. 55—58.
- Шапаро И. А. Влияние экологических факторов на ферменты азотного обмена у лишайников. — Экология, 1979, № 6, с. 82—85.
- Штина Э. А. Некоторые закономерности распространения синезеленых водорослей в почвах. — В кн.: Биология синезеленых водорослей. М., 1969, вып. 2, с. 21—40.
- Эзерцев В. А. Высшая водная растительность. — В кн.: Ивановское водохранилище и его жизнь. Л., 1978, с. 125—158.
- Antaricanonda P., Lorenzen H. N₂-fixing blue-green algae (cyanobacteria) of high efficiency from paddy soils of Bangkok, Thailand. Characterization of species and N₂-fixing capacity in the laboratory. — Arch. Hydrobiol., 1982, vol. 63, N 1, p. 53—70.
- Barlett L., Rabe F. W. Effects of copper, zinc and cadmium on *Selenastrum capricornutum*. — Water. Res., 1974, vol. 8, N 3, p. 65—73.
- (Barris R.) Беррис Р. Ингибирование нитрогеназы. — В кн.: Проблемы фиксации азота. М., 1982, с. 504—531.
- Bergey's. Manual of determinative bacteriology. 1974. 8-th / Eds R. E. Buchanan, N. E. Gibbons. Baltimore. 1974. 1268 p.
- Billaud V. A. Nitrogen fixation and utilization of other inorganic nitrogen sources in a subarctic lake. — J. Fish. Res. Board Canada, 1968, vol. 25, p. 2101—2110.
- Bone D. H. The influence of canavanine, oxygen and urea on the steady state levels of nitrogenase in *Anabaena flos-aquae*. — Arch. Microbiol., 1972, vol. 86, N 1, p. 13—24.
- Bothe H., Distler E., Elsbrenner G. Hydrogen metabolism in bluegreen alga. *Anabaena cylindrica*. — Biochimie, 1978, vol. 60, p. 227—240.
- Bothe H., Loos E. Effect of far red light and inhibitors on nitrogen fixation and photosynthesis in blue-green algae *Anabaena cylindrica*. — Arch. Microbiol., 1972, vol. 86, N 3, p. 241—254.
- Bothe H., Tennigkeit J., Elsbrenner G., Yates M. G. The Hydrogenase- nitrogenase relationship in the blue-green alga *Anabaena cylindrica*. — Planta, 1977, vol. 133, N 3, p. 237—242.
- Bottomley P. J., Stewart W. D. P. ATP pools and transients in the blue-green alga. *Anabaena cylindrica*. — Arch. Microbiol., 1978, vol. 108, N 3, p. 249—258.
- Bottomley P. J., Stewart W. D. P. ATP and nitrogenase activity in nitrogen-fixing heterocystous blue-green algae. — New Phytol., 1977, vol. 79, N 3, p. 625—638.
- Bourrelly P. Les cyanophytes algues on bacteria. — Rev. algol., 1979, vol. 14, N 1, p. 5—9.
- Brazonik P. L., Lee G. F. Denitrification as a nitrogen sink in lake Mendota, Wisconsin. — Environ. Sci., Technol., 1968, vol. 2, p. 120—125.
- Brock T. D. Lower pH limit for the existence of blue-green algae: evolutionary and ecological implications. — Science, 1973, vol. 179, N 4072, p. 480—483.
- Brown D. H., Beckett R. P. Differential sensitivity of lichens to heavy metals. — Ann. Bot., 1983, vol. 52, N 1, p. 51—57.
- Burns R. C., Hardy R. W. F. Nitrogen fixation in bacteria and higher plants. New York, 1978. 189 p.

- Burris R. H. Nitrogen fixation-assay Methods and Techniques. — In: Methods in enzymology. New York, 1972, vol. 24B, p. 415—431.
- Burris R. H. Nitrogen fixation by blue-green algae of the Lizard Island area of the Great Barrier Reef. — Austral. J. Plant Physiol., 1970, vol. 3, N 1, p. 41—51.
- Burris R. H., Epping F. I., Wahlen H. B., Wilson P. W. Studies of biological nitrogen fixation with isotopic nitrogen. — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1942, vol. 7, p. 258—262.
- Cadmium in the Environment. New York, 1980, pt. 1, 682 p.
- Calhoun J. A method for the estimation of penetration of biologically injurious solar ultraviolet radiation into natural waters. — In: Role Solar Ultraviolet Radiat. Mar. Ecosyst. Proc. NATO Conf., Copenhagen, 28—31 July, 1980. New York, London, 1982, p. 247—261.
- Carpenter E. J. Nitrogen fixation by a blue-green algae Epiphyte on Pelagic Sargassum. — Science, 1972, vol. 178, N 4066, p. 1207—1209.
- Codd G. A., Okabe K., Stewart W. D. P. Cellular compartmentation of photosynthetic and photorespiratory enzymes in the heterocystous cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. — Arch. Microbiol., 1980, vol. 124, N 2—3, p. 149—155.
- Copper in the Environment. New York, 1970, pt. 1, 2, 600 p.
- Conson D. S., Kershaw K. A. Rehydration response of nitrogenase activity and carbon fixation in terrestrial *Nostoc commune* from Stipa-Bouteloua grassland. — Canad. J. Bot., 1983, vol. 61, N 10, p. 2658—2668.
- Dahm C. N., Baross T. A., Ward A. K. Initial effects of the mount St. Helens eruption on nitrogen cycle and related chemical processes in Ryan Lake. — Appl. Environ. Microbiol., 1983, vol. 45, N 5, p. 1633—1645.
- Dalton H. Utilization of inorganic nitrogen by microbial cells. — In: Microbial Biochemistry. Univ. Park Press, 1970, p. 227—236.
- Dalton H., Whittenbury R. The Acetylene reduction technique as an assay for the nitrogenase activity in methane oxidizing bacterium *Methylococcus capsulatus* strain Bath. — Arch. Microbiol., 1970, vol. 109, N 1—2, p. 147—151.
- Davey A. Effects of abiotic factors on nitrogen fixation by bluegreen algae in Antarctica. — Polar Biol., 1983, vol. 2, N 2, p. 95—100.
- David K. A. V., Fay P. Effects of long-term treatment with acetylene on nitrogen-fixing microorganisms. — Appl. Environ. Microbiol., 1977, vol. 34, N 6, p. 640—646.
- De Bont I. A. M. Oxidation of ethylene by bacteria. — Ann. Appl. Biol., 1975, vol. 81, p. 119—121.
- Delwiche C. C. The nitrogen cycle. — Sci. Amer., 1970, vol. 223, N 3, p. 137—145.
- Drewes K. Über die Assimilation des Luftstickstoffs durch Blaualgen. — Zentr.-Bl. Bacteriol., Parasitenk., Infektionskrankh., Hyg. Abt. II, 1922, Bd 76, N 1/7, S. 82—101.
- Dubois J. D., Kapostka L. A. Freeze-recovery physiology of nitrogenase activity in Terrestrial *Nostoc* sp. colonies. — Appl. Environ. Microbiol., 1983, vol. 46, N 4, p. 773—778.
- Dugdale R. C., Dugdale V. A., Neess J., Goring J. Nitrogen fixation in lakes. — Science, 1959, vol. 130, N 3379, p. 859—860.
- Elsbrenner G., Kalbe J., Bothe H. Hydrogen metabolism and nitrogen fixation in cyanobacteria. — In: III Intern. Symp. on Photosynthetic Procaroyotes. Oxford, 1970, vol. 12, 320 p.
- England B. Effects of environmental factors on acetylene reduction by intact thallus and excised cephalodia of *Peltigera aphthosa* Willd. — Bull. Ecol. Res. Comm. Nat. Sci. Res., 1977, N 26, p. 50—62.
- England B., Meyerson H. In situ measurement of nitrogen fixation of low temperatures. — Oikos, 1974, vol. 25, N 3, p. 283—287.
- Evans H. J., Emerich D. U., Ruiz-Argüeso T., Albrecht S. L., Maher R. L., Simpson F., Russel S. H. Hydrogen metabolism in legume nodules and rhizobia: some recent developments. — In: Hydrogenases: Their Catalytic Activity, Structure and Function. Gottingen, 1978, 287 p.
- Fay P. Factors influencing dark nitrogen fixation in a blue-green alga. — Appl. Environ. Microbiol., 1978, vol. 31, N 3, p. 376—379.
- Fay P., Kulassorhya S. A. Tetrazolium reduction and nitrogenase activity in heterocystous blue-green algae. — Arch. Microbiol., 1972, vol. 87, N 4, p. 341—352.

- Fay P., Stewart W. D. P., Fogg G. E., Walsby A. E. In the heterocysts the site of nitrogen fixation in blue-green algae. — *Nature. New Biol.*, 1968, vol. 220, N 6169, p. 810—812.
- Flaenmeier S., Spillier H. Dependence of nitrogen fixation on the carbon source in the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. — In: 5 th Intern. Congr. Photosynth. Abst., Halkidiki, 1980, S. 1—10.
- Fluke L. R., Leeley H. W., jr Nitrogen fixation (acetylene reduction) by epiphytes of freshwater macrophytes. — *Appl. Environ. Microbiol.*, 1978, vol. 36, N 1, p. 129—138.
- (Finneran J. A., Saurron T. A.) Финнеран Д. А., Чапов Т. А. Экономия производства и потребления аммиака. — В кн.: Проблемы фиксации азота. М., 1982, с. 294—310.
- Flett R. J., Hamilton R. D., Campbell M. B. Aquatic acetylene reduction Techniques to several problems. — *Canad. J. Microbiol.*, 1976, vol. 22, N 1, p. 45—51.
- Fogg G. E. The extracellular products of algae. — *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 1968, vol. 4, p. 195—215.
- Fogg G. E. Nitrogen fixation in lakes. — In: *Plant and Soil*. London, 1971, spec. vol., p. 393—401.
- Fogg G. E., Pattinall H. The release extracellular nitrogenous products by *Westiellopsis prolifica* Janet. — *Phykos*, 1960, vol. 5, N 1—2, p. 58—67.
- Fogg G. E., Stewart W. D. P. In situ determinations of biological nitrogen fixation in Antarctica. — *Brit. Antarct. Surv. Bull.*, 1968, N 15, p. 39—46.
- Fogg G. E., Than-Tun. Interrelations of photosynthesis and assimilation of elementary nitrogen in a blue-green algae. — *Proc. Roy. Soc. London (B)*, 1960, vol. 153, N 950, p. 111—127.
- Frank B. Untersuchungen über die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff und über den Kreislauf desselben in der Landwirtschaft. — *Landwirtschaftl. Jahrb.*, 1888, N 17, S. 13—20.
- Friedman E. J., Borowitzka L. J. The symposium on taxonomic concepts in blue-green algae: towards a compromise with the bacteriological code? — *Taxon*, 1982, vol. 31, N 4, p. 673—683.
- Gallon J. R., Hamadi A. F. Studies on the effects of oxygen on acetylene reduction (nitrogen fixation) in *Gloeotheca* sp. ATCC 27152. — *J. Gen. Microbiol.*, 1964, vol. 130, N 3, p. 495—503.
- Gant G. G., Horne A. J. Diurnal Stratification, Photosynthesis and Nitrogen Fixation in a Shallow, Equatorial Lake (Lake George, Uganda). — *Freshwater Biol.*, 1975, vol. 5, p. 13—20.
- Gardner I. C., Scott A. The effect of altered habitat on nitrogen metabolism in some free-living and symbiotic relationships involving nitrogen fixing organisms. — *Chem. Ecol.*, 1982, vol. 1, N 1, p. 47—55.
- Gettler L. Einige kritische Bemerkungen zu neuen zusammenfassenden Darstellungen der Morphologie und Systematik der *Cyanophyceen*. — *Plant Syst. Ecol.*, 1970, Bd 132, N 1—2, S. 153—160.
- Goffman H. L. Physiological Limnology. An approach to the physiology of the Lake ecosystems. Amsterdam, Oxford, New York, 1975. 220 p.
- Granhall U. Acetylene reduction by blue-green algae isolated from swedish soils. — *Oikos*, 1970, vol. 21, N 2, p. 330—332.
- Granhall U. The presence of cellulose in heterocyst envelopes of blue-green algae and its role in relation to nitrogen fixation. — *Physiol. plant.*, 1976, vol. 38, N 3, p. 208—216.
- Granhall U., Lid-Torvik V. Nitrogen fixation by bacteria and free-living blue-green algae in lundra areas. — *Ecol. Stud.*, 1976, vol. 16, p. 305—315.
- Granhall U., Lundgren U. Nitrogen fixation in Lake Erken. — *Limnol. Oceanogr.*, 1971, vol. 16, N 15, p. 711—719.
- Granhall U., Selander H. Nitrogen fixation in a subarctic mire. — *Oikos*, 1973, vol. 24, N 1, p. 8—15.
- Green T. G. A., Horstmann J., Bonett H., Wilkinse A., Silvester W. B. Nitrogen fixation by members of the *Stictaceae* (Lichens) of New Zealand. — *New Phytol.*, 1980, vol. 84, N 2, p. 339—348.
- Greenland D. J. Nitrogen fixation in association with rice. — In: *Curr. Perspect*

- Nitrogen, Fixat. Proc. 4 Intern. Symp. Nitrogen Fixat. Canberra, 1—5 Dec., 1980. Amsterdam, 1981. p. 324—326.
- Gulke J. A., Sherman L. A. Influence of iron deprivation of the membrane composition of *Anacystis nidulans*. — *Plant Physiol.*, 1984, vol. 74, N 1, p. 90—95.
- Gutschick V. P. Energy and nitrogen fixation. — *Bio Science*, 1978, vol. 28, N 9, p. 571—575.
- Halldal P. Ultraviolet action spectra in algology. — *Photochem., Photobiol.*, 1987, vol. 6, p. 445—460.
- Hardie L. P., Balkwill D. Z., Stevens S. E. Effects of iron starvation on the physiology of the cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum*. — *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, vol. 45, N 3, p. 999—1006.
- Hardy R. W. F., Burns R. C. Comparative biochemistry of iron-sulfur proteins and dinitrogen fixation. — In: *Iron-Sulfur Proteins*. New York, 1973, p. 65—72.
- Hardy R. W. F., Holsten R. D., Jackson E. K., Burns R. C. The Acetylene-ethylene assay for nitrogen fixation: Laboratory and field evaluation. — *Plant. Physiol.*, 1968, vol. 43, p. 1185—1207.
- Head W. D., Carpenter E. J. Nitrogen fixation associated with the marine macroalgae *Codium fragile*. — *Limnol., Oceanogr.*, 1978, vol. 20, p. 815—823.
- Henriksson L. E., Desilva E. J. Effect of some inorganic elements on nitrogen-fixation in blue-green algae and some ecological aspects of pollution. — *Zeitsch. für Allgemeine Microbiol.*, 1978, Bd 18, H. 7, p. 487—494.
- Hirano M. Freshwater algae in the Antarctic regions. — In: *Biogeography and ecology in Antarctica*. London, 1965, N 15, p. 127—193.
- Hitch C. J., Millbank J. W. Nitrogen metabolism in lichens. VI: The blue-green phycobiont content, heterocyst frequency and nitrogenase activity in *Peltigera* species. — *New Phytol.*, 1975, vol. 74, N 3, p. 473—476.
- Hitch C. J. B., Stewart W. D. P. Nitrogen fixation by lichens in Scotland. — *New Phytol.*, 1973, vol. 72, N 3, p. 509—524.
- Hoare D. J., Ingram L. O., Thurston E. L., Walkup R. Dark heterotrophic growth of an endophytic blue-green algae. — *Arch. Microbiol.*, 1971, vol. 78, N 4, p. 310—321.
- Holst R. W., Yopp J. H. Environmental regulation of nitrogenase and nitrate reductase as systems of nitrogen assimilation in the *Azolla mexicana* — *Anabaena azollae* symbiosis. — *Aquat. Bot.*, 1980, vol. 7, N 4, p. 369—384.
- Horne A. J. The ecology of nitrogen fixation on Signy Island, south Orkney Islands. — *Brit. Antarct. Surv. Bull.*, 1972, N 27, p. 1—18.
- Horne A. J. Nitrogen fixation in Eutrophic lakes. — *Water Pollut. Microbiol.*, 1978, vol. 2, p. 1—28.
- Horne A. J. Nitrogen fixation in Clear lake, California. 4. Diel studies on *Aphanizomenon* and *Anabaena* blooms. — *Limnol., Oceanogr.*, 1979, vol. 24, N 2, p. 329—341.
- Horne A. J., Fogg G. E. Nitrogen fixation in some English lakes. — *Proc. Roy. Soc. London (B)*, 1970, vol. 175, N 1041, p. 351—356.
- Horne A. J., Goldman Ch. R. Nitrogen fixation in Clear lake, California. 1. Seasonal variation and the role of heterocysts. — *Limnol., Oceanogr.*, 1972, vol. 17, N 5, p. 678—692.
- Horne A. J., Sandusky J. C., Carmiggelt C. J. M. Nitrogen fixation in Clear lake, California. 3. Repetitive synoptic sampling of the spring *Aphanizomenon* blooms. — *Limnol., Oceanogr.*, 1979, vol. 24, N 2, p. 316—328.
- Horsman J. L., Denison W. C., Silvester W. B. $^{15}\text{N}_2$ -fixation and molybdenum enhancement of acetylene reduction by *Lobaria* spp. — *New Phytol.*, 1982, vol. 92, N 2, p. 535—541.
- Hugo W. B. Inhibition and destruction of the microbial cells. London; New York, 1971. 250 p.
- Huss-Danell K. Nitrogen fixation by *Stereocaulon paschale* under field conditions. — *Canad. J. Bot.*, 1977, vol. 55, N 5, p. 585—592.
- Isaahidou J., Papageorgiou G. C. The photosynthetic apparatus of vegetative and heterocystous cells of the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. — In: 5th Intern. Congr. Photosynth. Halkidiki, 1980, p. 271—280.

- Jensen B. B. Energy requirement for diazotrophic of the cyanobacterium *Anabaena variabilis* determined from growth yields in the dark -- J. Gen. Microbiol., 1983, vol. 129, N 8, p. 2633-2640.
- Jones K. Nitrogen fixation in a salt marsh -- J. Ecol., 1974, vol. 62, N 2, p. 554-566.
- Jones K. Nitrogen fixing bacteria in the canopy of conifers in a temperate forest. -- In: Microbiol. Aerial Plant Surfaces, London, 1976, p. 451-463.
- Jones K. Acetylene reduction by blue-green in Subtropical grassland. -- New Phytol., 1977a, vol. 78, N 2, p. 421-426.
- Jones K. The effects of light intensity on acetylene reduction by blue-green algal mats in Subtropical grassland -- New Phytol., 1977b, vol. 78, N 2, p. 427-431.
- Jones J. G., Simon B. M. Differences in microbial decomposition processes in profundal and littoral lake sediments, with particular reference to the nitrogen cycle. -- J. Gen. Microbiol., 1981, vol. 123, N 2, p. 297-312.
- Jones K., Wilson R. E. The take of nitrogen fixed by a free-living blue-green alga -- Ecol. Bull., 1978, N 26, p. 158-163.
- Jordan D. C., Nicol P. L., Marshall M. R. Biological nitrogen fixation in the terrestrial environment of a high arctic ecosystem Truelove Lowland, Devon Island, N.W.T. -- Canad. J. Microbiol., 1978, vol. 24, N 6, p. 643-649.
- Kale S. R., Bahal M., Talpasayi E. R. S. Heterocyst development in *Anabaena ambigua* Rac. 4 Effect of some mineral salts. -- Phykos, 1973, vol. 164, N 2, p. 163-169.
- Kallio S. The ecology of nitrogen fixation in *Stereocaulon paschale* -- Rep. Kevo Subarctic Res. Stat., 1973, vol. 10, p. 34-42.
- Kallio P. Nitrogen fixation in subarctic lichens. -- Oikos, 1974, vol. 25, N 2, p. 194-198.
- Kallio S. Studies on elemental nitrogen fixation in lichens in North Finland. Turku, 1976. 112 p.
- Kallio P., Kallio S. Adaptation of nitrogen fixation to temperature in the *Anabaena ambigua* Rao. IV Effect of some mineral salts -- Phykos, 1973, vol. 12, N 1-2, p. 11-17.
- Kallio P., Kallio S. On the adaptation of nitrogen fixation in *Peltigera aphthosa*-group. -- Ecol. Bull. (Stockholm), 1976, vol. 20, p. 25-30.
- Kallio S., Kallio R. Adaptation of nitrogen fixation to temperature in the *Peltigera aphthosa*-group. -- Ecol. Bull., 1978, N 26, p. 225-233.
- Kallio P., Suchonen S., Kallio H. The ecology of nitrogen fixation in *Nephroma arcticum* and *Solorina crocea* -- Rep. Kevo Subarctic Res. Stat., 1972, vol. 9, p. 7-14.
- Kapoor K., Sharma V. K. Micronutrients for in vitro nitrogen fixation by a blue-green alga. -- Goebius, 1979, vol. 6, N 6, p. 254-256.
- Keim M. A., Brezonik P. L., Patrick L. Nitrogen fixation by bacteria in lake Mize Florida and in some lacustrine sediments. -- Limnol., Oceanogr., 1971, vol. 16, N 5, p. 720-731.
- Kellar P. E., Paerl H. W. Physiological adaptations in response to environmental stress during an N_2 -fixing *Anabaena* bloom -- Appl. Environ. Microbiol., 1980, vol. 40, N 3, p. 587-595.
- (Kennedy I.) Кеннеди И. Включение нитрогеназы в метаболизм клетки -- В кн. Проблемы фиксации азота. М., 1982, с. 579-608.
- Kershaw K. A. Dependence of the level of nitrogenase activity on the water content of the thallus in *Peltigera canina*, *P. evansiana*, *P. polydactyla* and *P. praexelata* -- Canad. J. Bot., 1974, vol. 52, N 6, p. 1423-1427.
- Klugkist J., Haaker H. Inhibition of nitrogenase activity by ammonium chloride in *Azotobacter vinelandii* -- J. Bacteriol., 1984, vol. 157, N 1, p. 148-151.
- Knowles R. The measurement of nitrogen -- In: Curr. Perspect. Nitrogen Fixat. Proc. 4 Intern. Symp. Nitrogen Fixat. Canberra, Amsterdam, 1981, p. 327-333.
- Kulassooriya S. A., Lang N. J., Fay P. The heterocysts of blue-green algae. III. Differentiation and nitrogenase activity -- Proc. Roy. Soc. London (B), 1972, vol. 181, N 1063, p. 199-209.
- Kumar D., Jha M., Kumar H. D. Heavy metal toxicity in the cyanobacterium *Nostoc linckia*. -- Aqual. Bot., 1985, vol. 22, N 2, p. 101-105.

- Kurz W. G. W., Le Rue T. A. Nitrogenase in *Anabaena flos-aquae* filaments lacking heterocysts — *Naturwissenschaften*, 1971, Bd 58, H. 8, S. 417—425.
- Lännergren C., Lundgren A., Granhall I. Acetylene reduction and primary production in lake Erken — *Oikos*, 1974, vol. 25, N 4, p. 465—470.
- Leonardson L. Effects of concentrating phytoplankton on the acetylene reduction assay for nitrogenase activity — *Freshwater Biol.*, 1983, vol. 13, N 3, p. 265—274.
- Lex M., Silvester W. B., Stewart W. D. P. Photorespiration and nitrogenase activity in the blue-green alga, *Anabaena cylindrica* — *Proc. Roy. Soc. London (B)*, 1972, vol. 180, N 1058, p. 87—102.
- Ludden P. W., Burris R. H. Removal of an adenine-like molecule during activation of dinitrogenase reductase from *Rhodospseudomonas rubrum*. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1979, vol. 76, p. 6201—6205.
- Lundgren A. Nitrogen fixation induced by phosphorus fertilization of a Subarctic lake — *Ecol. Bull.*, 1978, N 26, p. 52—59.
- Lyne R. L., Stewart W. D. P. Emerson enhancement of carbon fixation but not of acetylene reduction (nitrogenase activity) in *Anabaena cylindrica*. — *Planta*, 1973, vol. 109, N 1, p. 27—38.
- Malkawa E., Kershaw K. A. The temperature dependence of thallus nitrogenase activity in *Peltigera canina*. — *Canad. Bot.*, 1975, vol. 53, N 6, p. 527—529.
- Marsh H. V., Evans H. I., Matrone G. Effect of iron deficiency on chlorophyll and chlorophyll synthesis — *Plant. physiol.*, 1963, vol. 38, N 1, p. 6—10.
- Maake H. Daylight ultraviolet radiation and the photoinhibition of phytoplankton carbon uptake — *J. Plankton. Res.*, 1984, vol. 6, N 2, p. 351—357.
- Materassi R., Naresi Filuso M., Balloni W., Paoletti C., Florenzano G. Nitrificazione azotata e metabolismo proteico nelle microalghe azotofissatrici. — *Ann. microbiol. ed enzymol.*, 1970, N 26, p. 15—27.
- Mc Farlane J. D., Malkawa E., Kershaw K. A., Oaks A. Environmental physiological interactions in Lichens. I. The interaction of light/dark periods and nitrogenase activity in *Peltigera polydactyla*. — *New Phytol.*, 1978, vol. 77, N 3, p. 705—711.
- Mc Knight D. M., Morel M. M. Release of weak and strong copper complexing agents by algae. — *Limnol., Oceanogr.*, 1979, vol. 24, N 5, p. 823—837.
- Meeks J. C., Wolk C. P., Thomas J., Austin S. M., Galonsky A. Use of ^{15}N in studies of fixation of dinitrogen and assimilation of ammonium by cyanobacteria. — In: *Isotopes Biol. Dinitrogen Fixat. Proc. Vienna*, 1978, p. 163—170.
- Miknowicz C. J., Weeks T. E. Effect of pH on toxicity of As, Cr, Cu, Ni and Zn to *Selenastrum capricornutum* Printz. — *Hydrobiologia*, 1984, vol. 118, N 3, p. 299—305.
- Mickelson J. C., Davis E. B., Fischer R. G. The effect of various nitrogen sources upon heterocyst formation in *Anabaena flos-aquae* A-37. — *J. Exp. Bot.*, 1967, vol. 18, N 56, p. 397—405.
- Mijamoto K., Hallenbeck P. C., Benemann J. R. Nitrogen fixation by thermophilic blue-green algae (cyanobacteria): temperature characteristics and potential use in biophotolysis. — *Appl. and Environ. Microbiol.*, 1979, vol. 37, N 3, p. 454—458.
- Millbank J. M. Nitrogen fixation in moulds and yeasts—a reappraisal. — *Arch. Microbiol.*, 1980, vol. 68, N 1, p. 32—39.
- Millbank J. M. Nitrogen metabolism in lichens. IV. The nitrogenase activity of the *Nostoc phycobiont* in *Peltigera canina*. — *New Phytol.*, 1972, vol. 71, N 1, p. 1—10.
- Millbank J. W. Associations with blue-green algae. — In: *The Biology of Nitrogen Fixation*. Amsterdam, 1974, p. 238—264.
- Millbank J. W. Nitrogenase and hydrogenase in cyanophytic lichens. — *New Phytol.*, 1982, vol. 92, N 2, p. 221—228.
- Millbank J. W., Kershaw K. A. Nitrogen metabolism in lichens. I. Nitrogen fixation in the cephalodia of *Peltigera aphthosa*. — *New Phytol.*, 1980, vol. 68, N 3, p. 721—729.
- Millbank J. W., Kershaw K. A. Nitrogen metabolism in lichens. III. Nitrogen fixation by internal cephalodia in *Lobaria pulmonaris*. — *New Phytol.*, 1970, vol. 69, N 3, p. 595—597.

- Millemans P. M., Charlton A. E., Gallon J. R. Effects of a light to dark transition on carbon reserves, nitrogen fixation and ATP concentrations in cultures of *Gloeocapsa (Gloeotheca)* sp 1430/3. — J. Gen. Microbiol., 1980, vol. 120, N 1, p. 227—232.
- Moeller R. E., Roushaki J. P. Nitrogen fixation in the littoral benthos of a oligotrophic lake — Hydrobiologia, 1978, vol. 60, N 1, p. 13—16.
- Munson T. O., Burris R. H. Nitrogen fixation by *Rhodospirillum rubrum* growth in nitrogen-limited continuous culture. — J. Bacteriol., 1960, vol. 97, N 3, p. 1093—1098.
- Murry M. A., Benemann J. R. Nitrogen regulation in *Anabaena cylindrica*. — Plant and Cell Physiol., 1979, vol. 20, N 7, p. 1391—1401.
- Nees J. C., Dugdale R. C., Dugdale V. A., Goering J. Nitrogen fixation in lakes. I. Measurement of nitrogen fixation with ^{15}N . — Limnol., Oceanogr., 1962, vol. 7, N 2, p. 163—169.
- Newton W. E. Current perspectives in Nitrogen Fixation. — Sciences, 1981, p. 200—210.
- (Nguyen Tchan Choa) Нгуен Тянь Хоа. Условия азотфиксации у цианобактерий *Plectonema boryanum* и *Gloeotheca* sp.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985, 18 с.
- Nordling S. Studies on the nitrogenase system of the photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum* (Diss.). Stockholm, 1979.
- Ogawa R. E., Carr J. F. The influence of nitrogen on heterocyst production in blue-green algae. — Limnol., Oceanogr., 1969, vol. 14, N 3, p. 342—351.
- Ohmori M., Hattori A. Effect of ammonia on nitrogen fixation by blue-green alga *Anabaena cylindrica*. — Plant and Cell Physiol., 1974, vol. 15, N 1, p. 131—142.
- Ohmori M., Hattori A. Differential effects of oxygen on N_2 -fixation and C_2H_2 reduction by *Anabaena cylindrica*. — Plant and Cell Physiol., 1979, vol. 20, N 6, p. 1162—1166.
- Paerl H. W. Role of heterotrophic bacteria in promoting N_2 -fixation by *Anabaena* in aquatic habitats. — Microbiol. Ecol., 1979, vol. 4, N 3, p. 215—231.
- Paerl H. W. Feasibility of ^{59}Fe Autoradiography as Performed on N_2 -fixing *Anabaena* spp. Populations and Associated Bacteria. — Appl. Environ. Microbiol., 1982, vol. 43, N 1, p. 210—217.
- Pande A. S., Sarkar R., Krishnamoorthi K. P. Toxicity of copper sulphate to the alga *Spirulina platensis* and the ciliate *Tetrahymena pyriformis*. — Indian J. Exp. Biol., 1981, vol. 19, N 5, p. 500—502.
- Patriquin D. G. Factors affecting nitrogenase activity associated with excised roots of the emergent halophyte *Spartina alterniflora* Loisel. — Aquat. Bot., 1978, vol. 4, N 3, p. 193—210.
- Pattinall H. Growth and nitrogen fixation by *Westiellopsis prolifica* Janel. — Ann. Bot. (Gr. Brit.), 1966, vol. 30, N 118, p. 231—238.
- (Pert S. D.) Перт С. Д. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М., 1978, 331 с.
- Peterson R. B., Burris R. H. Conversion of acetylene reduction rates to nitrogen fixation rates in natural populations of blue-green algae. — Anal. Biochem., 1976, vol. 73, N 2, p. 404—410.
- Peterson R. B., Friberg E. E., Burris R. H. Diurnal variation in N_2 fixation and photosynthesis by aquatic blue-green algae. — Plant. Physiol., 1977, vol. 59, N 1, p. 74—80.
- Phuoc D. T., James T. Nitrogen fixation by naturally occurring duckweedcyanobacterial associations. — Canad. J. Microbiol., 1985, vol. 31, N 4, p. 327—330.
- Pientos P. T., Bodmer S., Tabita R. H. Oxygen inactivation and recovery of nitrogenase activity in cyanobacteria. — J. Bacteriol., 1983, vol. 153, N 1, p. 182—190.
- Postgate J. R. Relevant aspects of the physiological chemistry of nitrogen fixation. — In: Symp. Soc. Gen. Microbiol., 1971, N 21, p. 287—307.
- Postgate J. R. Biological nitrogen fixation. — In: Co. Microbiol. Selec. Top. Further Study. London: New York, 1978, p. 343—361.
- Rachlin J. W., Jensen T. E., Warkentine B., Lehman H. H. The growth response of the green alga (*Chlorella saccharophila*) to selected concentrations of the heavy metals Cd, Cu, Pb, Zn. — In: Trace Subst. Environ. Health. 16.

- Proc. Univ. Miss. 16 Annu. Conf., 31 May—3 June, 1982. Columbia, 1982, p. 145—154.
- Ray A. N., Rowell P., Stewart W. D. P. Nitrogenase activity and dark CO₂ fixation in the lichen *Peltigera aphthosa* Willd. — *Planta*, 1981, vol. 151, N 3, p. 256—264.
- Rebbum S., Ben-Amotz A. The distribution of cadmium between the marine alga *Chlorella stigmatophora* and sea water medium. Effect on algal growth. — *Water Res.*, 1984, vol. 18, N 2, p. 173—178.
- Rippka R., Deruelles J., Watanbury J. B., Herdman M., Stanier R. J. Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. — *J. Gen. Microbiol.*, 1979, vol. 111, pt 1, p. 1—10.
- Rippka R., Neilson A., Kunitawa R., Cohen-Basile G. Nitrogen fixation by unicellular blue-green algae. — *Arch. Microbiol.*, 1971, vol. 76, N 4, p. 341—348.
- Rivera-Ortiz J. M., Burris R. H. Interactions among substrates and inhibitors of nitrogenase. — *J. Bacteriol.*, 1976, vol. 123, N 2, p. 537—550.
- Robson R. L., Postgate J. R. Oxygen and hydrogen in biological nitrogen fixation. — *Annu. Rev. Microbiol.*, 1980, vol. 34, p. 183—207.
- Ruhal D. S., Singh U. V. Interactions of copper, molybdenum and sources of nitrogen in blue-green alga (*Anabaena doliolum*). — *Indian J. Plant Physiol.*, 1980, vol. 23, N 1, p. 73—75.
- Ruhal D. S., Singh U. V. Interactions of copper, molybdenum and sources of nitrogen in blue-green alga (*Anabaena doliolum*). — *Indian J. Plant Physiol.*, 1980, vol. 23, N 1, p. 73—75.
- Russnes D., Burris R. H. Acetylene reduction (nitrogen fixation) in Wisconsin lakes. — *Limnol. Oceanogr.*, 1970, vol. 15, N 5, p. 808—813.
- Rychert C., Skjölvis I. Nitrogen fixation by blue-green algae-lichen crusts in the Great Basin Desert. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 1974, vol. 38, N 5, p. 768—771.
- Schlewer U. Physiologie der Cyanophyta. — Einheit und Mannigfaltigkeit im Evolutionsprozess. — *Biol. Rdsch.*, 1979, Bd 17, H. 3, S. 156—171.
- (Schlegel N. G.) Шаерез Н. Г. Общая микробиология. М., 1972. 476 с.
- Schöllhorn R., Burris R. H. Study of intermediates in nitrogen fixation. — *Fed. Proc.*, 1966, vol. 25, p. 710—725.
- Schöllhorn R., Burris R. H. Acetylene as a competitive inhibitor of N₂-fixation. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1967, vol. 58, p. 213—216.
- Schrautemeler B., Böhm H., Böger P. In vitro studies on pathways and regulation of electron transport to nitrogenase with a cellfree extract from heterocysts of *Anabaena variabilis*. — *Arch. Microbiol.*, 1984, vol. 137, N 1, p. 14—20.
- (Schrauzer D.) Шраузер Дм. Изучение механизма биологической фиксации молекулярного азота на функциональных модельных системах. — В кн.: Новое в химической фиксации азота. М., 1983, с. 9—17.
- Shanmugam K. T., O'Gara F., Andersen K., Valentine R. C. Biological nitrogen. — *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1978, vol. 29, p. 263—276.
- Shapiro J. Blue-green alga: why they become dominant. — *Science*, 1973, vol. 179, N 4071, p. 382—384.
- Shardespande J. S., Goyal S. K. Effect of pH on growth and nitrogen fixation by blue-green algae. — *Phykos*, 1981, vol. 20, N 1—2, p. 107—113.
- Sharma R. S., Singh P. K. Growth of planktonic blue-green algae in mixed cultures. — *Microbiol. Lett.*, 1981, vol. 16, N 62, p. 75—78.
- Singh P. K. Nitrogen fixation by the unicellular blue-green alga *Aphanothera*. — *Arch. Microbiol.*, 1973, vol. 92, N 1, p. 59—62.
- Singh V. P., Lakshmi D. S. Nitrogen fixation by some blue-green algae. — *Phykos*, 1974, vol. 13, N 2, p. 1—6.
- Singh S. P., Pandey A. K. Effect of cadmium ion on the differentiation and micronutrient utilization in *Nostoc calcicola*. — *Indian J. Microbiol.*, 1981, vol. 21, N 2, p. 119—125.
- Smith D. C. Studies in physiology of lichens I. The effects of starvation and ammonia absorption upon the nitrogen content of *Peltigera polydactyla*. — *Ann. Bot. (Gr. Bri.)*, 1960, vol. 24, N 93, p. 52—62.
- Smith R. V., Evans M. C. W. Soluble nitrogenase growth vegetative cells of the blue-green alga *Anabaena cylindrica*. — *Nature*, 1970, vol. 225, N 5329, p. 1253—1254.

- Stanier R. J., Cohen-Bazile G. Phototrophic procaryotes: the cyanobacteria — Annu. Rev. Microbiol., 1977, vol. 31, p. 225—274
- Stanier R. J., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazile G. Purification and properties of unicellular blue-green algae — Bacteriol. Revs., 1971, vol. 35, p. 171—206
- Stary J., Zeman A., Marik B. Radionuclides in the investigation of the cumulation of toxic elements on algae and fish — Isotopenpraxis, 1983, vol. 19, N 7, p. 243—244
- Stewart W. D. P. Nitrogen fixation in plants. New York, 1966. 168 p.
- Stewart W. D. P. Nitrogen input into aquatic ecosystems — In: Algae, man and environment. Syracuse, New York, 1968, p. 53—72
- Stewart W. D. P. Biological and ecological aspects of nitrogen fixation by free-living microorganisms. — Proc. Roy. Soc. (London). Ser. B, 1969, vol. 172, p. 367—375
- Stewart W. D. P. Nitrogen fixation by photosynthesis microorganisms. — Annu. Rev. Microbiol., 1973, vol. 27, p. 284—416
- Stewart W. D. P. Algal physiology and biochemistry. Oxford, 1974. 989 p.
- Stewart W. D. P. Some aspects of structure and function in N_2 -fixing cyanobacteria. — Annu. Rev. Microbiol., 1980, vol. 34, p. 497—536
- Stewart W. D. P., Fitzgerald G. P., Burris R. H. In situ studies on N_2 -fixation using the acetylene reduction technique. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1967, vol. 58, N 5, p. 2071—2078
- Stewart W. D. P., Fitzgerald G. P., Burris R. H. Acetylene reduction by nitrogen fixing blue-green algae. — Arch. Microbiol., 1968, vol. 62, N 4, p. 336—348
- Stewart W. D. P., Haystead A., Pearson H. W. Nitrogenase activity in heterocysts of blue-green algae. — Nature, 1969, vol. 224, N 5216, p. 226—228
- Stewart W. D. P., Lex M. Nitrogenase activity in the blue-green alga *Plectonema boryanum* strain 594 — Arch. Microbiol., 1970, vol. 73, N 3, p. 250—260
- Stewart W. D. P., Rowell P. Effect of α -methionine-LD-sulfoximine on the assimilation of newly fixed NH_3 , acetylene reduction and heterocyst production in *Anabaena cylindrica* — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1975, vol. 65, p. 846—855
- Stewart W. D. P., Rowell P. The control of nitrogen fixation in cyanobacteria. — Biochem. Soc. Trans., 1981, vol. 9, N 2, p. 76—80
- Stewart W. D. P., Rowell P., Codd G. A., Apte S. K. N_2 -fixation and photosynthesis in photosynthetic procaryotes. — Proc. 4 th. Int. Congr. Photosynth., 1977 London, 1978, p. 133—146
- Stewart W. D. P., Rowell P., Rai A. Symbiotic nitrogen fixing cyanobacteria. — In: Nitrogen fixation. London, New York, 1980, p. 239—272
- Stratton G. W., Corke Ch. T. The effect of cadmium ion on the growth, photosynthesis and nitrogenase activity of *Anabaena inaequalis*. — Chemosphere, 1978, vol. 8, N 5, p. 277—282
- Streichler S., Gurney E., Volentine R. C. Transduction of the nitrogen fixing genes in *Klebsiella pneumoniae* — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1971, N 68, p. 1174—1177
- Taylor B. F., Lee Ch. C., Bunt J. S. Nitrogen fixation associated with the marine blue-green alga *Trichodesmium*, as measured by the acetylene reduction technique. — Arch. Microbiol., 1973, vol. 88, N 3, p. 205—212
- Thomas J., David K. A. V. Studies on the physiology of heterocyst in the nitrogen-fixing blue-green alga *Anabaena* sp. L-31 in continuous culture — J. Gen. Microbiol., 1971, vol. 66, N 2, p. 127—131
- Thorneley R. N. F., Eady R. R., Lowe D. J. Biological nitrogen fixation by way of an enzyme-bound dinitrogen hydride intermediate — Nature, 1978, vol. 272, N 5653, p. 557—558
- Torrey M. Sh., Lee G. F. Nitrogen fixation in lake Mendota, Madison, Wisconsin. Limnol. Oceanogr., 1976, vol. 21, N 3, p. 365—378
- Uehlinger U. Experimentelle Untersuchungen zur Auto-ökologie von *Aphanizomenon flos-aquae* — Arch. Hydrobiol., 1981, vol. 60, N 3, p. 260—288
- Vanderhoef L. N., Dann B., Emerich D., Burris R. H. Acetylene reduction in relation to levels of phosphate and fixed nitrogen in green Bay — New Phytol., 1972, vol. 71, N 6, p. 1097—1105

- Vincent W. F., Dawnes M. T., Vincent C. L. Nitrous oxide cycling in Lake Vanda, Antarctica. — *Nature*, 1981, vol. 292, p. 618—620.
- Vose R. B. Developments in nonlegume N_2 -fixing systems. — *Canad. J. Microbiol.*, 1983, vol. 29, N 8, p. 837—850.
- Voorlo H., Rinne L., Sandman V. Nitrogen fixation of planktonic blue-green algae in the Helsinki sea area determined acetylene reduction. — *Aqua. fenn.*, 1978, N 8, p. 47—57.
- Wärmling P. Nitrogen fixation on rocks in Oslofjord. — *Bot. mar.*, 1973, vol. 16, N 4, p. 237—240.
- Watanabe A., Yamamoto Y. Algal nitrogen fixation in the tropics. — *Plant and Soil*, 1971, Spec. vol., p. 403—413.
- Waughman G. J. The effect of varying oxygen tension, temperature and sample size on acetylene by nodules of alnus and hippophae. — *Plant and Soil*, 1972, vol. 37, N 3, p. 521—528.
- Waughman G. J. The effect of temperature on nitrogenase activity. — *J. Exp. Bot.*, 1977, vol. 28, N 105, p. 949—960.
- Weare N. M., Benemann J. R. Nitrogenase activity and photosynthesis in *Plectonema boryanum*. — *J. Bacteriol.*, 1974, vol. 119, N 1, p. 258—265.
- Weaver P. F., Lien S., Selbert M. Photobiological production of hydrogen. — *Solar Energy*, 1980, vol. 24, p. 3—10.
- Weisshäfer H., Böger P. Nitrogenase activity of the nonheterocystous cyanobacterium *Phormidium foeculareum*. — *Arch. Microbiol.*, 1983, vol. 136, N 4, p. 270—274.
- Whitton B. A., Donaldson A., Malcolm P. Nitrogen fixation by *Nostoc* colonies in terrestrial environments of Aldabra Atoll, Indian Ocean. — *Phycologia*, 1979, vol. 18, N 3, p. 278—287.
- Wolk C. P., Thomas J., Shaffer P. W., Sam M., Galonsky A. Pathway of nitrogen metabolism alter fixation of ^{15}N -labeled nitrogen gas by the cyanobacterium, *Anabaena cylindrica*. — *J. Biol. Chem.*, 1976, vol. 251, N 16, p. 5027—5034.
- Worrest R. C. Review of literature concerning the impact of UV-B radiation upon marine organisms. — In: *Role Solar Ultraviolet Radiat. Mar. Ecosyst. Proc. NATO Conf., Copenhagen*, 28—31 July. 1980. New York; London, 1982, p. 429—457.
- Wurtsbaugh W. A., Horne A. J. Iron in Eutrophic Clear Lake, California: Its Importance for Algal Nitrogen Fixation and Growth. — *Canad. J. Fisch. Aquat. Sci.*, 1983, vol. 40, N 9, p. 1419—1429.
- Yoch D. C. Regulation of nitrogenase A and R concentrations in *Phodopseudomonas capsulata* by glutamine synthetase. — *Biochem. J.*, 1980, vol. 187, p. 273—282.
- Yoch D. C., Goffo J. W. Effect of light intensity and inhibitors of nitrogen assimilation on NH_4 -inhibition of nitrogenase activity in *Rhodospirillum rubrum* and *Anabaena* sp. — *J. Bacteriol.*, 1982, vol. 151, N 2, p. 800—806.
- (Yost H.) Ност Н. Физиология клетки. М., 1978. 861 с.

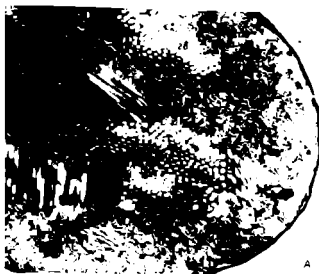


Рис. 2. Ультраструктура *Trichomonas* sp. (A, B).

A — вегетативная клетка, B — вегетативная клетка с выраженной ложной пространственной организацией. Ц — цитоплазма, Я — ядро, Ф — флюиды, С — спорангия, Д — споры, З — зоома, П — паразитический организм, ПП — паразитический организм в состоянии паразитизма.

© И. И. Кошкин



Fig. 8. (*Applanocera*).

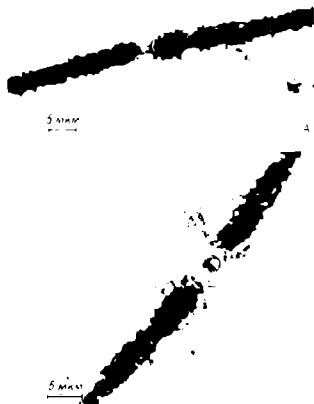


Рис. 20. Изображение в ГС *Arbutus* sp. фактурирующей (А) и нефактурирующей (В) модели парникового (Pactl, 1982).

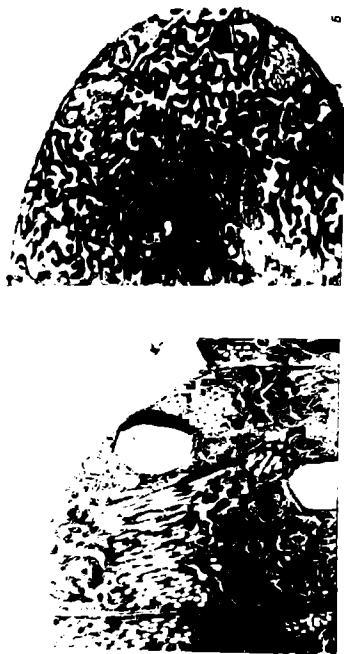
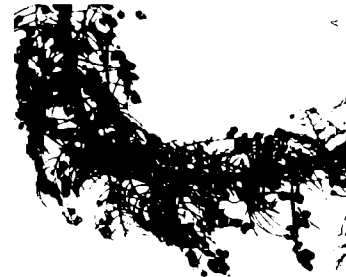


Рис. 30. Изменение ультраструктуры *Anabaena sphaeroides* под влиянием токсина метадокса.
 А — в остаточная клетка в контроле; Б — клетка, подвергшаяся обработке свинцом в концентрации 0,1 мг/л; В — то же
 время в концентрации 0,1 мг/л $\times 25000$.



A



Рис. 10. Обработка: 10А. Материаловедение. 10Б. Материаловедение.
 А. Материаловедение. 10Б. Материаловедение. 10В. Материаловедение.





Рис. 36. *Сопло*

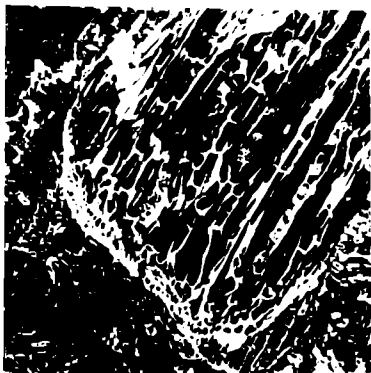


Рис. 37. Фотография прикреплении к стержню (диаметр 4 дюйма) стержня (диаметр 1 дюйм) с помощью



Fig. 4. *Chenopodium* sp. (1) and *Chenopodium* sp. (2) growing in the Gusevskiy district of the Republic of Dagestan.

Fig. 5. *Chenopodium* sp. (1) and *Chenopodium* sp. (2) growing in the Gusevskiy district of the Republic of Dagestan.

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|-----|
| Введение . . . | 3 |
| Глава I. Размеры азотфиксации, круговорот азота в водоемах, организмы, фиксирующие молекулярный азот . . . | 5 |
| Глава II Методы определения азотфиксации . . . | 12 |
| Глава III Механизмы фиксации молекулярного азота свободноживущими и симбиотическими синезелеными водорослями . . . | 22 |
| Глава IV. Экологическая физиология азотфиксирующих синезеленых водорослей . . . | 27 |
| Влияние экологических условий на азотфиксацию водорослей . . . | 27 |
| Влияние света на азотфиксацию водорослей . . . | 33 |
| Роль гетероцистов в азотфиксации . . . | 39 |
| Влияние минерального азота и фосфора . . . | 43 |
| Влияние тяжелых металлов на синезеленые азотфиксирующие водоросли . . . | 50 |
| Глава V. О способности лишайников и свободноживущих грибов к азотфиксации . . . | 68 |
| Фиксация молекулярного азота у лишайников . . . | 68 |
| О способности грибов к азотфиксации . . . | 76 |
| Глава VI Закономерности азотфиксации в водоемах различной трофности . . . | 78 |
| Интенсивность фиксации молекулярного азота в водной толще . . . | 84 |
| Интенсивность фиксации молекулярного азота эпифитным комплексом пресноводных макрофитов . . . | 104 |
| Заключение . . . | 114 |
| Литература . . . | 122 |