

С. А. АВАКЯН

ОБ ИММУНИЗИРУЮЩЕМ СВОЙСТВЕ ПРОДУЦЕНТА
 ГИББЕРЕЛЛИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ
FUSARIUM BULBIGENUM СКА ET *MASS. V. NIVEUM* (E. SM.) WR.

При исследованиях, связанных с выявлением продуцентов ростовых веществ из группы фузариев, выяснилось, что возбудитель корневой гнили тыквенных культур *Fusarium bulbigenum* Ска et Mass v. *niveum* (E. Sm.) Wr. является продуцентом гиббереллиноподобных веществ. Культуральная жидкость этого гриба вызывает значительную стимуляцию роста растений кабачков и кукурузы и стимулирует рост корневой системы [1]. Одновременно было выяснено, что фильтрат культуральной жидкости оказывает некоторое оздоравливающее действие на растения. Это было замечено на подопытных растениях кабачков, случайно оказавшихся в неблагоприятных условиях повышенной температуры. В этих условиях почти все контрольные растения, обработанные водой и средой (используемой для получения культуральной жидкости), усохли, растения же, обработанные фильтратом культуральной жидкости *Fusarium*-а, оказались устойчивыми и не только не погибли, но рост их улучшился. Этот факт навел нас на мысль проверить не оказывает ли культуральная жидкость *Fusarium*-а иммунизирующее действие на растения.

Вопрос о приобретении иммунитета растениями привлекал внимание широкого круга исследователей [4, 6, 11 и др.].

Как указывают Б. А. Рубин и Е. В. Арциховская [8], возможность приобретения иммунитета растениями ставилась одно время под сомнение. По мнению Блекмана, отсутствие у растений такой системы, как кровообращение, исключает возможность иммунизации всего организма. Аналогичной точки зрения придерживались и другие исследователи. Однако в настоящее время в результате ряда экспериментальных исследований можно считать установленным физиологическое единство растительного организма, обеспечиваемое непрерывностью протоплазмы. На данном этапе исследований имеется ряд фактов, показывающих, что у растений можно создать устойчивость к болезням путем обработки их экстрактами из паразитных организмов или их ослабленными культурами. М. В. Горленко [2] пишет, что в опытах Зойя удавалось создать устойчивость пшениц к грибу *Helminthosporium sativum* путем проращивания семян в экстрактах гриба. Обработанные таким образом семена заражались спорами *H. sativum*. Ростки спор проникали в ткани, однако дальнейшее развитие их приостанавливалось.

Hirsch [12] показал, что растения привыкают к токсинам. Листья капусты, пшеницы, опущенные в фильтраты из культур *Fusarium*

охyспорум и *Fusarium vasinfectum*, начинали страдать от токсинов грибов, но при переносе их в воду они оправлялись и вновь пересаженные на экстракты уже хорошо переносили ядовитое действие указанных грибов.

В. П. Израильский [4] указывает, что Арнауди иммунизировал ростки табака к *Thielaviopsis basicola* при помощи экстрактов из гриба. В результате иммунизированные растения после искусственного заражения грибом были здоровы, а контрольные погибали. Теон-ом [14] были проведены работы по иммунизации и последующему заражению американского вяза экстрактами из гриба *Verticillium albo-atrum* и фильтратом из-под культуры этого микроорганизма. В результате опытов оказалось, что иммунизация предохранила растения от последующей инфекции гриба, в то время как контрольные растения не были поражены. Карбоне and Kalajew [10] провели работы по иммунизации фасоли культуральной жидкостью одной из форм *Botrytis cinerea*; они однократно поливали проростки фасоли. Через 7—9 дней растения пересаживались на питательную среду Кнопа и через два дня производилось искусственное их заражение грибом *Botrytis cinerea*. Контрольные растения, не получившие культуральной среды, заразились и погибли, заболеваемость же вакцинированных растений значительно снизилась.

Исследования Карбоне и Арнауди [6] показали, что устойчивость растений к определенному паразитическому организму возрастает как после перенесенного заболевания, вызванного этим возбудителем, так и в результате введения соответствующих вакцин.

Ряд исследований [3, 9, 13 и др.] показал, что устойчивость растений к *Bacterium tumefaciens* возрастает в результате введения соответствующих вакцин.

В Институте микробиологии АН АрмССР с 1960 г. проводились работы по исследованию иммунизирующей способности культуральных жидкостей возбудителя корневой гнили тыквенных культур *Fusarium bulbigenum* Ska et Mass v. *niveum* (E. Sm.) Wt. Культуральные жидкости *Fusarium*-а готовились на картофельно-глюкозном экстракте с 3% глюкозой, на котором гриб выращивался в течение 15—20 суток. Испытание фильтратов культуральных жидкостей проводилось в лабораторных и вегетационных условиях.

Первый лабораторный опыт был поставлен на всходах и семенах дыни по схеме, указанной в графе второй табл. 1. Фильтратом культуральной жидкости обрабатывались семена путем их замачивания, а также нанесением культуральной жидкости на верхушку всходов.

Замачивание семян дыни было произведено в течение суток в стерильной воде, в десятикратно разведенной культуральной жидкости или в суспензии чистой культуры *Fusarium*-а, в зависимости от варианта опыта. Обработанные семена через сутки были высеяны в кристаллизаторы со стерильным песком. При достижении всходов дыни размера до 2 см была начата их ежедневная обработка в течение восьми дней десятикратно разведенным фильтратом культуральной жидкости, стериль-

ной водой; или всходы оставлялись без обработки в зависимости от варианта опыта. После пятой обработки было произведено искусственное заражение всходов дыни суспензией чистой культуры *Fusarium*-а или всходы оставлялись без заражения (контроль).

Искусственное заражение производилось методом нанесения мицелия гриба на надпочечную часть стебля с уколом и место заражения прикрывалось увлажненной в суспензии культуры ваткой. В контрольном варианте вместо суспензии культуры бралась стерильная вода. Для сохранения условий влажности растения прикрывались колпаками с обеспечением подачи воздуха.

Результаты учета состояния всходов первого лабораторного опыта, произведенного через одиннадцать дней, приведены в табл. 1. Из этих

Таблица 1

Влияние культуральной жидкости возбудителя на поражаемость растений дыни корневой гнилью

№ вариан-та	В а р и а н т ы	Процент увядших растений
1	Замочка семян водой без обработки культуральной жидкостью и без заражения всходов	23
2	Замочка семян водой без обработки всходов культуральной жидкостью с искусственным заражением их <i>Fusarium</i> 5	50
3	Замочка семян культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> 5 без обработки всходов культуральной жидкостью с искусственным заражением их <i>Fusarium</i> 5	61
4	Замочка семян культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> 5, шестикратная обработка культуральной жидкостью всходов с искусственным заражением их <i>Fusarium</i> 5	50
5	Замочка семян в суспензии культуры <i>Fusarium</i> 5 без обработки всходов культуральной жидкостью с искусственным заражением их <i>Fusarium</i> 5	36

данных явствует, что процент увядших растений у искусственно зараженных вариантов вдвое выше, чем у незараженных. Замоченные в суспензии культуры *Fusarium*-а (вариант 5) семена по сравнению с семенами, замоченными в воде (вариант 2) и в культуральной жидкости (вариант 3), дают меньший процент увядших растений. Это говорит о том, что живые культуры оказывают лучшее иммунизирующее действие, чем фильтраты их культуральной жидкости. Процент увядших растений при обработке культуральными жидкостями только семян без дальнейшей обработки всходов выше, чем при обработке обоими способами. По-видимому, иммунизирующее действие культуральных жидкостей при использовании их методом замачивания семян менее эффективно, чем при нанесении их каплей на верхушку растений.

Дальнейшее испытание иммунизирующих свойств культуральной жидкости *Fusarium*-а проводилось путем обработки ими не семян, а растений. Следующий опыт был поставлен по схеме, приведенной в графе второй табл. 2. На каждый вариант опыта было взято по двадцать всходов. Растения выращивались в песке, удобренном раствором Кнопа.

Всходы дыни (2—3 см) обрабатывались путем нанесения на верхушку растений двух капель фильтрата культуральной жидкости *Fusarium bulbigenum* v. *plveum* в десятикратном разведении. Обработка всходов производилась ежедневно семь раз, после пятой обработки растения были искусственно заражены чистой культурой *Fusarium*-а вышеописанным методом. Контрольные растения обрабатывались питательной средой (картофельно-глюкозной с 3% глюкозой), используемой для получения культуральной жидкости. Результаты учета состояния растений, проведенного через 20 дней (табл. 2), показали, что всходы дыни, обработанные культуральной жидкостью *Fusarium*-а, при искусственном заражении значительно меньше поражаются (увядших растений 2,5 раза меньше), чем всходы контрольные, обработанные средой.

Таблица 2

Результаты лабораторного опыта иммунизации всходов растений дыни культуральной жидкостью

№ варианта	В а р и а н т ы	%	%	Средняя длина на 1 растение в мм
1	Всходы, обработанные средой (к. г.), не зараженные	57	25	50,1
2	Всходы, обработанные культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> -а, не зараженные	41	13	52,1
3	Всходы, обработанные средой и искусственно зараженные культурой <i>Fusarium</i> -а	85	81	43,2
4	Всходы, обработанные культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> -а и искусственно зараженные культурой <i>Fusarium</i> -а	55	33	56

Средняя длина обработанных культуральной жидкостью растений превышает длину растений, обработанных средой.

Помимо лабораторных опытов на всходах семян дынь были поставлены также вегетационные опыты иммунизации на растениях дыни и кабачков.

Один из этих опытов был поставлен по схеме, указанной в графе второй табл. 3, на каждый вариант опыта было взято по 10 растений кабачков. Первая обработка растений была произведена в фазе наличия одного круглого листа на растении. Обработка растений фильтратом культуральной жидкости была произведена десятикратно разведенным раствором. Контрольные растения обрабатывались стерильной водой. Обработка производилась ежедневно в течение тринадцати дней. После четвертой обработки в фазе 2—3 круглых листьев, растения третьего и четвертого вариантов опыта были искусственно заражены чистой культурой гриба *Fusarium bulbigenum* v. *plveum*.

Стебли растения тщательно промывались стерильной водой, затем на стебель наносился мицелий гриба, через который делался косой надрез—легкое поранение ткани. На ранку накладывался кусочек ватки, смоченный в суспензии культуры гриба, и эта часть обматывалась влажной

ленточкой ваты, которая в течение десяти дней ежедневно увлажнялась. В контрольных вариантах использовалась вместо суспензии культуры—стерильная вода.

Растения до конца опыта в течение 2 мес. выращивались в условиях высокой температуры 27—28°. По истечении этого срока был произведен учет увядших растений, а также учитывались длина и вес их надземной и подземной частей (табл. 3).

Таблица 3
Результаты вегетационных опытов иммунизации

№ варианта	В а р и а н т ы	% увядших растений	В среднем на одно растение			
			длина растений в мм	вес зеленой массы в г	длина корня в мм	вес корня в г
1	Обработка стерильной водой без заражения	27,7	742,5	18,7	211,5	1,1
2	Обработка культуральной жидкостью <i>Fusarium-a</i> без заражения	5,5	801,7	20,4	224,4	1,3
3	Обработка стерильной водой, искусственное заражение культурой <i>Fusarium-a</i>	33,3	743,2	17,6	221	1,1
4	Обработка культуральной жидкостью <i>Fusarium-a</i> и искусственное заражение культурой <i>Fusarium-a</i>	15	918,2	27,1	272,3	1,7

Эти данные свидетельствуют о том, что и в вегетационных условиях растения, обработанные фильтратом культуральной жидкости *Fusarium-a*, значительно меньше поражаются, чем растения контрольные, обработанные водой. Сравнительно большой процент пораженности контрольного варианта, по-видимому, объясняется воздушной инфекцией. В то же время отмечается, что в среднем на одно растение длина и вес надземной и подземной частей растений у обработанных культуральной жидкостью вариантов выше, чем у обработанных водой.

На основании результатов лабораторных и вегетационных опытов можно заключить, что фильтраты культуральной жидкости возбудителя корневой гнили *Fusarium bulbigenum* Ska et Mass. v. *niveum* (E. Sm.) Wg. оказывают иммунизирующее действие на растения тыквенных культур и повышают их устойчивость в отношении корневой гнили. Таким образом, выделения этого гриба могут быть использованы не только как вещества ростовые, но также как повышающие устойчивость растений.

Длительное культивирование *Fusarium bulbigenum* v. *niveum* на искусственных питательных средах может сопровождаться снижением их активности.

Одним из путей восстановления вирулентности микроорганизмов, культивируемых на искусственных питательных средах, являются пассажи их через растение хозяина. В частности, в отношении *Fusarium moniliforme* неоднократно делались попытки [7] восстановить или по-

высить активность и вирулентность этих культур путем пассажей их через живые растения риса. Работавшие в этом направлении исследователи не наблюдали существенных изменений активности продуцента при пассаже их через растения риса.

Некоторые авторы объясняли это кратковременностью пребывания гриба в тканях растений. Для выяснения влияния пассажей на активность культур *Fusarium bulbigenum* v. *niveum* нами были проведены повторные многократные пассажи их через растения дыни. В дальнейшем были поставлены опыты для выяснения иммунизирующей и ростовой активности шестикратно и двенадцатикратно пассированных культур. Первый опыт был поставлен на всходах дыни. Они обрабатывались культуральными жидкостями шестикратно пассированных и непассированных штаммов с последующим их искусственным заражением чистой культурой непассированного и пассированного штаммов *Fusarium*-а, в зависимости от варианта опыта. Растения обрабатывались семь раз ежедневно десятикратно разведенными растворами культуральной жидкости. Результаты опыта, приведенные в табл. 4, показали, что всходы

Таблица 4

Результаты иммунизации шестикратно пассированным штаммом *Fusarium*-а всходов дыни

№ варианта	В а р и а н т ы	% увядших растений	Средний прирост растений
1	Обработанные культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> -а 5 (10% разведение) без заражения	0	48
2	Обработанные культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> -а 5 ₆ (10% разведение) без заражения	0	50
3	Обработанные культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> -а 5 (10% разведение) и искусственно зараженные <i>Fusarium</i> -ом 5	20	41
4	Обработанные культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> -а 5 ₆ (10% разведение) и искусственно зараженные <i>Fusarium</i> -ом 5	50	50,4
5	Обработанные культуральной жидкостью <i>Fusarium</i> -а 5 ₆ (10% разведение) и искусственно зараженные <i>Fusarium</i> -ом 5 ₆	67	26

дыни, обработанные культуральной жидкостью непассированного штамма *Fusarium*-а (№ 5), при искусственном заражении *Fusarium* № 5 (непассированным) поражаются в меньшей степени (20%), чем всходы, обработанные культуральной жидкостью пассированного штамма *Fusarium* 5₆ и искусственно зараженные *Fusarium* 5 (50%) и 5₆ (67%). При этом пассированный штамм 5₆ обладает повышенной вирулентностью и вызывает больший процент поражения.

Результаты испытаний на всходах дыни иммунизирующего действия двенадцатикратно пассированных штаммов *Fusarium* 5₁₂ приведены в табл. 5. Из данных таблицы видно, что всходы дыни, обработанные культуральными жидкостями двенадцатикратно пассированного *Fusarium*-а 5₁₂ и непассированного № 5 штаммов и искусственно зараженные чистой культурой № 5, значительно меньше поражаются (54 и 62%

больных и увядших), чем всходы, обработанные гиббереллином и водой (100% больных и увядших). В этом опыте так же, как и в предыдущем, при обработке культуральной жидкостью Fusarium № 5 (непассированного штамма) процент поражаемости растений меньше, чем при обработке культуральной жидкостью Fusarium 5₁₂ (пассированного).

По-видимому, у многократно пассированных культур повышается вирулентность и они взамен иммунизирующего оказывают патогенное действие на растения.

Одновременно в этих опытах учитывалось влияние культуральных жидкостей пассированных и непассированных штаммов на рост растений.

Таблица 5

Результаты иммунизации двенадцатикратно пассированным штаммом Fusarium-a 5₁₂ всходов дыни с искусственным заражением Fusarium-ом 5

В а р и а н т ы	% больных и увядших растений	Средняя длина на 1 растение
Обработка всходов водой	100	45
Обработка всходов гиббереллином в 0,001% концентрации	100	52
Обработка всходов культуральной жидкостью Fusarium-a 5 в 10% разведении	54	54
Обработка всходов культуральной жидкостью Fusarium-a 5 ₁₂ в 10% разведении	62	57

В табл. 4 и 5 приведена средняя длина растений, обработанных культуральной жидкостью вышеуказанных штаммов. Эти данные говорят о том, что длина растений у обработанных культуральной жидкостью пассированных штаммов несколько превышает длину растений, обработанных культуральной жидкостью непассированных.

Помимо этих наблюдений были поставлены специальные опыты для выяснения влияния культуральных жидкостей пассированных штаммов на рост растений кабачков.

Испытания культуральных жидкостей пассированных и непассированных штаммов Fusarium-a проводились путем обработки ими растений кабачков по модифицированному методу Кертиса [1]. Результаты одного из этих опытов приведены в табл. 6. По этим данным, при обработке растений кабачков культуральными жидкостями семикратно пассированных штаммов, рост длины растений и вес зеленой массы их увеличиваются в большей степени, чем при обработке их культуральной жидкостью непассированных штаммов, причем семикратно пассированные штаммы дают лучший эффект, чем двенадцатикратно пассированные.

На основании проведенных исследований можно заключить, что при многократных пассажах штамма Fusarium bulbigenum v. niveum через растения их иммунизирующая способность снижается и усиливаются их патогенные свойства. Ростовая активность при многократных пассажах

Таблица 6

Испытание ростовой активности пассированных и непассированных культур *Fusarium*-а на растениях кабачков

В а р и а н т ы	Разведение	Надземная часть	
		длина растений	вес зеленой массы
Контроль—вода		303	2,023
Контроль гиббереллин	0,01‰	409	1,995
	0,001‰	353	1,772
Контроль среды (картофельно-глюкозная)	10‰	330	1,880
Культуральная жидкость <i>Fusarium</i> -а № 5	10‰	353	2,377
Культуральная жидкость <i>Fusarium</i> -а № 5 ₇	10‰	371	2,407
Культуральная жидкость <i>Fusarium</i> -а № 5 ₁₂	10‰	361	2,370

несколько возрастает, но после семикратного пассажа начинает уменьшаться.

В ы в о д ы

1. Нативные фильтраты продуцента гиббереллиноподобных веществ возбудителя корневой гнили тыквенных *Fusarium bulbigenum* Ska et Mass. v. *niveum* (E. Sm.) Wr. оказывают иммунизирующее действие на растения (тыквенных) и повышают их устойчивость в отношении корневой гнили.

2. При многократных пассажах культуры *Fusarium bulbigenum* v. *niveum* через растения хозяина снижается их иммунизирующая активность.

3. При многократных пассажах культуры *Fusarium bulbigenum* v. *niveum* через растение-хозяина ростовая активность их несколько возрастает, а после семикратного пассажа начинает уменьшаться.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 22.XII 1963 г.

Ս. Ա. ԱՎԱԿՅԱՆ

ԳԻՔԵՐԵԼԻՆԱՆՄԱՆ ՆՅՈՒԹԵՐ ԱՐՏԱԴՐՈՂ *FUSARIUM BULBIGENUM* SKA ET MASS. V. *NIVEUM* (E. SM.) WR. ՄՆԿԻ ԻՄՈՒՆԻԶԱՑՆՈՂ ՀԱՏԿՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

Գիբերելինանման նյութեր արտադրող *Fusarium bulbigenum* Ska et Mass. v. *niveum* (E. Sm.) Wr. սնկի ուսումնասիրությունը ցույց տվեց, որ նրա կուլտուրալ լուծույթի նասիվ ֆիլտրատները դրամազի բույսերի նկատմամբ ցուցաբերում են իմունիզացնող հատկություն՝ բարձրացնելով նրանց դրամացկունությունը արմատային փտախտի նկատմամբ:

Այսպիսով, այդ սնկի արտադրած նյութերը կարող են օգտագործվել ոչ միայն բույսերի աճման պրոդեսը խթանելու, այլև արմատային փտախտի նրկատմամբ նրանց դիմացկունութունը բարձրացնելու համար:

Fusarium bulbigenum v. *niveum* սունկը բույսերի միջով մի քանի անգամ անցկացնելու (պասսաժի) հետևանքով նրա իմունիզացիոն հատկութունը թուլանում է:

Ինչ վերաբերվում է սնկի աճման ունակությանը, իսպա այն ոչ միայն չի թուլանում, այլև նույնիսկ, որոշ շափով ուժեղանում է և միայն 7-րդ անգամ բույսի միջով անցնելուց հետո սկսում է թուլանալ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян С. А. Известия АН Арм. ССР (биол. н.), т. XV, 4, 1962.
2. Горленко М. В. Краткий курс иммунитета растений к инфекционным болезням. Москва, изд. Сов. наука, 1959.
3. Израильский В. П., Виноградова О. С. Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиол. т. 14, в. 5, 1935.
4. Израильский В. П. Успехи современной биологии, т. XV, в. 2, 1942.
5. Израильский В. П. Бактериальные болезни растений, М., Сельхозгиз, 1960.
6. Карбоне Д. и Арнауди К. Иммунитет у растений. М., Сельхозгиз, 1937.
7. Муромцев Г. С. и Пеньков А. А. Гиббереллины. М., Изд. Сельхоз. литературы, 1962.
8. Рубин Б. А., Арциховская Е. В. Биохимия и физиология иммунитета. М., Изд. АН СССР, 1960.
9. Brown Nellie A. Phytopathology, XIII, 1923.
10. Carbone D. and Kalajev A. Phytopathology, Z. 5, № 1, 1932.
11. Gäumann E. Pflanzliche Infectionslehre, 1951.
12. Hursh. Journ. of Agric Research., v. 27:341, 1924.
13. Magron J. Ann. Institut. Pasteur. T. 60, № 6, 1938.
14. Theon L. R. Phytopathology, 34, 1944.