

Р. О. Мирзабекян и Н. А. Карапетян

Действие микробов-антагонистов на бактериального возбудителя увядания абрикосовых насаждений*

В последние годы, в связи с открытием пенициллина и стрептомицина, необычайно возрос интерес к микробам-антагонистам.

Ряд авторов пытались использовать антагонистические свойства микробов для борьбы с микробными болезнями сельскохозяйственных растений. Велись исследования с возбудителями заболеваний различных культур—хлопка, льна, люпина, пшеницы, томатов и др.

Были выделены и изучены многие виды бактерий, грибов, актиномицетов, которые заметно подавляют, в лабораторных условиях, многие фитопатогенные микроорганизмы.

Имеются данные об успешном применении микробов-антагонистов для защиты растений от фитопатогенных микробов не только в лабораторных, но и в полевых условиях. (Н. А. Красильников и А. И. Кореняко, 1939, Н. А. Красильников, 1945, Е. Ф. Березова, 1939, А. Н. Наумова, 1939, Я. П. Худяков, 1935, М. И. Нажимовская, 1939, G. E. Hapton, 1948). В последние годы есть единичные указания на применение чистых препаратов стрептомицина, пенициллина, актидио-на против фитопатогенных бактерий (Я. П. Худяков, 1939).

В своих исследованиях мы задались целью выяснить действие некоторых бактерий и актиномицетов-антагонистов на ряд возбудителей бактериозов сельскохозяйственных культур. В данной работе представлены результаты исследований воздействия антагонистов на возбудителя (бактериального) увя-

* Часть настоящей работы выполнена в Институте микробиологии АН СССР.

дания абрикосовых и персиковых насаждений, названного нами *Bact. armeniaca* (1946). Из почв Армении нами выделено до 150 микроорганизмов (спороносные палочки и актиномицеты), действующих антагонистически в отношении *Bact. armeniaca*. (Антагонистические свойства этих культур проверялись на МПА в чашках Петри на культурах — *Staph. aureus* № 209, *Bact. coli* и *Bact. armeniaca*). Из них были отобраны для дальнейших исследований наиболее активные по отношению к данному возбудителю.

Как видно из таблиц 1 и 2, самую большую зону угнетения роста возбудителя увядания дают штаммы антагонистов № 5, 15, 2, 3, 4 (Ереван).

Таблица 1

Зона угнетения роста тест-культур актиномицетами (диаметр зоны в см)

Штаммы	Тест-культуры		
	<i>Staph. aureus</i> № 209	<i>Bact. coli</i>	<i>Bact. armeniaca</i>
№ 2	3	2,2	2,5
№ 3	2	1,5	1,5
№ 4	1,8	—	2
№ 5	3	2,8	3
№ 15	2	2,5	2,8
№ 23	2,5	—	—
№ 63	2	—	—

Таблица 2

Зона угнетения роста тест-культур спороносными бактериями (диаметр зоны в см)

Штаммы	Тест-культуры		
	<i>Staph. aureus</i> № 209	<i>Bact. coli</i>	<i>Bact. armeniaca</i>
№ 1	1,8	1,5	1,5
№ 17	2,8	2,5	2,8
№ 19	1,5	1	1,2
№ 30	2,8	2,5	2,4

После установления антибактериальных свойств культур, мы поставили себе цель—разработать методику применения их для защиты растений. Антибактериальные вещества брались в виде нативных культур антагонистов. Для получения нативного вещества антагонисты культивировались на различных питательных средах синтетических и белковых, жидких или агаризованных.

Изучение влияния антибактериальных веществ на стерильные растения абрикосов и персиков связано с большими затруднениями, так как растения эти многолетние. Встала задача подыскать другие, однолетние растения, которые могли бы служить моделью для этих опытов. Такими растениями оказались люцерна и клевер. Возбудитель увядания задерживает их рост и отрицательно действует на всхожесть семян. Поэтому эти растения могут применяться как модельные для предварительной проверки действия антибактериальных веществ на *Bact. agmeniasa*.

Сначала были проведены опыты на модельных растениях, при искусственном заражении их возбудителем увядания в стерильных условиях. Семена люцерны и клевера после 2-х кратной дезинфекции заражались взвесью односуточной культуры возбудителя увядания шт. № 2 и засеивались на поверхность среды Ковровцевой в следующих вариантах: 1) растения, не зараженные патогенными бактериями и без антибиотического вещества, 2) растения, зараженные бактериями, но без антибиотического вещества и 3) растения, зараженные бактериями и обработанные антибиотическими веществами.

Результаты опыта с люцерной приведены в таблице 3. Аналогичные данные получены и в опытах с клевером.

Данные таблицы 3 показывают, что растения, зараженные *Bact. agmeniasa* без обработки антибиотическими веществами, отстают в росте в 3—4 раза по сравнению с контрольными растениями. В присутствии антибиотических веществ инфицированные растения развиваются нормально.

Спороносные бактерии-антагонисты (№ 17), испытанные нами в этих условиях, сами подавляли рост растений. Поэтому дальнейшие опыты с ними были прекращены.

Для иллюстрации защитного действия антибиотических

веществ актиномицетного происхождения на модельные растения (клевер) приводится рис. 1. Зарисовка произведена с натуры.

В первой пробирке (а)—растения, зараженные бактериями без последующей обработки антибиотическим веществом; во второй пробирке (б)—контрольное растение, без заражения

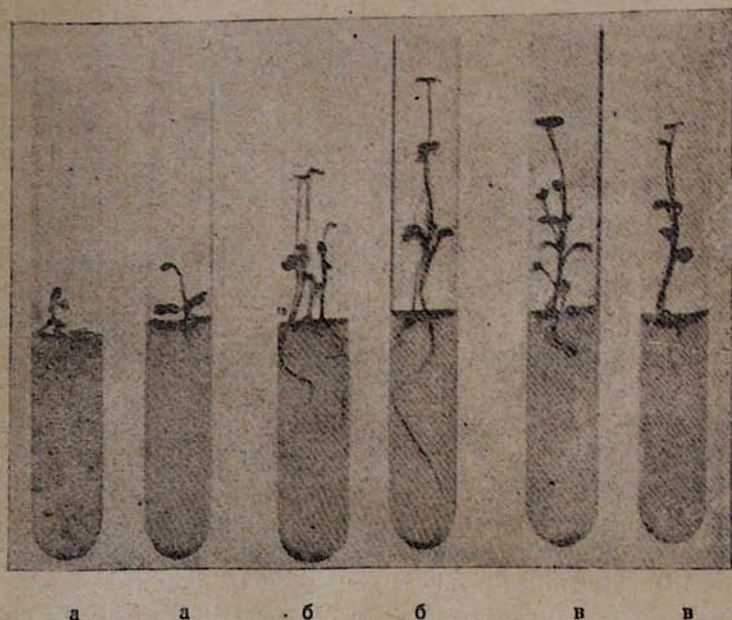


Рис. 1. а) растения, зараженные *Bact. agropurpurea*, но без обработки антибиотиком, б) контрольные растения, незараженные и не обработанные антибиотическим веществом, в) растения, зараженные *Bact. agropurpurea* и обработанные антибиотическим веществом № 5 (м/г)

бактериями и без обработки антибиотическим веществом, в третьей (в) пробирке—растения, зараженные бактериями и обработанные антибиотическим веществом.

Нативные вещества испытанных актиномицетов № № 5, 15 и 4 (Ереван) действовали одинаково на заражение растения клевера и люцерны.

После того, как мы убедились в положительном действии антибиотических веществ на модельных растениях, были проведены опыты с ними на молодых дичках абрикоса.

Таблица 3

Защитное действие антибиотических веществ против Баст. агмениаса
(опыты поставлены в пробирках)

Варианты опыта	Колич. проби- рок	Результаты (рост в см)
Контроль без заражения В. агмениаса, без антибиотического вещества	3	Нормальный рост Надземная часть 7—8 К о р н и 5—6
Контроль—зараженные В. агмениаса, без антибиотического вещества	3	Растения маленькие, отстают в росте, корни отсутствуют или размером 0,5 Надземная часть 1—1,2
Растения, зараженные В. агмениаса и обработанные нативным веществом от актиномицета № 2	3	Рост нормальный Надземная часть 6,5—7 Корни нормальн. 3—4,5
Растения, зараженные В. агмениаса и обработанные нативным веществом от актиномицета № 3	3	Рост нормальный Надземная часть 6,5—7 К о р н и 3—3,5
Растения, зараженные В. агмениаса и обработанные нативным веществом от актиномицета № 4 (Ереван)	3	Рост нормальный Надземная часть 6—7 К о р н и 4—5
Растения, зараженные В. агмениаса и обработанные нативным веществом от актиномицета № 5	3	Рост нормальный Надземная часть 7—8 К о р н и 4,5—5
Растения, зараженные В. агмениаса и обработанные нативным веществом от актиномицета № 15	3	Нормальный рост Надземная часть 7—8,5 К о р н и 4,5—5
Растения, зараженные В. агмениаса и обработанные нативным веществом от споровосных бактерий № 17	3	Рост ненормальный, отстает, внешний вид вялый. Надземная часть 1—2 см, корни или отсутствуют или 0,5 см длины

Опыты были поставлены в условиях оранжерей на молодых растениях абрикоса в вазонах. Дички определенного возраста с одинаковым количеством листьев заражались уколом взвесью односуточной культуры возбудителя увядания, после чего зараженные дички подвергались обработке антибиотическими веществами. В контрольных вариантах (без заражения и без защиты) вместо бактериальной взвеси вводилась сте-

рильная вода. Методика искусственного заражения описана в одной из наших прежних работ (1946).

Результаты этих опытов представлены в таблице 4.

Наблюдения показали, что зараженные дички абрикосов, не подвергшиеся обработке антибиотическим веществом, на 14-й день полностью увяли и погибли. Растения, зараженные и обработанные антибиотиками, остались совершенно здоровыми и продолжали свой нормальный рост наравне с контрольными растениями (рис. 2).

Таблица 4

Защитное действие антибиотических веществ актиномицетов
против возбудителя увядания абрикоса
(опыты поставлены на дичках)

Варианты опыта	Колич. дичков	Результаты (наблюдения производились в течение 70 дней)
Контроль—без заражения В. агмениаса	3	Здоровые, хороший нормальный рост
Контроль—зараженные В. агмениаса	3	Полное увядание и гибель на 14-й день
Зараженные В. агмениаса+нативное вещество от актиномицета № 2	3	Здоровые, рост нормальный
Зараженные В. агмениаса+нативное вещество от актиномицета № 3	3	Здоровые, рост нормальный
Зараженные В. агмениаса+нативное вещество от актиномицета № 4 (Ереван)	3	Здоровые, рост нормальный
Зараженные В. агмениаса+нативное вещество от актиномицета № 5	3	Здоровые, рост нормальный
Зараженные В. агмениаса+нативное вещество от актиномицета № 15	3	Здоровые, рост нормальный

Данные этих опытов подтвердили результаты исследований на модельных растениях. Антибиотические вещества, продуцируемые испытанными актиномицетами, оказывают защитное действие на растения не только в условиях стерильных культур, но и в вегетационных опытах.

Зараженные бактериями дички абрикоса заболевали и погибали при типичной картине увядания, если они не обрабатывались антибиотическими веществами. Растения, обработанные тут же антибиотическим веществом, не заболевали и развивались совершенно нормально, не отставая от контрольных.

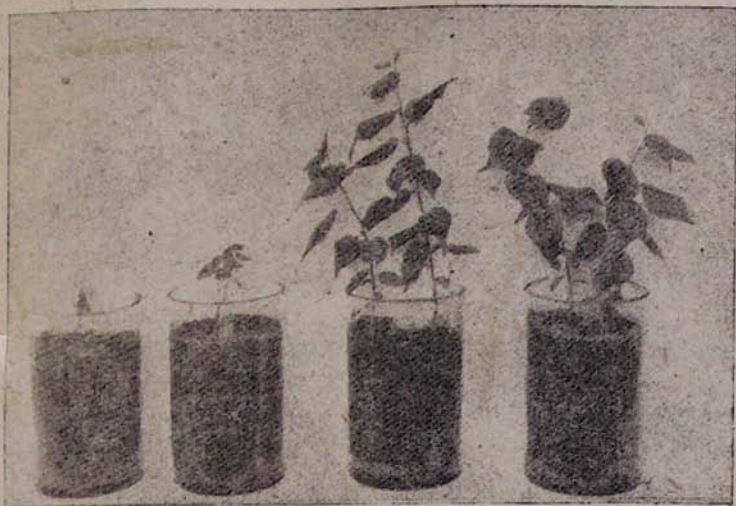


Рис. 2. 1 и 2 сосуды—контроль. Зараженные *Bact. agmeniacus* без обработки антибиотическим веществом, 3. сосуд-контроль без заражения и без обработки антибиотическим веществом, 4 сосуд—растения зараженные *Bact. agmeniacus* и обработанные антибиотическим веществом № 15.

Защитное действие антибиотических веществ проявляется не только при применении их одновременно с заражением растений, но и спустя некоторое время после инфицирования.

В наших опытах растения обрабатывались антибиотическим веществам (шт. № 15) через 1, 3 и 6 суток после заражения. Результат приведен в таблице 5 и на рис. 3.

Растения, которые обрабатывались антибиотическими веществами, немедленно после инфицирования или спустя 1 и 3 суток после заражения не заболевали или поражались значае в слабой степени, а в дальнейшем развивались нормально, как контрольные экземпляры. Только отдельные участки, куда вводилась культура бактерий, оставались бурными (см. рис. 3в).

В тех случаях, когда растения подвергались обработке через 6 суток после заражения, когда уже заболевание зашло далеко, эффект от применения антибиотических веществ проявлялся слабее; хотя дальнейшее увядание прекращалось,



Рис. 3. а) контроль—растения, зараженные *Bact. agropneumoniae* без обработки антибиотическим веществом, б) растения, зараженные и обработанные антибиотическим веществом, через 6 суток после заражения, в) растения, зараженные и обработанные антибиотическим веществом через 3 суток после заражения, г) растения, зараженные и обработанные антибиотическим веществом через 24 часа после заражения.

растение все же оставалось карликовым, отставало в росте от контроля. Пораженные части листьев высыхали и отмирали (см. рис. 3б). Растения, не обработанные антибиотическими веществами отмирали сравнительно быстро при сильно выраженной картине увядания.

Дальнейшее испытание защитного действия антибиотических веществ на возбудитель увядания проводилось нами на

Таблица 5

Действие антибиотического вещества актиномицета № 15 после искусственного заражения дичков абрикоса возбудителем увядания

Варианты опытов	Кол-во дичков	Сроки применения антибиотиков после заражения	Результаты (наблюдения проводились в течение 45 дней)
Контроль—зараженные В. агменіаса без обработки антибиотическим веществом	3	не применялось	На 7-й день—начало увядания и гибель на 14—15 день
Зараженные В. агменіаса и обработанные антибиотическим веществом № 15	3	через 24 часа	Здоровые, рост нормальный
Зараженные В. агменіаса и обработанные антибиотическим веществом № 15	3	через 72 часа	На дичках на десятый день наблюдалось небольшое угнетение. Явления увядания не наблюдалось. Потом растения стали развиваться нормально
Зараженные В. агменіаса и обработанные антибиотическим веществом № 15	3	через 6 суток	На 9-й день началось увядание с краев, рост очень медленный и растения остались карликовыми

опытном участке Сектора микробиологии Академии наук Армянской ССР.

Были поставлены опыты по искусственному заражению возбудителем увядания абрикоса В. агменіаса двухлетних саженцев абрикоса и персика, а также дичков. В этих опытах применялись антибиотические вещества от актиномицетов № № 15, 5 и 4 (Ереван).

Применение антибиотических веществ в опытах искусственного заражения проводилось несколькими способами. На дичках в сосудах действие антибиотических веществ проверялось путем опрыскивания из пульверизатора до и после заражения в разные сроки, а на двухгодичных саженцах—путем введения в растения антибиотических веществ методом всасывания.

Для установления количества антибиотических веществ, нами были поставлены опыты с применением метода всасыва-

ния. Этими опытами установлены дозы антибиотических веществ в количестве 500—700 единиц по отношению *B. armeniaca*, которые не оказывают вредного действия на растение. Дозы выше 500—700 ед. вызывали ожоги.

Все вышеприведенные опыты ставились на дичках и на саженцах, выросших в вегетационных сосудах.

Условия и результаты одного варианта опытов с использованием методов опрыскивания и всасывания растением антибиотических веществ актиномицета № 4 (Ереван) приводятся в табл. 6 и 7 и на рис. 4. Аналогичные данные получены и в опытах с другими антибиотиками.



Рис. 4. 1 и 2 вазоны—саженцы зараженные *Bact. armeniacae* и не обработанные антибиотическим веществом. 3, 4 и 5 вазоны—саженцы абрикоса и персика, зараженные и обработанные антибиотическим веществом путем введения методом всасывания.

Результаты проведенных работ позволяют сделать следующие выводы:

1. Возбудитель бактериального увядания абрикосовых насаждений *B. armeniacae* не поражает люцерну и клевер. Однако этот микроорганизм в стерильных условиях, задерживает рост люцерны и клевера и отрицательно действует на всхожесть их семян. Поэтому эти растения могут успешно при-

Применение антибиотического вещества актиномицета № 4 (Ереван) на искусственно зараженных растениях-дичках абрикоса и персика методом опрыскивания из пульверизатора

Название растений и количество (дички 20—30 дневные)	Условия опыта	Титр антибиотика		Результаты наблюдений в течение 45 дней
		Staphyl. aureus 203	Bact. agmeniasa	
Контроль Абрикос —3	Зараженные возбудителем увядания Bact. agmeniasa без применения антибиотического вещества	81	27	На всех дичках на 6—9 день появилось явление увядания с конуса, увядание распространилось, и на 15—20 день полное увядание дичков
Абрикос —3 Персик —3	Зараженные Bact. agmeniasa—опрыскивание антибиотическим веществом до заражения. Антибиотическое вещество применялось в виде водной вытяжки с агаровой среды	81	27	Все дички, кроме одного персика и одного абрикоса, остались здоровыми и продолжали свой нормальный рост
Абрикос —3	Зараженные Bact. agmeniasa—опрыскивание антибиотическим веществом через час после заражения. Антибиотическое вещество применялось в виде водной вытяжки с агаровой среды	81	27	Все дички, кроме двух персиков, остались здоровыми и продолжали свой нормальный рост
Абрикос —3 Персик —3	Зараженные Bact. agmeniasa—опрыскивание антибиотическим веществом через 24 часа после заражения. Антибиотическое вещество применялось в виде водной вытяжки с агаровой среды	81	27	Все дички, кроме двух персиков, остались здоровыми и продолжали свой нормальный рост
Абрикос —3 Персик —3	Зараженные Bact. agmeniasa—опрыскивание антибиотическим веществом через 3-е суток после заражения. Антибиотическое вещество применялось в виде водной вытяжки с агаровой среды	81	27	Остались здоровыми один абрикос и 2 персика, остальные заболели, увядание началось с конуса и распространилось вниз, и привело к полному увяданию

Применение антибиотического вещества № 15 на искусственно зараженных растениях—2-годовых саженцах абрикоса и персика—методом всасывания в растения

Таблица 7

Название растений и количество	Условия опыта	Доза антибиотика	Титр антибиотика		Результаты наблюдений в течение 45 дней
			Staphyl. aureus 209	Bact. agmenlaca	
Контроль					
Абрикос —3 Персик —3	Без заражения—введена стерильная вода по 6 см ³	—	—	—	Всасывание воды очень медленное, саженцы остались без изменения
Контроль					
Абрикос —3 Персик —3	Без заражения—саженцы опрысканы стерильной водой (вместо бактериальной взвеси) и введено антибиотическое вещество	680 ед.	729	81	Всасывание в течение 15 часов ожогов не вызывает. Саженцы остались без изменения
Контроль					
Абрикос —3 Персик —3	Зараженные возбудителями увядания Bact. agmenlaca	—	—	—	На всех саженцах, кроме одного абрикоса, на 11-й день начало увядания. Листья с конуса этиологизировались, скручивались и увядание распространилось вниз
Абрикос —5 Персик —5	Зараженные Bact. agmenlaca, введено антибиотическое вещество через 30 минут после заражения бактериями	700 ед.	729	81	Все саженцы, кроме одного персика, остались здоровыми и продолжали свой нормальный рост. Всасывание в течение 12—15 часов

меняться как модельные для предварительной проверки действия некоторых антибиотических веществ в отношении *Bact. agropneumoniae*.

2. Штаммы актиномицетов № № 2, 3, 4 (Ереван), 5 и 15 продуцируют антибиотические вещества, угнетающие *Bact. agropneumoniae* и могущие быть использованными для защиты абрикосов и персиков против возбудителя увядания.

3. Испытанные антибиотические вещества актиномицетов № № 4, 5 (Ереван) и 15 в применяемых дозах не оказывают вредного влияния на растения.

Часть данной работы выполнена в Институте микробиологии Академии наук СССР под общим руководством Н. А. Красильникова, за что считаем своим долгом выразить ему свою благодарность.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Березова Е. Ф.* 1939. Бактеризация семян как метод борьбы с болезнями льна. Микробиология, т. VIII, в. 2, стр. 186.
- Баксман З. А.* 1947. Антагонизм микробов и антибиотические вещества. М.
- Израильский В. П.* 1945. Антагонистические вещества как новый фактор в борьбе с бактериями, патогенными для животных и растений. Успехи современной биологии, т. XIX, вып. 3, стр. 358.
- Красильников Н. А.* 1945. Микробиологические основы бактериальных удобрений. М.
- Красильников Н. А. и Кореняко А. И.* 1939. Бактерицидное вещество актиномицетов. Микробиология, т. VIII, вып. 6, стр. 673.
- Мирзабекян Р. О.* 1946. Некоторые биологические свойства возбудителя увядания абрикоса и его патогенность для других косточковых пород. Известия АН Арм. ССР, № 1, стр. 3.
- Мирзабекян Р. О.* 1946. Биохимические и антигенные свойства возбудителя увядания абрикоса. Микробиологический сборник, вып. 2, стр. 31, Ереван.
- Нахимовская М. И.* 1939. Влияние бактерий на прорастание спор головни. Микробиология, т. VIII, вып. 1, стр. 116.
- Наумова А. Н.* 1939. Влияние бактериизации семян на поражаемость всходов яровой пшеницы грибными паразитами и на ее урожай. Микробиология, т. VIII, вып. 2, стр. 198.
- Худяков Я. П.* 1935. Литическое действие почвенных бактерий на паразитные грибы. Микробиология, т. IV, вып. 2, стр. 193.
- Hapton G. E.* 1948. Cure crown gall with antibiotic. Phytopathology, № 38, № 1, 11.

Ռ. Ն. ՄԻՐՋԱԲԵԿՅԱՆ ԵՎ Ն. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

**ԱՆՏԱԳՈՆԻՍՏ ՄԻԿՐՈԲՆԵՐԻ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԱՆՏԻԲԻՈՏԻԿ
ՆՅՈՒԹԵՐԻ ԱՉԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԾԻՐԱՆԵՆՈՒ ԲԱԿՏԵՐԻԱԼ
ԹԱՌԱՄՄԱՆ ՀԱՐՈՒՑՁԻ՝ Bact. armeniaca-ի ՎՐԱ**

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Անտիբիոտիկ նյութերի օգտագործումը վերջին ժամանակներս լայն կիրառում է գտել մարդկանց և անասունների հիվանդությունների բուժման գործում: Սակայն բույսերի բակտերիալ հիվանդությունների բուժման համար հիշյալ անտիբիոտիկ նյութերը դեռ չեն օգտագործվում և այդ ուղղությամբ շատ քիչ ուսումնասիրություններ են կատարված:

Տվյալ աշխատանքի նպատակն էր՝ ուսումնասիրել անտագոնիստ միկրոբներն ու նրանց անտիբիոտիկ նյութերը և պարզաբանել վերջիններիս պաշտպանիչ դերը, մասնավորապես ծիրանենու բակտերիալ թառամման հարուցչի՝ Bact. armeniaca-ի հանդեպ:

Այդ նպատակի համար մենք փորձերը դրել ենք ստերիլ պայմաններում՝ մոդելային բույսերի վրա: Փորձերը ցույց տվին, որ որպես մոդելային բույսեր հնարավոր է օգտագործել առվույտը և վիկը: Այս բույսերը թեպետ արհեստական վարակման դեպքում բակտերիալ թառամումով չեն վարակվում, բայց այդ վարակումը բացասական ազդեցություն է գործում նրանց սերմերի ծլուճակության և հետագա աճման վրա: Տվյալ նպատակի համար փորձերը դրվել են մեծ փորձանոթներում՝ Կովրոցկայի սննդանյութի վրա: Վարակված սերմերը մշակվել են ակտինոմիցետներից ստացված տարրեր անտիբիոտիկ նյութերով՝ նատիվ ձևով:

Մոդելային բույսերի վրա դրված փորձերի արդյունքները ցույց տվին, որ անտիբիոտիկ նյութերից մի քանիսը Bact. armeniaca-ին թույլ չեն տալիս վարակել բույսերը: Անտիբիոտիկ նյութերով մշակված և Bact. armeniaca-ով վարակված սերմերը տալիս են նորմալ ծլուճակություն ու աճեցողություն, իսկ անտիբիոտիկ նյութերով չմշակված սերմերի մեծ մասը կամ չի ծլում կամ եթե ծլում է, չի աճում:

Ստերիլ պայմաններում դրված փորձերի տվյալները հիմք ընդունելով, հետագայում փորձեր դրեցինք ծիրանենու վայրակների և տնկիների վրա: Այդ նպատակի համար ծիրանենու վայրակների

մի մասը վարակվել է Bact. armeniaca -ով և ապա մշակվել անտիբիոտիկ նյութերով, իսկ մյուս մասը սկզբում մշակվել է անտիբիոտիկ նյութերով և նոր միայն վարակվել Bact. armeniaca-ով:

Անտիբիոտիկ նյութերով վայրակների կամ տնկիների մշակումը կատարվել է սրսկման ու ներծծման եղանակով: Այս փորձերի մեջ կատարվել է սրսկման ու ներծծման եղանակով մշակված արդյունքները ցույց տվին, որ անտիբիոտիկ նյութերով մշակված և ապա բակտերիաներով վարակված ծիրանենու վայրակների մեծ մասը մնում է առողջ, իսկ Bact. armeniaca-ով վարակված և ապա անտիբիոտիկ նյութերով մշակված վայրակներում դրական արդյունք ստացվում է միայն 48—94 ժամ հետո:

Պարզվեց նաև, որ անտիբիոտիկ նյութերի ներծծումը բույսի մեջ կատարվում է շատ արագ և նրա մեծ դոզաները տոքսիկ ազդեցություն են գործում բույսի աճման վրա, ընդ որում ծիրանենու բակտերիալ թառամում հիվանդության դեմ պայքարելու համար ամենալավ դոզան, ինչպես ցույց տվին փորձերը, համարվում է անտիբիոտիկ նյութերի 700 միավորը: