

А. Д. НАЛБАНДЯН

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТАГОНИЗМА У МИКРООРГАНИЗМОВ С ПОМОЩЬЮ КОЛЛОДИЙНЫХ ГИЛЬЗ

В 1904 г. Форстом был разработан метод определения антагонизма у микроорганизмов с помощью коллодийных гильз. Однако в микробиологической практике редко встречаются работы с использованием этого метода. Его преимущество (по сравнению с другими) заключается в том, что в жидкой питательной среде микроорганизмы—антагонисты и тест-объекты можно выращивать одновременно и наблюдать за ростом тест-объекта и антагониста. При применении этого метода в среду можно сначала внести тест-объект, а затем антагонист, или наоборот. Кроме того, в течение опыта можно наблюдать за накоплением антибиотического вещества и определить его титр без других способов стерилизации (бактериальные фильтры «Зейтца», обработка ультрафиолетовыми лучами и др.), т. к. при его применении сохраняется стерильность культуральной жидкости.

С применением метода коллодийных гильз нами был изучен антагонизм в отношении грибов из рода *Fusarium* у некоторых споровых и неспоровых бактерий.

Коллодийные гильзы готовились следующим образом: в чисто вымытые пробирки, с диаметром 3 см и длиной 10 см помещался коллодий (5 см³), который равномерным вращением пробирки распределялся по стенкам пробирки; избыток коллодия удалялся из пробирки. Описанный процесс проводился двухкратно. Пробирки вращались до застывания коллодия, после чего с помощью пинцета коллодийная гильза осторожно отделялась от стенок и вынималась из пробирки. Приготовленную таким путем гильзу присоединяли к трубке (18 см длиной и 0,5 см диаметром), которая вставлялась в пробирку длиной 15 см и диаметром 2,5 см и верхним своим концом укреплялась на пробирке с помощью ватной пробки (рис. 1).

В гильзы и пробирки разливали среду № 19* (в гильзы по 10 мл, в пробирки по 25 мл). Пробирки с гильзами стерилизовали в автоклаве при давлении 0,5 атмосфер. После стерилизации все гильзы засеивали бактериями антагонистами следующих культур: *Muc. globifforme* (189), *Ps. liquefaciens* (393), *Ps. fluorescens* (394) и *Bac. megatherium* (414). Часть пробирок в тот же день (первая схема) заражали конидиями грибов *Fusarium*, а часть оставляли для заражения грибами после 2-х дневного роста бактерий (вторая схема), остальные пробирки вооб-

* Состав среды № 19: капустный отвар, 2,5%, сусли, 0,1%, кукурузного экстракта, рН—7.

еще не заражались грибами и в дальнейшем были использованы для определения титра антигрибного вещества (3 схема). Каждая культура бактерий—антагонистов была высеяна в двух пробирках. Все пробирки помещались в термостат при температуре 28°C. Через двое суток роста бактерий пробирки, незараженные грибами (вторая схема), заражались ими и опять помещались в термостат.

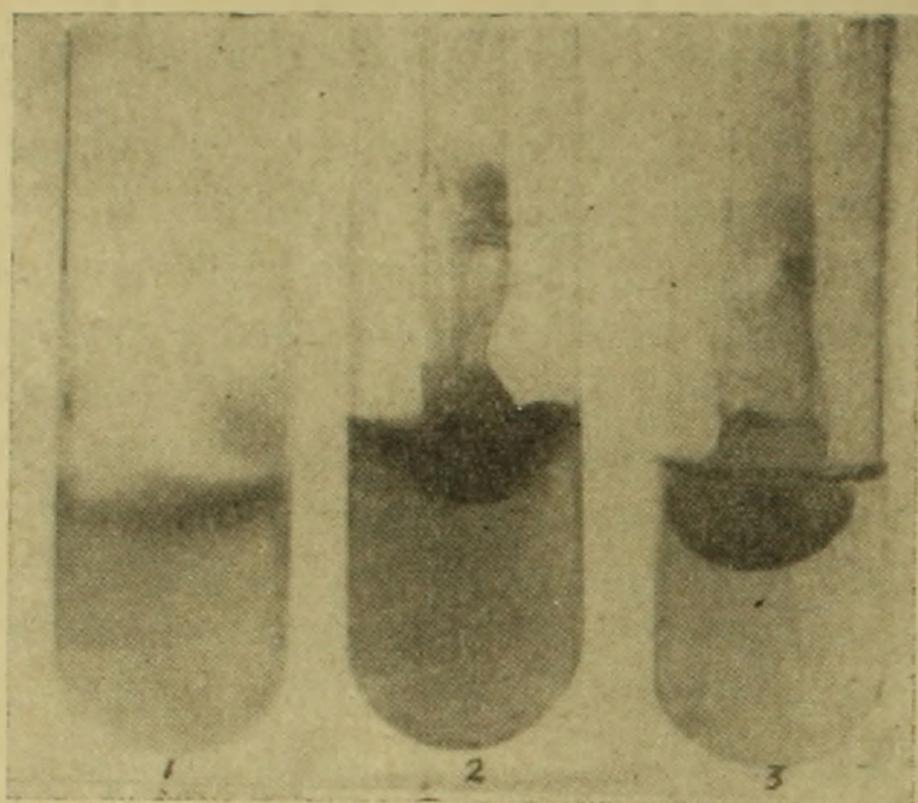


Рис. 1. Угнетение роста гриба *Fus. lini* бактериями-антагонистами. 1. Контроль (среда № 19). (*Fusarium*) 2. Культура № 414, и *Fusarium* 3. Культура № 189, и *Fusarium*

После 7—8 суточного роста гриба жидкость в пробирках, где обнаруживался рост гриба, фильтровали через обычную фильтровальную бумагу, мицелии высушивали в сушильном шкафу при 40°C и сухую массу взвешивали на аналитических весах. Данные этого опыта приводятся в табл. 1.

Таблица 1
Влияние бактерий-антагонистов на рост *Fusarium*-а

Варианты опыта	При совместном посеве бактерий и гриба		После двухдневного роста бактерий посеян гриб	
	рост гриба	вес мицелия в мг	рост гриба	вес мицелия в мг
Контроль (<i>Fusarium</i>)	сильный	115,0	сильный	115,0
Культура 189 и <i>Fusarium</i>	слабый	29,0	нет	нет
Культура 393 и <i>Fusarium</i>	•	52,0	слабый	19,0
Культура 414 и <i>Fusarium</i>	•	17,0	•	10,0
Культура 394 и <i>Fusarium</i>	•	17,0	•	10,0

Как видно из данных табл. 1, в первой схеме опыта (совместное выращивание бактерий и гриба) в контроле (один гриб) вес мицелия составляет в среднем 115 мг, тогда как в остальных вариантах рост мице-

для ослаб и составляет 17—52 мг (гриб с бактериями-антагонистами). Во второй схеме в контрольном варианте вес мицелия также равен 115 мг. Однако в остальных вариантах заметна большая разница по сравнению с первой схемой. При использовании культуры 189 (*Muc. globiforme*) вообще не наблюдалось роста гриба, в остальных вариантах вес мицелия составлял 10—19 мг. В третьей схеме опыта испытывали титр антигрибного вещества. Опыт проводился по методу разведения [3]. Результаты опыта приведены в табл. 2.

Таблица 2
Влияние антигрибных веществ бактерий-антагонистов на рост грибов *Fusarium* (в ед. мл)

Испытуемые культуры	Активность в ед., при которой обнаруживается рост	
	<i>F. culmorum</i>	<i>F. lini</i>
<i>Muc. globiforme</i> (189) .	243	729
<i>Bac. megatherium</i> (414) .	81	—
<i>Ps. liquefaciens</i> (393) .	81	81
<i>Ps. fluorescens</i> (394) . .	243	27

Как видим из данных табл. 2, разные бактерии выделяют антигрибные вещества, по-разному действующие на грибы *Fusarium*. Кроме того, антигрибные вещества одной и той же культуры оказывают не одинаковое действие на грибы *Fusarium culmorum* и *Fusarium lini*.

Полученный фактический материал дает нам возможность сделать вывод о том, что механизм действия бактерий-антагонистов, угнетающих рост грибов, связан с образованием антигрибных веществ.

Армянский научно-исследовательский институт
виноградарства, виноделия и плодоводства, от-
дел микробиологии

Поступило 16.IV 1963 г.

Ա. Չ. ՆԱԼԲԱՆԿՅԱՆ

ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻՉՄԵՐԻ ԱՆՏԱԳՈՆԻԶՄԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԿՈՂՌԻԱՅԻՆ
ՊԱՐԿՈՒՃՆԵՐԻ ՕԴՆՈՒԹՅԱՄԲ

Ա մ փ ո փ ու մ

1904 թվականին Ֆորստը մշակել է կոլոդիալին պարկուճների օգնությամբ միկրոօրգանիզմների անտագոնիզմը հայտնաբերելու մեթոդը:

Սակայն միկրոբիոլոգիական ուսումնասիրությունների պրակտիկայում այդ մեթոդի կիրառումը համախալի բնույթ չի կրում:

Մենք գտնում ենք, որ միկրոօրգանիզմների անտագոնիստական հատկու-
թյունների ուսումնասիրության գործում այս մեթոդը, գոյություն ունեցող մյուս
մեթոդների համեմատությամբ ունի հետևյալ առավելությունները.

Անտագոնիստ ու տենտ-միկրոօրգանիզմները կարելի է մտցնել հեղուկ սննդամիջավայրը միաժամանակ և հետևել նրանց աճմանը, մյուս դեպքում նախօրոք կարելի է միջավայր մտցնել անտագոնիստ-միկրոօրգանիզմը, ապա տեստ-օբյեկտը, կամ ընդհակառակը, և, վերջապես, այս մեթոդի կիրառման դեպքում կարելի է հետևել անտիբիոտիկ նյութի կուտակմանը և որոշել նրա ակտիվությունը (տիտրը) առանց ստերիլիզացիայի տարրեր ձևերի («Ջեյտցի» ֆիլտր, մշակում ուլտրա-մանուշակագույն ճառագայթներով, ստերիլիզացիա ճնշման տակ և այլն) կիրառման, քանի որ այդ մեթոդի կիրառման դեպքում պահպանվում է կուլտուրայի հեղուկի ստերիլությունը:

Վերոհիշյալ մեթոդով մենք ուսումնասիրել ենք մի շարք ոչ-սպորավոր և սպորավոր միկրոօրգանիզմների անտագոնիստական հատկությունները *Fusarium*-ի դասին պատկանող սնկերի նկատմամբ: Փորձարկումների ժամանակ առաջին դեպքում սկզբից սննդամիջավայր են մտցվել անտագոնիստ բակտերիաները (բակտերիաները ցանվել են կոլոդիալ պարկուճներում) և նրանց երկօրյա աճից հետո սննդամիջավայր է մտցվել *Fusarium* սունկը (սունկը ցանվել է փորձանոթում): Մյուս դեպքում անտագոնիստ բակտերիաները և սունկը ցանվել են միաժամանակ: Փորձը տարվել է թերմոստատում՝ 28°C ջերմության պայմաններում:

Փորձի վերջում այն փորձանոթներում, որտեղ նկատվել է սնկի միցելիաների աճ, կուլտուրայի հեղուկը ֆիլտրվել է և որոշվել է շոր միցելիաների կշիռը:

Ուսումնասիրությունների արդյունքները ցույց տվին, որ փորձարկվող բոլոր բակտերիաները հանդիսանում են *Fusarium*-ի դասին պատկանող սնկերի անտագոնիստներ: Նրանց անտագոնիստական հատկությունները հատկապես ուժեղ են արտահայտվում, երբ նրանք սննդարար միջավայր են մտցվում սնկի ցանքից 2 օր առաջ:

Ուսումնասիրված բակտերիաների անտագոնիստական ազդեցության մեխանիզմը բացատրվում է նրանց կողմից արտադրվող հակասնկային նյութերի առկայությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гаузе Г. Ф. Лекции по антибиотикам, М., 1959.
2. Иерусалимский И. Д., Рукина Е. А. Микробиология, т. XXV, вып. 6, 1956.
3. Красильников Н. А. Актиномицеты—антагонисты и антибиотические вещества, М.—Л., 1950.