

А. Д. Налбандян

О токсинах увядания грибов *Fusarium* и их инактивации

Многими авторами установлено образование различными грибами токсинов, сильно угнетающих рост растений. Такие вещества найдены в продуктах жизнедеятельности грибов рода фузариум (О. К. Элпидина—1935, С. Медведева—1937, В. И. Билай—1955, Е. Т. Никитина—1958).

Токсин грибов фузариум был выделен в чистом виде и назван фузариновой кислотой. Ряд авторов изучил образование фузариновой кислоты различными видами фузариума и характер их действия на некоторые растения (Gaimann—1957, 1958, Kalynasundaram a. Venketa Ram—1956, 1958). Фитотоксины были обнаружены и у других патогенных для высших растений грибов, как, например, *Phytophthora investans* (Ronnebeck—1956), *Helminth. sativum* (Hrushovet—1957), *Verticillium dahliae* (Kamal and Wood—1956).

Настоящая работа посвящена изучению образования токсинов грибами *Fusarium culmorum* и *Fusarium lini* и их инактивации.

Культуры грибов нам были предоставлены лабораторией микологии Всесоюзного института защиты растений. Для получения культуральных жидкостей грибов были использованы следующие питательные среды:

1. Среда № 19*.
2. Разваренные зерновки пшеницы.
3. Отвар пшеничных зерновок.
4. Синтетическая среда Рихарда**.
5. Стерильная почва (огородная).

* Состав среды № 19 — капустный отвар, 2,5%, суслу и 0,1%-ный кукурузный экстракт.

** Состав среды Рихарда— KNO_3 —10 г, KH_2PO_4 —5 г, FeCl_2 —20 г., глюкоза—50 г на литр водопроводной воды.

6. Стерильная почва с добавлением 0,1% пептона.

Среды 2 и 3 готовились следующим образом. Зерна пшеницы разваривались при температуре 80—90° в течение 20—25 мин. и полученный отвар фильтровался через обычную фильтровальную бумагу, а затем стерилизовался в автоклаве при 1 атм.

Для приготовления сред 5 и 6 почва просеивалась через сито и в одном варианте [6] добавлялся 0,1% пептона. Во всех средах pH был равен 7,0.

После стерилизации все колбы, кроме контрольных, заражались суспензией 5—7-суточных культур (1 мл в каждую колбу) *F. culmorum* и *F. lini* и помещались в термостат во влажную камеру при температуре 25—28°C на 23—20 суток. В конце опыта проводились наблюдения за образованием пленки на поверхности сред, в вытяжках (почва, зерновки) и фильтратах определялся аммиачный и аминный азот. Аммиачный азот определялся реактивом Несслера, а аминный азот — 0,5% раствором нингидрина (М. В. Федоров—1959). Титр образуемых веществ определялся методом разведения с тест-микробом *Bact. coli*. На среде из отвара пшеничных зерновок пленка гриба была тонкой и было мало воздушного мицелия. На разваренных зерновках пшеницы гриб полностью покрывает поверхность среды и проникает до дна колбы. На стерильной почве без пептона и с пептоном рост гриба слабый, мицелий не закрывает всей поверхности почвы. На среде Рихарда образуется толстая пленка гриба.

Для определения аммиачного и аминного азота в колбы с разваренными зерновками пшеницы и со стерильной почвой с пептоном и без него наливалось по 50 мл дистиллированной воды, колбы взбалтывались и оставлялись на 30—40 мин., после чего жидкость отфильтровывалась. Жидкие среды фильтровались через обычную фильтровальную бумагу, пленка гриба высушивалась и взвешивалась на аналитических весах (табл. 1).

Как показывают данные таблицы, на отваре разваренных зерновок хороший рост дает *Fusarium lini*, а на среде Рихарда — *Fusarium culmorum* и *Fusarium lini*.

Таблица 1

Вес образовавшегося мицелия на средах Рихарда и на отваре разваренных зерновок

Варианты	Вес мицелия в мг	
	<i>F. culmorum</i>	<i>F. lini</i>
Отвар разваренных зерновок пшеницы	140	320
Среда Рихарда	625	470

Во всех вариантах опыта в фильтратах сначала определялся аммиачный азот, потом фильтраты нейтрализовались лимонной кислотой до pH 7 и определялся аминный азот.

Результаты этого опыта показали, что во всех средах (кроме среды Рихарда) образовался аммиак, однако на разваренных зерновках пшеницы его образование слабо. Несмотря на хороший рост грибов, образования аммиака на среде Рихарда не наблюдалось. Образование аминного азота наблюдалось только на среде разваренных зерновок пшеницы. Отсутствие аминного азота в остальных средах объясняется, вероятно, быстрым превращением аминокислот в аммиак. Среда разваренных зерновок богаче белками, чем остальные среды. Этим, вероятно, можно объяснить тот факт, что при распаде белка на этой среде образуется большое количество аминокислот, часть которых не разлагается до аммиака и накапливается в среде. Токсическое начало образуется при тех биохимических процессах, при которых выделяется аммиак, который является или веществом-спутником, или токсическим началом (О. К. Элпидина—1935, С. Медведева—1937). В своих дальнейших исследованиях Элпидина пришла к заключению, что аммиак является токсическим началом. Однако факт выделения фузариновой кислоты, оказавшейся токсичной для растений, дает возможность предположить, что токсичность культуральной жидкости грибов объясняется наличием фузариновой кислоты, аммиак же при этом является скорее спутником.

Культуральные жидкости вышеуказанных грибов были изучены на различных растениях (пшеница, лен и клевер). Были испытаны 4—15-суточные культуры грибов, выращенных

при 25—28°C на среде № 19, которая оказалась наиболее подходящей для роста грибов. На этой же среде при росте грибов происходило активное выделение аммиака. Проводимые опыты показали, что простерилизованные фильтраты грибов даже при двух атмосферах не теряют токсичности, т. е. они термостабильны. Термостабильность токсинов грибов из рода фузариум отмечает также В. И. Билай (1955).

Для установления токсичности культуральных жидкостей грибов фузариум на растениях был поставлен опыт, в котором каждая культура фузариум испытывалась на трех растениях (пшеница, лен и клевер). В большие пробирки (длина 35 см, диаметр 4,5 см) наливали по 100 мл среды Прянишникова с 0,5% агаром, стерилизовали и в каждую пробирку прибавляли по 5 мл культуральной жидкости гриба. В контрольные пробирки добавлялось по 5 мл стерильной воды. На застывшую поверхность среды высевалось по 6 стерильных семян пшеницы, льна или клевера. Опыт продолжался 14 дней. Опыты показали, что влияние культуральных жидкостей разных видов фузариум на рост растений проявляется по-разному. Культуральные жидкости *Fusarium culmorum* сильно угнетают пшеницу, лен и клевер. Культуральные жидкости *Fusarium lini* слабо угнетают рост пшеницы и сильно рост льна и клевера (рис. 1, 2).

Результаты наших исследований совпадают с указанием Н. А. Красильникова (1952) о том, что токсин *Botr. cinerea* проявляет различную токсичность—сильно токсичен для березы, но слабо токсичен для липы, бузины и дуба.

Известно также (Райлло—1950, Билай—1955), что определенные виды фузариум проявляют патогенность по отношению к определенным растениям. Например, *Fusarium lini* считается почти специализированным паразитом льна, *Fusarium culmorum* является возбудителем увядания всходов пшеницы и т. д.

Наши исследования показали, что культуральные жидкости этих грибов могут угнетать рост разных растений с несколько различной активностью. Ниже, в табл. 2, приводятся данные о влиянии токсинов вышеуказанных культур на угнетение корней пшеницы и льна.

Т а б л и ц а 2

Влияние токсинов фузариум на развитие корневой системы растений

Варианты	Длина кор- ней в см	Длина над- земной части в см
Контроль (без культуральной жидкости) (лен)	3,3	16,5
Культуральная жидкость <i>F. lini</i> (лен)	2,2	16,2
Контроль (без культуральной жидкости) (пше- ница)	8,0	20,5
Культуральная жидкость <i>F. culmorum</i> (пше- ница)	1,0	19,8

Калианасундарам (1954), Гейман (1957) описывают разрушительное действие токсинов фузариум на клетки растительных органов. Нами у больных и здоровых растений пшеницы делались продольные срезы корней и затем микроскопировались. Под микроскопом были видны разрушенные клетки сосудов угнетенных корней. В здоровых корнях растений разрушенных клеток не было обнаружено (рис. 3, 4).

После установления образования токсинов испытуемыми нами культурами мы заложили опыт для наблюдения за сроком образования и динамикой накопления токсинов в среде.

Наблюдение за динамикой образования и накопления токсинов производилось методом разведения культуральной жидкости грибов (Н. А. Красильников—1950). Учет производился по росту тест-микроба. Культуры грибов выращивались в жид-

Т а б л и ц а 3

Динамика накопления токсина в культуральных жидкостях
Fusarium culmorum и *Fusarium lini*

Варианты	Активность культуральной жидкости в ед.			
	после 3-дневно- го роста гриба	после 5-дневно- го роста гриба	после 13-дневно- го роста гриба	после 20-дневно- го роста гриба
Культуральная жидкость <i>F. culmorum</i>	64	256	512	512
Культуральная жидкость <i>F. lini</i>	64	256	512	512

кой питательной среде № 19. Наблюдения проводились на 3, 5, 13, 20-е сутки после посева грибов.

Как показывают данные табл. 3, основное накопление токсинов в среде происходит за срок от 3 до 5 дней роста гриба. В дальнейшем, после 13-дневного роста накопление токсинов продолжается, но в меньшей степени, чем в первые 5 дней.

Вероятно, 13-дневная культуральная жидкость содержит самое большое количество токсина. Опыты, проводимые с этими культуральными жидкостями грибов на растениях, показали, что уже 3-дневная культуральная жидкость задерживает образование корневой системы растений.

В литературе приводятся аналогичные данные. Н. А. Красильников (1953) отмечает, что накопление токсинов гриба *Botr. cinerea*, выращенного на пивном сусле, на 3—4-е сутки достигает максимума — 300—400 ед./мл и за 10—15 час вызывает увядание растений. Гейман (Gauman—1958) установил, что на 4—6-е сутки роста гриба фузариум происходит сильное накопление фузариновой кислоты, разведение которой 10¹⁷ на рассаду томатов действует уже угнетающе.

Однако образование токсина на средах еще не говорит об его образовании в растении, поэтому, для установления наличия токсина в растении, нами проводились опыты в стерильной и нестерильной почве, в которой выращивались растения с культуральной жидкостью гриба и самим грибом.

В каждую чашку насыпалось по 200 г огородной почвы. В одном варианте в почву вносилось 30 мл культуральной жидкости гриба, во втором варианте—30 мл густой суспензии гриба. Контрольные чашки поливались 30 мл стерильной воды. В каждую чашку высевалось по 20 зерен пшеницы (сорт Московка).

В дальнейшем, все чашки поливались стерильной водой. Опыт продолжался 15 дней. На 5, 7 и 13-й день после посева определялась длина корней и надземных органов, в конце опыта выявилось наличие токсина в растении с тест-микробом *Bact. coli*.

Приведенные в табл. 4 данные показывают, что в вариантах, зараженных мицелием *F. culmorum*, а также в присутствии фильтратов этого гриба растения развиваются слабо и

Таблица 4
Влияние живых клеток и культуральной жидкости гриба
F. culmorum на рост растений в стерильной почве

Варианты	5-й день после посева			7-й день после посева			13-й день после посева		
	Количество ра- стений	Длина, см		Количество растений	Длина, см		Количество ра- стений	Длина, см	
		корней	надземной части		корней	надземной части		корней	надземной части
Контроль	10	4,9	2,5	10	6,5	10,5	10	13,0	21,4
Внесена суспензия ми- целия <i>F. culmorum</i> . .	10	1,2	1,7	10	2,0	2,3	10	растения увяли	
Внесена культуральная жидкость <i>F. culmorum</i>	10	0,8	1,9	10	1,6	3,2	10	растения увяли	

гибнут на 8—10-е сутки после появления всходов. В нестерильной почве развитие растений происходило нормально. По-видимому, в нестерильной почве культуральная жидкость теряет свое токсическое свойство. Для выявления причины гибели пораженные всходы поверхностно стерилизовались 3 раза 96° спиртом и промывались стерильной водой. Обработанные таким образом растения размельчались в ступке до состояния кашицы, и небольшие количества этой кашицы накладывались на поверхность питательного агара (МПА), засеянного *Bact. coli*.

Под влиянием токсина в обоих вариантах выявились зоны подавления тест-микроба. Наличие мицелия гриба (второй вариант) было установлено путем микроскопирования срезов корней и стеблей растений. Следовательно, гриб, проникая внутрь растения, образует токсин, который, вероятно, и является причиной гибели растений. Последний в стерильной почве не инактивируется и сохраняет свое токсическое действие.

Токсическое влияние многих веществ можно уничтожить, применяя некоторые почвенные микроорганизмы, выделяющие антитоксины. Однако в литературе нам не удалось встретить

работы, посвященные возможности инактивации токсина, выделяемого грибами из рода фузариум.

Нами была сделана попытка выбрать микроорганизмы, которые оказались бы способными инактивировать ядовитые свойства токсина гриба *Fusarium culmorum*.

Предварительные опыты показали, что культуральные жидкости гриба при внесении в нестерильную почву теряют токсическое влияние на рост растений. Это привело нас к мысли, что в нестерильной почве происходит инактивация токсина, в результате чего не сказывается токсичное влияние последнего на рост растений. Инактивация этого вещества в почве могла произойти либо в результате адсорбции самой почвой, либо в результате биологического разрушения. Для проверки адсорбционной способности почвы к 100 мл культуральной жидкости гриба добавлялось 5—10 г огородной почвы и все взбалтывалось 15 мин. Одновременно к 100 мл культуральной жидкости гриба добавлялось 1,5—3 г активированного угля в качестве контроля и взбалтывалось такой же промежуток времени. После этого жидкость фильтровалась через обычную фильтровальную бумагу и стерилизовалась при 0,5 атм. 20 мин.

Влияние токсина на растение определялось следующим образом: в большие пробирки (длина 35 см, диаметр 4,5 см) наливалось по 100 мл среды Прянишникова с 0,5% агара, стерилизовалось и в каждую пробирку прибавлялось по 5 мл культуральной жидкости гриба, культуральной жидкости гриба после обработки углем и культуральной жидкости гриба после обработки почвой. В контрольные пробирки добавлялось по 5 мл стерильной воды. На поверхность среды высевались стерильные семена пшеницы. Опыт был заложен в 5-кратной повторности и продолжался 14 дней. Результаты опыта показали, что в контрольных пробирках и в пробирках с фильтратом, обработанным углем, растения росли нормально и давали развитую корневую систему, а в варианте, где культуральная жидкость гриба была обработана почвой, корневая система растений не развивалась и растения увяли. Это показывает, что токсин не адсорбируется почвой или адсорбируется в не-

значительном количестве, активированный же углем он почти полностью адсорбируется.

Для того чтобы доказать, что инаktivация токсинов происходит биологическим путем, нами были поставлены следующие опыты: В колбы Эрленмейера емкостью 250 мл наливалось по 100 мл культуральной жидкости гриба и прибавлялось 5—10 г огородной почвы, после этого колбы выдерживались в термостате при температуре 28°C. Через 3—5—8 суток из этой жидкости брались пробы, стерилизовались и определялась токсичность по отношению к растению.

Опыты на растениях были поставлены по вышеуказанной методике на агаризованной среде Прянишникова. Повторность каждого опыта пятикратная. В конце опыта велись наблюдения по развитию корней растений. Как показали данные, культуральная жидкость гриба теряет токсичность через 8 суток после заражения микроорганизмами почвы. Этот опыт доказывает, что инаktivация происходит путем биологического разрушения, а не адсорбции почвой, так как если бы имела место адсорбция, то в течение 3—5 суток мы должны были бы установить отсутствие токсина в среде. После установления отсутствия токсина в жидкости (на 8-е сутки) из этой же среды был сделан посев на агаризованную среду № 19. Чашки помещались в термостат при 28°C. По истечении 3 суток в чашках было обнаружено в основном 5 разных типов колоний бактерий, которые были нами изолированы и очищены.

Чтобы убедиться в том, что инаktivация токсина осуществляется микроорганизмами, дальнейшие опыты проводились с выделенными из почвы бактериями, а также бактериями-антагонистами гриба *Fusarium culmorum* из нашей коллекции.

Красильников (1953) описывает возможность инаktivации токсина, образуемого грибом *Botr. cinerea* с помощью антибиотических веществ актиномицетного происхождения. Эти работы нам дали основание предположить возможность инаktivации токсина *Fusarium culmorum* при помощи бактерий и продуктов их жизнедеятельности.

После 6—8-дневного культивирования гриба в термостате при 28°C среда № 19 освобождалась от мицелия гриба путем фильтрования через обычную фильтровальную бумагу; куль-

туральная жидкость стерилизовалась (по 5 мл в каждой пробирке). Определив активность культуральной жидкости, приступали к следующему этапу, т. е. делали попытку инактивировать токсин с помощью бактерий. Пробирки со стерильной культуральной жидкостью гриба заражались бактериями (по петле в каждую пробирку) и помещались в термостат при 28°C на 7—8 суток. После 8-дневного роста бактерий жидкость фильтровалась и вторично стерилизовалась в автоклаве при 0,5 атмосферы 20 мин. Влияние этих фильтратов на растение изучалось в агаризованной среде Прянишникова по схеме: 1) контроль (стерильная вода), 2) контроль (культуральная

Таблица 5
Инаktivация токсина гриба *Fusarium culmorum* бактериями

Варианты опыта и наименование культур	Длина корней в см	Длина надземной части в см
Контроль (без культуральной жидкости)	8,0	15,6
Контроль (культуральн. жидкость гриба) . . .	2,7	14,1
Культуральная жидкость гриба и культура 5 .	7,2	18,6
" " " " " 1 .	3,4	16,0
" " " " " 2 .	2,8	14,8
" " " " " 3 .	6,9	17,8
" " " " " 4 .	3,6	15,1
" " " культура		
Ps. radiobacter	5,8	17,8
" " " культура		
Bac. megaterium	6,04	15,2
" " " культура		
Myc. globiforme	7,2	20,1
" " " культура		
Ps. liguefaciens	6,2	18,9
" " " культура		
Ps. liguefaciens	5,4	17,2
" " " культура		
Bac. megaterium	5,64	17,8
" " " культура		
Bact. prodigiosum	5,5	17,8

жидкость гриба), 3) культуральная жидкость гриба после 8-дневного роста бактерий. В каждую пробирку с агаризованной средой Прянишникова прибавлялось по 5 мл испытуемой жидкости, в контрольные пробирки по 5 мл стерильной воды. В каждую пробирку высевалось по 6 зерен пшеницы (сорт Московка), заранее простерилизованных парами хлоро-

форма. Средние данные проведенных опытов приводятся в табл. 5.

Как показывают данные табл. 5, в контрольных пробирках (вариантах) рост растений происходит нормально. В варианте только с культуральной жидкостью гриба рост корней угнетался, рост же надземной части токсином не подавляется. В остальных вариантах по сравнению с контролем (2) часть бактерий снимает ядовитое действие токсина (культуры 3, 5, *Muc. globiforme*, *Ps. liquefaciens*), часть слабо или вовсе не инактивирует его (культуры 1, 4, *Bact. prodigiosum*, *Bac. megaterium*, *Ps. radiobacter* и др.). Надо отметить, что в культуральной жидкости гриба растет множество микроорганизмов, но большая часть их не нейтрализует ее токсичности.

Аналогичные опыты были проведены Н. А. Красильниковым (1947) на клевере. Ядовитые вещества для клевера, образуемые *Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, *Ps. ryosuanea*, были инактивированы антитоксинами различных бактерий. Такие бактерии автор называет бактериями-защитниками. Однако Красильниковым были использованы не только сами бактерии, но и продукты их обмена.

В литературе также имеются данные о том, что бактерии в процессе жизнедеятельности на питательных средах, а также в почве продуцируют вещества (токсины, антибиотики, ферменты, витамины и пр.), часть которых подавляет рост растений, некоторые из них подавляют рост фитопатогенных бактерий или инактивируют вещества, продуцируемые болезнетворными микроорганизмами.

Исходя из вышеизложенного, для окончательного суждения по этому вопросу были испытаны вещества, образуемые в процессе жизнедеятельности испытуемых нами бактерий, на инактивацию токсина.

Для выполнения этой задачи мы прибегли к различным методам получения культуральной жидкости бактерий. Предварительные опыты (А. Д. Налбандян, 1960) показали, что антигрибные вещества, образуемые бактериями, термолабильны. Поэтому для фильтрования нативной жидкости бактерий мы воспользовались бактериальным фильтром Зейтца.

Таблица 6

Влияние продуктов обмена бактерий на инактивацию токсина
Fusarium culmorum

Варианты опыта	Длина корней, см	Длина надземной части, см
Контроль (без культуральной жидкости гриба и без фильтратов бактерий)	8,2	18,3
Контроль (культуральная жидкость гриба) . .	2,8	16,9
Культуральная жидкость гриба и фильтрат культуры <i>Muc. globiforme</i>	6,8	17,0
Культуральная жидкость гриба и фильтрат культуры <i>Ps. liqefaciens</i>	7,0	16,9
Культуральная жидкость гриба и фильтрат культуры <i>Ps. fluorescens</i>	6,5	17,2
Культуральная жидкость гриба и фильтрат культуры <i>Vac. megaterium</i>	6,8	18,7
Культуральная жидкость гриба и фильтрат культуры <i>Vac. megaterium</i>	5,4	15,7
Культуральная жидкость гриба и фильтрат культуры 3	5,2	17,6
Культуральная жидкость гриба и фильтрат культуры 5	6,9	19,3

Культуры выращивались в среде № 19 в пробирках (по 8—10 мл в каждой). После 5—7-суточного культивирования в термостате при температуре 28°C жидкость фильтровалась сначала через обычную фильтровальную бумагу, затем через бактериальный фильтр Зейтца, и определялась стерильность жидкости высевом в питательную среду. После этого на каждые 5 мл культуральной жидкости гриба добавляли 2 мл бактериального фильтрата и ставили в термостат на 12—14 час. Наличие или отсутствие токсина определялось по влиянию его на рост растений на среде Прянишникова по вышеописанной методике. Эти опыты проводились неоднократно и дали сходные результаты. В табл. 6 приводятся данные одного из этих опытов.

Как показывают данные табл. 6, при применении продуктов обмена веществ бактерий культур *Ps. liqefaciens*, *Muc. globiforme*, *Vac. megaterium* и культуры 5 по сравнению с контролем (культуральная жидкость гриба) происходит нейтрализация токсичного действия культуральной жидкости гриба (контроль—8,2, культуральная жидкость—2,0). Остальные же культуры токсин инактивируют слабо (рис. 5).

Следующий метод, который применялся в наших исследо-

Т а б л и ц а 7

Инактивация токсичности культуральной жидкости *Fusarium culmorum* при совместном выращивании гриба и бактерий, разделенных коллодийной пленкой

Варианты опыта.	Длина корней растений, см	Длина надземной части растений, см
Контроль (без культуральной жидкости гриба)	8,0	19,2
Контроль (культуральная жидкость гриба)	2,4	15,8
Контроль (культуральная жидкость гриба)+культура <i>Muc. globiforme</i>	7,0	18,4
Контроль (культуральная жидкость гриба)+культура <i>Ps. liquefaciens</i>	6,8	18,0
Контроль (культуральная жидкость гриба)+культура <i>Bac. megaterium</i>	6,8	19,0

ваниях, это совместное выращивание гриба и бактерий с помощью коллодийных гильз, что дает возможность наблюдать за образованием токсина *Fusarium culmorum* при совместном выращивании гриба и бактерий.

В гильзы наливали по 5 мл, а в пробирки 15 мл среды № 19 и стерилизовали в автоклаве при 0,5 атмосферы 20 мин. В гильзы засеивались бактерии, а в пробирки—гриб. Засеянные пробирки помещались в термостат при температуре 28°C. После 6—7-суточного выращивания жидкость пробирки, где наблюдался рост гриба, фильтровалась через обычную фильтровальную бумагу и стерилизовалась в автоклаве при 0,5 атм. 20 мин. Жидкость в остальных пробирках, где не было роста гриба, стерильно разливалась в заранее стерилизованные пробирки (по 5 мл) и помещалась на сутки в термостат для определения стерильности жидкости. Опыт с растениями был положен по вышеописанной методике, на агаризованной среде Прянишникова в пятикратной повторности.

Как показывают данные табл. 8, при совместном выращивании гриба и бактерий в тех пробирках, где наблюдался рост гриба, токсин не накапливается в среде, и развитие корневой системы растений было такое же, как в контрольных вариантах (без культуральной жидкости гриба).

Кроме опытов в пробирках на питательной среде, нами проводились опыты на растениях томата и пшеницы.

Семена томата выращивались в больших кристаллизато-

рах в стерильном песке. Рассада, длиной 5—6 см, помещалась в стаканы, заполненные песком с минеральной смесью Прянишникова (по 5 растений в каждом стакане). Пшеница высаживалась в ту же смесь по 5 проростков. В опыте с пятикратной повторностью использовалась 6-суточная культуральная жидкость гриба, выращенного на среде № 19 в колбах Эрленмейера емкостью 250 мл. Культуральная жидкость гриба с титром 243 ед/мл была инактивирована 3—5-суточной культуральной жидкостью бактерий с титром 526 ед/мл (культура *Ps. liquefaciens*) и 729 ед/мл культуры *Muc. globiforme*. Титр бактериальных фильтратов определялся тест-микробом *Sacch. cerevisiae* по методу разведения. Культуральной жидкостью гриба опрыскивались рассада томатов длиной 10—12 см и 5—6-суточные проростки пшеницы. Контрольные растения опрыскивались стерильной водой. Наблюдения проводились через 3, 12, 24, 48 час. после опрыскивания культуральной жидкостью гриба.

Данные этих опытов показали, что в вариантах, где растения опрыскивались только культуральной жидкостью гриба *Fusarium culmorum*, первые признаки увядания наблюдались через 3 ч., полное же высыхание растений происходило через 48 ч. после опрыскивания. Подобные же симптомы наблюдались на увядших растениях при использовании культуральной жидкости гриба *Fusarium* (Kalyanasundaram—1954, Элпидина—1935).

При совместном испытании культуральной жидкости гриба и продуктов жизнедеятельности бактерий видно было, что продукты культуры *Muc. globiforme* сильно нейтрализуют токсин. Продукты же обмена, образуемые культурой *Ps. liquefaciens*, инактивируют токсин с меньшей активностью. Это, вероятно, зависит от титра образующегося антибиотического вещества.

Результаты этого опыта показали также, что разные растения на ядовитое влияние токсина реагируют по-разному. Если у пшеницы увядание начинается через 3 ч., то у томата позднее—через 12 ч.

В ы в о д ы

1. Грибы из рода фузариум на питательных средах образуют токсины, угнетающие рост и развитие растений. Наиболее подходящей средой для выделения токсинов оказалась среда № 19.

2. Образование токсинов грибами фузариум происходит не только на питательных средах, но и в стерильной почве и в самом растении. Выделяемые грибами токсины инактивируются в нестерильной почве.

3. Выделенные грибами фузариум токсины сильно влияют на развитие корневой системы растений. Увядание растений, по-видимому, связано с разрушением клеток сосудов корневой системы, что происходит под влиянием токсинов.

4. Выделены бактерии из неспоровой группы микроорганизмов (*Ps. liquefaciens*, *Muc. globiforme*, *Bac. megaterium*), обладающие способностью инактивировать токсичное действие культуральной жидкостью гриба *Fusarium culmorum*. Инактивация токсичного действия культуральной жидкости гриба *Fusarium culmorum* обусловлена нейтрализующим действием продуктов обмена вышеуказанных бактерий.

Ա. Զ. ՆԱԼԲԱՆԻՅԱՆ

ՖԱՌԻԶԱՐԻՈՒՄ ՍՆԿԵՐԻ ԹԱՌԱՄՄԱՆ ՏՈՔՍԻՆՆԵՐԻ ԵՎ
ՆՐԱՆՑ ԻՆԱԿՏԻՎԱՅՄԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա. մ փ ո փ ո լ մ

Ֆուզարիումի դասին պատկանող *Fusarium culmorum* և *Fusarium lini* սնկերը տարբեր կազմության սննդամիջավայրերում զարգանալիս արտադրում են աչնալիսի տոքսիններ, որոնք արգելակում են կուլտուրական բույսերի (ցորեն, վուշ և երեքնուկ) աճեցողությունն ու զարգացումը:

Տոքսինների ազդեցության ներքո բույսերը թառամում և մահանում են:

Ստերիլ հողում վերահիշյալ սնկերի տոքսինների ազդեցության տակ բույսերը թառամմամբ հիվանդանալով մահանում են: Բույ-

սերի մահացումը հավանաբար, նրանց ջրատար խողովակների բջիջների քայքայման հետևանքն է:

Ոչ ստերիլ հողում սնկերի տոքսիկ նյութերի բույսերի աճեցողության վրա թողած բացասական ազդեցությունը չի նկատվում: Շատ հավանական է, որ այդ տոքսինները ոչ ստերիլ հողում, այլ խմբերի միկրոօրգանիզմների կողմից քայքայվում են:

Ֆուզարիում սնկերի թառամման տոքսինների ինակտիվացման հնարավորությունները ուսումնասիրվել են երկու եղանակով: Առաջին եղանակով սնկի տոքսինը և բակտերիաների կողմից արտադրված ինակտիվացնող ակտիվ նյութերը մտցվել են անմիջապես բույսի աճման միջավայրը, իսկ երկրորդ եղանակով հիշյալ նյութերը ներարկվել են բույսերի մեջ:

Նման բնույթի հետազոտությունները ցույց տվին, որ մի շարք ոչ սպորավոր և սպորավոր բակտերիաների կողմից արտադրված նյութերը կանխում են ֆուզարիում սնկի կողմից արտադրվող և բուսական բջիջների համար թունավոր նյութերի բացասական ազդեցությունը (ինակտիվացիա):

A. Z. Nalbandian

Wither causing toxins and their inactivation

S u m m a r y

The aim of the present paper is to investigate the effect of the toxic substances of *Fusarium culmorum* and *Fusarium lini* fungi on the growth and development of plants, such as wheat, flax and clover.

The effect of toxic substances of the above mentioned fungi on the growth of cultural plants was studied in Pryantshnikov's cultural medium in sterile and non-sterile soils.

The results of our investigations have shown that *Fusarium culmorum* and *Fusarium lini* fungi produce toxins in various cultural mediums which inhibit the growth of cultural plants.

Under the influence of toxins plants wither and die away. The toxins of the above mentioned fungi do not have a similar effect in sterile as in non-sterile soils. In sterile soils, under the influence of toxic substances of the fungi, the plants wither and die away. This feature may probably be explained by the deterioration of the water route cells. In non-sterile

soils the negative effect of the fungi toxic substances on the growth of plants is not observed. This may probably be explained by the deterioration of toxins in non-sterile soils.

The possible inactivation of toxins have been studied by the following two processes, a) the fungi toxin and the active substance produced by the bacteria were simultaneously placed in the medium where the plant grows; b) the plants were treated by those substances by means of spraying.

The results of our investigations have shown that certain non-spore and spore bacteria and substances produced by them inactivate the negative effect of toxins on the plant cells which are produced by the fungi.

ЛИТЕРАТУРА

- Билай В. И. 1955. Фузариоз. Киев.
- Красильников Н. А. 1950. Антиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. М.—Л.
- Красильников Н. А. 1953. Инактивация антибиотиками токсина, образуемого грибом *Botr. cinerea*. „ДАН СССР“, т. XC, 6.
- Медведева С. 1937. Токсины *Fusarium bucharicum* и *T. graminearum*. „ДАН СССР“, т. XV, вып. 8.
- Налбандян А. Д. 1960. Эпифиты-антагонисты грибов из рода *Fusarium*. Бюллетень н.-т. информации по сельхоз. микробиологии, Л., 7 (1).
- Никитина Е., Т. 1953. Миколитические бактерии и возможности использования их в борьбе с фузариозным увяданием картофеля. Труды Ин-та микробиологии и вирусологии, Алма-Ата, т. 2.
- Федоров М. В. 1955. „Микробиология“, М.
- Элпидина О. К. 1935. О токсинах увядания. „ДАН СССР“, т. 3, вып. 8.
- Gäumann E., Wolfgang L. 1957. Über die Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasser permeabilität der Warkzellen von Tomatenpflanzen. „Phytopath. Z.“, 28, 3, p. 319.
- Gäumann E. 1958. Über die Wirkungsmechanismen der Fusarinsäure. „Phytopath. Z.“, 32, 4, p. 359.
- Hrushovetz S. 1957. Effect of amino acids on the virulence of *Helminthosporium sativum* to wheat seedlings. „Phytopath. Z.“, v 47, 5, p. 261.
- Kalyanasundaram R. 1954. Soil conditions and root diseases III Symptomatology of *Fusarium wilt*. „J. of the Indian Bot. Soc.“ 33.

- Kalyanasundaram R., Venkata-Ram C. S. 1956. Production and systemic translocation of Fusaric acid in *Fusarium* infected cotton plant. „J. of the Indian Bot. Soc.“, v. 35, 1, p. 7.
- Kalyanasundaram R. 1958. Production of Fusaric acid by *Fusarium lycopersici* Sacc. in the rhizosphere of tomato plant. *Phytopath.* 32, 1.
- Kamal M., Wood R. K. S. 1956. Pectic enzymes secreted by *Verticillium dahliae* and their role in the development of the wilt disease of cotton. *The Ann. Appl. Biol.* v. 44, 2, p. 322.