

С. А. Авакян

О некоторых биологических особенностях возбудителей усыхания персиковых деревьев

Выявление возбудителей нового заболевания персиковых деревьев, названного нами усыханием, вызвало необходимость изучения также биологических свойств. Поскольку возбудители этого заболевания на персиковых деревьях описываются впервые, исследование их биологических особенностей представляет интерес как с практической, так и теоретической точки зрения.

Одним из наиболее важных факторов, оказывающих влияние на физиологические процессы живых организмов, является реакция среды. Известно, что грибные организмы в основном развиваются успешнее в кислой среде, в то время как для бактерий требуется слабо щелочная среда. Однако разные виды грибов имеют различный оптимум и крайние точки кислотности. Как указывает Наумов (1937), отношение различных грибов к кислотности среды изучено довольно хорошо и для многих видов можно указать кардинальные точки pH. Однако в отношении видов *Dothiorella* в литературе нам не удалось обнаружить такие сведения. Поэтому нами были поставлены опыты с целью выяснения оптимума кислотности и кардинальных точек pH, для развития как грибного *Dothiorella stromatica* f. *persicae*, так и бактериального возбудителя усыхания персиковых деревьев *Bacterium dissolvens* f. *persicae*.

Работа проводилась путем испытания роста чистых культур *Dothiorella stromatica* f. *persicae* и *Bacterium dissolvens* f. *persicae* на питательных средах с различным pH. В качестве среды использовался 5% суслый агар. При помощи потенциометра определялась реакция среды, затем она приводилась к определенной величине. В сторону кислую

это производилось при помощи разбавленной серной кислоты, в сторону щелочную — при помощи 10% соды (углекислого натрия). Таким образом, заготавлился сусло-агар с различным значением pH (от 3 до 10).

На средах с различным значением pH был испытан рост трех штаммов *Bacterium dissolvens* f. *persicae* и трех штаммов гриба *Dothiorella stromatica* f. *persicae*. Наблюдения за интенсивностью роста культур производились в основном на вторые и пятые сутки для *Bacterium dissolvens* и на вторые, пятые, десятые и тридцатые сутки для грибов. Культуры выращивались при температуре 25—27°C. Интенсивность роста культур определялась по шестибальной шкале, где наименьший балл $\pm$ означал незначительный рост колонии, а 5+ — максимальный рост.

Результаты опытов сведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1
Влияние реакции среды на рост *Bacterium dissolvens* f. *persicae*

Значение pH	Интенсивность роста различных штаммов культур (в баллах)					
	№ 17		№ 41		№ 100	
	2 сут.	5 сут.	2 сут.	5 сут.	2 сут.	5 сут.
3	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
4	2+	2+	$\pm$	+	2+	2+
5	5+	5+	+	3+	4+	4+
6	4+	4+	2+	4+	5+	5+
7	4+	5+	2+	5+	4+	5+
8	3+	4+	+	3+	4+	4+
9	+	3+	+	+	2+	3+
10	—	—	—	—	+	2+

Наблюдения показали, что культура *Bacterium dissolvens* f. *persicae* на сусло-агаре дает рост в основном в пределах pH 3—9 (табл. 1). Оптимальный рост этих бактерий наблюдается при значении pH в пределах от 5 до 7, в зависимости от штамма. Отмечается, что с увеличением возраста культур пределы pH расширяются в сторону щелочную.

Таблица 2

Влияние реакции среды на рост грибного возбудителя
Dothiorella stromatica f. *persicae*

Значение pH	Интенсивность роста различных штаммов культур (в баллах)									
	№ 20 ₁					№ 77				
	2 сутки	5 сутки	10 сутки	30 сутки	образо- вание пикнид	2 сутки	5 сутки	10 сутки	30 сутки	образо- вание пикнид
3	+	+	3+	4+	2+	—	+	2+	3+	3+
4	3+	3+	3+	4+	5+	+	2+	2+	3+	4+
5	3+	3+	4+	4+	4+	2+	3+	3+	3+	4+
6	4+	4+	4+	4+	3+	3+	4+	4+	4+	3+
7	4+	4+	4+	4+	—	2+	3+	3+	3+	—
8	2+	2+	2+	2+	—	+	+	2+	2+	—
9	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Культуры гриба *Dothiorella stromatica* на сусло-агаре растут в основном в пределах pH от 3 до 8 (табл. 2). Оптимальный рост отмечается при значении pH от 5 до 7. С увеличением возраста культур грибов возрастает интенсивность их роста и расширяются пределы pH в основном в сторону кислую. Образование пикнид на сусло агаре происходит при pH 3–6, оптимальной же реакцией для образования пикнид является pH 4–5.

Таким образом, возбудители усыхания как грибной, так и бактериальной для своего развития требуют почти одинаковые условия кислотности.

При культивировании *Bacterium dissolvens* на мясопептонном агаре было замечено, что они требуют частую, через каждые пятнадцать дней перевивку, на свежий агар. В случае задержки перевивки более двадцати дней при их переносе на свежий мясопептонный агар они не дают роста без предварительного обогащения в мясопептонном бульоне.

С целью выяснения причины задержки роста культуры нами был поставлен опыт по выявлению изменений реакции среды под влиянием роста *Bacterium dissolvens* f. *persicae*. В три одинаковые колбы с мясопептонным бульоном был

произведен посев трех разных штаммов *Bacterium dissolvens* f. *persicae*. Контролем служил тот же бульон без культуры бактерий. По мере роста культур производилось определение реакции бульона в каждой колбе, рН определялся потенциометром на четвертые, девятые, девятнадцатые и двадцать девятые сутки роста культур. Результаты опыта приведены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние роста *Bacterium dissolvens* f. *persicae* на рН среды

Варианты	рН бульона			
	на 4 сут.	на 9 сут.	на 19 сут.	на 29 сутки
Контроль	6,74	6,74	6,74	6,74
Штамм № 17	7,44			
Штамм № 41	7,70	9,45	10,0	8,94
Штамм № 27	7,80	9,5	9,83	

Как видно из данных табл. 3, уже на четвертые сутки в зараженных колбах по сравнению с контрольной отмечается увеличение рН под влиянием роста бактерий. В последующие сутки рН постепенно нарастает, на девятнадцатые сутки отмечается максимальный рН.

Наблюдаемое подщелачивание среды, по-видимому, происходит вследствие выделения аммиака.

Нашими предыдущими исследованиями установлена способность *Bacterium dissolvens* f. *persicae* выделять аммиак (Авакян—1957). Накопление аммиака оказывает, по-видимому, угнетающее влияние на бактерии, поэтому они без предварительного обогащения не растут. В литературе имеются указания на угнетающее влияние аммиака на микроорганизмы. Образование аммиака в культурах различных грибов наблюдалось многими авторами. В силу этого обстоятельства, пишет Купревич (1947), многие авторы как за рубежом, так и особенно у нас в СССР склонны считать аммиак специфическим токсином грибов.

В отношении причин увядания, вызываемого грибами, существует два мнения. Ряд авторов (Smith, 1899 г., Reynolds, 1912 г. и др.) как указывает Купревич (1947), считает причиной увядания механические повреждения или закупорку сосудов, большинство же исследователей (Ward, 1902 г., Brandes, 1919, Bisby, 1919 и др.) объясняет действием выделяемых грибом токсинов.

Поскольку усыхание персиковых деревьев относится к типу сосудистых заболеваний и помимо *Bacterium dissolvens f. persicae* основным его возбудителем является грибок *Dothiorella stromatica f. persicae* было необходимо выяснить обладает ли он токсическими свойствами.

Прежде чем приступить к этим опытам необходимо выявить наиболее оптимальные для роста гриба *Dothiorella stromatica f. persicae* искусственные питательные среды.

С этой целью были проведены работы по испытанию роста трех штаммов этого гриба на различных питательных средах.

Испытывались следующие восемь сред: сусло-агар, картофельный агар простой, картофельный агар с 3% сахарозой и глюкозой, бобовый агар с 1% глюкозой и 2% глицерином, среды Чапека и Чапека Докса.

Учет интенсивности роста культур производился по шкале:

- 3+очень хороший рост
- 2+хороший рост
- 1+средний рост
- ±слабый рост
- отсутствие роста

Результаты работ по выяснению интенсивности роста культур на различных средах сведены в табл. 4. По этим данным наилучшей средой для развития гриба *Dothiorella stromatica f. persicae* является сусло-агар, следующее место занимает картофельный агар с глюкозой. На остальных средах с сахарами рост в общем посредственный, на картофельном простом агаре без сахара и на средах Чапека рост грибов в основном слабый. Отмечается также, что среды, обла-

дающие более низким рН, более благоприятны для роста исследуемых культур грибов.

После выявления наилучших искусственных питательных сред для оптимального роста гриба *Dothiorella stromatica*, мы приступили к изучению токсических свойств этого гриба. Как указывает Купревич (1947), рядом авторов (Brandes, Bisby, 1919 г. и др.) ранее были поставлены опыты с культивированием в жидкой питательной среде различных видов грибов, как-то *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium* и др.

Эти опыты показали, что фильтраты из культур этих грибов по истечении нескольких часов вызывают увядание растений, в то время как чистая среда и вода к увяданию не приводят. В 1954 г. нами были поставлены аналогичные ориентировочные опыты в отношении гриба возбудителя персиковых деревьев.

Таблица 4

Интенсивность роста культур грибов на различных питательных средах

Название питательных сред	Рост на 7 суток			
	№ 125	№ 77	№ 148	рН среда
Сусло-агар	3+	3+	2+	5,5-6
Картофельный агар (Ка)	±	±	±	7
Ка + 3% сахарозы	+	+	+	7
Ка + 0% глюкозы	2+	2+	2+	6,5
Бобовый агар с 1% глюкозы	+	+	2+	6,5-7
Бобовый агар с 2% глицерином	+	+	+	7
Среда Чапека	±	±	+	6-6,5
Среда Чапека — Докса	+	+	±	6-6,5

Эти опыты показали, что фильтраты из культур гриба *Dothiorella stromatica*, выращенного на картофельном экстракте с 3% глюкозой, вызывают увядание по истечении двух суток. Поскольку за двое суток выдерживания растений в фильтрате могло произойти его загрязнение микроорганизмами, полученные данные требовали проверки. В связи с

В 1955 году опыт по выявлению токсических свойств культур гриба *Dothiorella stromatica* f. *persicae* был повторен с большим числом повторностей. Пять штаммов чистых культур *Dothiorella stromatica* f. *persicae* было посеяно в пяти различных жидких питательных средах. В число испытываемых искусственных питательных сред были включены сусло 5°, картофельный экстракт с 3% глюкозой, бобовый экстракт с 2% глицерином, персиковый экстракт с 2% сахарозой и экстракт Ричарда. Контролем служила стерильная вода и жидкая стерильная среда без культуры гриба.

Колбы с питательной средой, зараженные чистой культурой грибов, выдерживались при оптимальной температуре роста в термостате в течение двух месяцев. Всего под опытом было 86 колб с жидкими питательными средами.

По истечении двух месяцев содержимое зараженных культурой гриба колб было профильтровано, при этом одна часть фильтрата была подвергнута стерилизации, другая же часть оставлена без стерилизации. Испытание влияния фильтратов культур *Dothiorella stromatica* f. *persicae* на растения проводилось путем опускания семян персика в эти фильтраты. Опыт ставился в основном в двух-трех повторностях, всего под опытом было 114 растений.

Наблюдения над состоянием растений, опущенных в фильтраты культур, проводились через 2, 24 и 48 часов. В табл. 4 приводится средний процент увядших растений из числа опущенных в фильтраты культуры различных штаммов грибка *Dothiorella stromatica* f. *persicae*.

Наблюдения показали (табл. 4), что в воде ни одно растение не увяло ни через 2 часа и ни через 24 и 48 часов. Из питательных сред сусло 5° и бобовый экстракт с 2% содержанием глицерина оказались непригодными для выявления токсических свойств средами, т. к. они и в контроле жидкой среде, не зараженной культурой грибка, вызывали увядание растений.

Из растений персиков, опущенных в стерильный фильтрат культур *Dothiorella stromatica* f. *persicae*, выращенных на картофельном экстракте с 3% глюкозой, уже через 2 часа 50% увяло, а из опущенных в не стерильный филь-

Таблица 4

Токсическое влияние фильтратов культур *Dothiorella stromatica*
f. *persicae* на сеянцы персика

Название сред, использованных для культивиро- вания грибка	Испытываемые жидкости	% растений, увяд- ших в фильтрате грибка		
		через 2 часа	через 24 часа	через 48 часов
Картофельный экстракт с содер- жанием 3% глю- козы	Контроль — вода	0	0	0
	Фильтрат культуры гриба, сте- рилизированный	5	28	90
	Фильтрат культуры гриба, не- стерилизованный	25	25	100
	Контроль — жидкая среда	0	0	12,5
Экстракт Ричарда	Фильтрат культуры гриба, сте- рилизированный	0	0	80
	Фильтрат культуры гриба, не- стерилизованный	0	100	100
	Контроль — жидкая среда	0	0	0
Персиковый экстракт	Фильтрат культуры гриба, сте- рилизированный	20	20	60
	Фильтрат культуры гриба, не- стерилизованный	33	33	50
	Контроль — жидкая среда	0	0	12
Сусло 5°	Фильтрат культуры гриба, сте- рилизированный	15	51	92
	Фильтрат культуры гриба, не- стерилизованный	50	66,6	75
	Контроль — жидкая среда	75	100	100
Бобовый экстракт с 2% глицерином	Фильтрат культуры гриба, сте- рилизированный	50	60	80
	Фильтрат культуры гриба, не- стерилизованный	50	66	100
	Контроль — жидкая среда	30	60	80

рат—25%. Через 24 часа процент увядших растений с 5 до-
стиг 28, в то время как растения, опущенные в контроль-

Экспериментальные колбы, где находилась та же питательная среда без культуры гриба, остались без изменений.

Через 48 часов процент увядших растений в этом фильтрате достиг 90--100. Некоторый процент увядания контрольных растений, по-видимому, объясняется загрязнением среды.

Фильтраты культур грибов, посеянных на экстракт Ричарда, через два часа не привели к увяданию растений, однако через 24 часа в нестерилизованных фильтратах культуры *Dothiorella stromatica* отмечалось 100% увядание, при сохранении в нормальном состоянии растений в контроле среды, а через 48 часов увяло также 80% растений, опущенных в стерильные фильтраты гриба *Dothiorella stromatica*.

Фильтраты культуры гриба, выращенного на персиковом экстракте, уже через два часа вызвали увядание 20--33% растений, в то время как в контроле среды сеянцы остались нормальными.

Опыты показали, что фильтраты культуры гриба *Dothiorella stromatica* f. *persicae* вызывают увядание сеянцев персика через 2 часа после воздействия ими на растения или через 24 часа в зависимости от штамма и питательной среды.

Наилучшей средой для выявления токсических свойств *Dothiorella stromatica* f. *persicae* оказались картофельный экстракт с 3% глюкозой и персиковый экстракт.

В токсическом влиянии стерилизованных и нестерилизованных фильтратов резкой разницы не замечалось, однако при росте гриба на некоторых средах, в частности на экстракте Ричарда, нестерилизованные фильтраты оказались более токсичными, чем стерилизованные. По-видимому, токсины, выделяемые на этой среде, термолабильны.

Таким образом, в результате проведенных лабораторных исследований выяснилось, что культуры гриба *Dothiorella stromatica* обладают токсическими свойствами, которые проявляются в различной степени в зависимости от состава питательной среды.

Выводы

1. Возбудители усыхания *Dothiorella stromatica* f. *persicae* и *Bacterium dissolvens* f. *persicae* для своего развития требуют почти одинаковые условия кислотности.
2. Культуры гриба *Dothiorella stromatica* f. *persicae* развиваются в пределах pH 3—8, оптимальный рост отмечается при pH 5—7.
3. Культуры *Bacterium dissolvens* f. *persicae* растут в пределах pH 3—9, оптимальный рост отмечается при pH 5—7.
4. *Bacterium dissolvens* f. *persicae* при росте на мясопептонном бульоне в значительной степени подщелачивает его с pH 6,74 до 10, что, по-видимому, в основном объясняется выделением микроорганизмом аммиака.
5. Наилучшей искусственной питательной средой для роста и развития *Dothiorella stromatica* f. *persicae* является сусло-агар и картофельный агар с 3% глюкозой.
6. Культуры гриба *Dothiorella stromatica* f. *persicae* обладают токсическими свойствами, которые проявляются в различной степени в зависимости от состава питательной среды.
7. Наилучшей средой для выявления токсических свойств *Dothiorella stromatica* f. *persicae* являются картофельный экстракт с 3% глюкозой и персиковый экстракт.

Ս. Ա. ԱՎԱԿՅԱՆ

ԴԵՂՋԵՆՈՒ «ՋՈՐԱՑՈՒՄ» ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ
ՀԱՐՈՒՑԻՋՆԵՐԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ԲԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ
ԱՌԱՆՋՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Դեղձենու չորացում հիվանդության հարուցիչների հալոնա-
բերումը հրատապ հարց առաջացրեց ուսումնասիրելու նրանց բիո-
լոգիական առանձնահատկությունները:

Ինչպես հայտնի է, միջավայրի ռեակցիան կենդանի օրգանիզմների ֆիզիոլոգիական պրոցեսների վրա ազդող կարևորագույն գործոններից մեկն է: Այդ տեսակետից էլ մեզ անհրաժեշտ էր առաջին հերթին պարզել ղեղձնու «չորացում» հիվանդության հարուցիչներ՝ *Bacterium dissolvens* f. *persicae*-ի ու *Dothiorella stromatica* f. *persicae*-ի զարգացման համար թթվության օպտիմալ պայմանները և pH-ի սահմանները:

Այդ ուղղությամբ մեր կատարած հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ ղեղձնու «չորացում» հիվանդության հարուցիչները՝ թի՛ անկերը և թի՛ բակտերիաները, իրենց զարգացման համար պահանջում են թթվության համարյա միանման աստիճան: Այսպես, օրինակ, *Dothiorella stromatica* f. *persicae* սունկը կարող է զարգանալ pH = 3—8-ի սահմաններում, իսկ նրա աճեցողության օպտիմալ pH = 5—7, *Bacterium dissolvens* f. *persicae*-ն կարող է զարգանալ pH = 3—9-ի սահմաններում, իսկ նրա օպտիմալ աճեցողությունը նկատվում է, երբ միջավայրի pH = 5—7-ի:

Մեր հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ *Bacterium dissolvens* f. *persicae*-ն մսապեպտոնային հեղուկ սննդամիջավայրում զարգանալով, հիմքալնացնում է ալին և նրա ռեակցիան հասցնում՝ pH = 6,74—10-ի: Միջավայրի ռեակցիայի նման փոփոխությունները հիմնականում կապված է միկրոօրգանիզմի կենսագործունեության ընթացքում առաջացած տմիակի հետ:

Մենք ուսումնասիրել ենք նաև *Dothiorella stromatica* f. *persicae* սնկի տոքսիկ հատկությունները:

Մեր ուսումնասիրությունները ցույց տվին, որ *Dothiorella stromatica* f. *persicae* սունկն ունի տոքսիկ հատկություն: Վերջինս, նախած սննդամիջավայրի բնութիւն, կարող է արտահայտվել տարբեր կերպ: Այսպես, օրինակ, սնկի տոքսիկ հատկությունն առավել լավ է արտահայտվում, երբ նա զարգանում է կարտոֆիլից և ղեղձից պատրաստված սննդամիջավայրերում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Авакян С. А., Этиология усыхания персиковых насаждений АрмССР. Вопросы с.-х. и промышленной микробиологии, вып. III (IX), 1957.
Купревич В. Ф., Физиология больного растения. М.-Л. 1947.
Наумов Н. А., Методы микологических и фитопатологических исследований, М.-Л. 1937.