

06
КЧ-712

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ В КАЗАХСТАНЕ

12

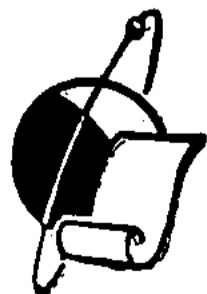
АЛМА-АТА • 1969

12

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР
ТРУДЫ ИНСТИТУТА МИКРОБИОЛОГИИ И ВИРУСОЛОГИИ Том XII

06
кн 712
9

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ В КАЗАХСТАНЕ



Издательство «НАУКА» Казахской ССР
Алма-Ата · 1969

06 + 576.8 (08) + 63:576.8

В сборнике представлены результаты исследований казахстанских микробиологов по сельскохозяйственной тематике. Приводятся материалы о стимулирующем влиянии грибов из рода *Trichoderma* и актиномицетов на растения. Несколько статей посвящены микробиологическим превращениям фосфора и азота в почвах. Определенный интерес представляют исследования по использованию бактериальных заквасок для силосования трудносилосующихся растений.

Книга предназначена для широкого круга научных и практических работников в области сельского хозяйства, микробиологов, почвоведов, преподавателей и студентов вузов.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

А. Н. Илялетдинов (ответственный редактор),
М. К. Канатчинова (ответственный секретарь),
В. Н. Мазунина, Г. Ш. Сейкетов.

169.688

Республиканская научная
сельскохозяйственная
ВИВДИСТЕК

УДК 631.46.577.15/17

Г. Ш. СЕЙКЕТОВ

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ ГРИБА ТРИХОДЕРМЫ И ПРЕПАРАТ ТРИХОДЕРМИН

На пути создания высоких урожаев сельскохозяйственных культур наряду с другими приемами важное место отводится методам борьбы с различными болезнями растений и использованию богатого арсенала стимулирующих средств.

Существуют средства и методы борьбы с растительной инфекцией. Из них наиболее широко используются химические вещества. Химические инсектициды эффективно действуют на источники болезней, находящиеся на семенном материале, но они оказывают очень слабое воздействие на возбудителей болезней растений, имеющих в почве, которые обычно беспрепятственно поселяются на прорастающем семени, молодом и даже взрослом растении. Поэтому многие существующие средства защиты растений, в том числе и химические, не удовлетворяют запросам практики. В этой связи разработку новых методов борьбы с болезнями культурных растений следует отнести к вопросам первостепенной важности.

Биологический метод борьбы с растительной инфекцией — самое молодое направление в фитопатологической науке. В основе метода лежит использование естественного свойства некоторых безвредных для растений почвенных микробов, обладающих антагонистической активностью в отношении микроорганизмов, вызывающих заболевание сельскохозяйственных растений.

Антагонистические взаимоотношения у микроорганизмов выработались в процессе эволюции, борьбы за существование в результате приспособления к условиям окружающей среды. Острая борьба среди почвенных микроорганизмов послужила толчком для изыскания методов использования явлений микробного антагонизма в борьбе с болезнями культурных растений.

Исследованиями лаборатории сельскохозяйственной микробиологии Института микробиологии и вирусологии АН КазССР было установлено, что сапрофитный почвенный микроскопический гриб триходерма обладает антагонистическими свойствами по отношению к ряду распространенных фитопатогенных микроорганизмов: *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Alternaria*, *Macrosporium*, *Bast. carotovorum*, *Ps. lachrymans* и др., вызывающих заболевания весьма широкого круга сельскохозяйственных растений (картофеля, сахарной свеклы, помидоров, капусты, тыквенных культур, кукурузы, пшеницы и др.).

У представителей триходермы определены антагонистические свойства по отношению к ряду тест-микробов. Эти свойства у активных штаммов триходермы оказались довольно специфическими. Гриб продуцировал в окружающую среду токсические вещества, губительно действующие на целый ряд микроорганизмов, в том числе фитопатогенных. Главную часть этих токсических веществ составили антибиотические вещества, получившие название глиотоксин и виридин.

Глиотоксин — вещество, продуцируемое *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz., представляет тетрациклическое соединение, в состав которого входят сконденсированные пиперазиновая и индольная группировки, а также своеобразная система, содержащая два атома серы ($C_{13}H_{14}N_2S_2O_4$). Глиотоксин обладает значительной антибиотической активностью, особенно к грамположительным бактериям, но к грамотрицательным относится значительно слабее. Этот антибиотик гораздо сильнее действует на грибы и на их паразитические формы: *Rhizoctonia Phytophthora*, *Phytium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Sclerotinia* и др.

Виридин — вещество, продуцируемое *Trichoderma viride*. Впервые он выделен из культуральной жидкости гриба, образующего желтый пигмент. У виридина химическая структура изучена слабо, а суммарная формула выглядит так: $C_{19}H_{16}O_6$ (Браэн, 1946). Виридин гораздо токсичнее, чем глиотоксин, и обладает высокой антибиотической активностью, особенно к грибам. Так, например, дозы от 0,003 до 0,006 мг/мл полностью задерживают развитие грибов *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Botritis* и др.

Установлено, что глиотоксин — термолабильное вещество, а культуры грибов, образующие его, быстро теряют способность продуцировать это вещество в искусственных условиях содержания. Интересно отметить, что культуры гриба, потерявшие антибиотическую активность в неблагоприятных условиях хранения, восстанавливают первоначальные свойства, если перенести их в естественную среду, в популяции с другими почвенными микроорганизмами. Подобное поведение гриба имеет важное биологическое значение для познания сущности явления метаболизма биологически активных веществ.

Исследованиями установлено также, что некоторые штаммы гриба триходермы в процессе роста и развития продуцируют летучие антибиотики, природа которых неизвестна (Билай, 1961). Действие летучих антибиотиков триходермы избирательно и специфично. К нему чувствителен целый ряд бактерий из группы *Pseudomonas*, в том числе и фитопатогенные. Из грибов более чувствительными оказались такие фитопатогенные формы, как *Botritis*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Verticillium*.

Нами было изучено интересное антагонистическое свойство триходермы. Некоторые ее штаммы обладали суперпаразитическими свойствами по отношению к фитопатогенным грибам: *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Helminthosporium* и др., а также некоторым сапрофитным пенициллам (Сейкетов, 1951; Сейкетов и Никитина, 1962). Характерная сторона этого явления заключается в том, что в процессе роста триходерма в общей среде с фитопатогенными грибами подавляет развитие не только своими продуктами жизнедеятельности, но и с помощью тонких гиф и гаусториоподобных образований, которые плотно оплетают и, присасываясь окончательно, разрушают клеточную структуру гиф фитопатогенных грибов. В результате паразитический гриб теряет жизнеспособность.

При изучении грибов рода триходерма нам удалось вскрыть целый ряд явлений, о которых ранее не было ничего известно. В коротком сообщении, конечно, невозможно нарисовать полную картину наблюдений, да и задача данной статьи несколько иная. Но все же следует упомянуть, что в процессе работ нам надо было найти принципиально новые методы исследования, которые позволили бы выявить новые свойства изучаемых организмов. Так, например, отбор суперпаразитов на живых приманках или определение межвидовых взаимоотношений при помощи метода встречных колоний, или установление активности вещества капельным методом, методом перевернутых агаровых пластинок и т. д.

У грибов триходермы были изучены культуральные и физиологические свойства, условия и источники питания, требования к условиям среды и т. д. Из физиологических свойств особо обращает внимание большое количество ферментов амилазы и целлюлазы у некоторых штаммов триходермы.

Установлено, что при культивировании гриба на среде с крахмалом в течение 4—5 суток из среды полностью исчезают следы крахмала. Различные штаммы обладают неодинаковой амилолитической активностью. Из всех испытанных штаммов триходермы почти 50% продуцировали амилазу.

Большой интерес представляют целлюлозолитические свойства триходермы. Среди грибов триходерма по своей способности разрушать целлюлозу занимает не последнее место.

Так, например, экстракт культуры триходермы, выращенной на опилках и отрубях, осахаривал различные целлюлозосодержащие субстраты (солому и др.) в течение 3 суток с образованием до 8% редуцирующих сахаров. Замечено, что в процессе культивирования гриба целлюлаза вначале появляется в культуральной жидкости, а затем аккумулируется в клетках мицелия гриба.

Присутствие в среде микроэлементов (Со, Са и др.) способствует большому выходу целлюлазы.

Имеются сведения о том, что некоторые штаммы триходермы обладают высокой пентозаназной (Simpson, 1959) и ламинариной (Chesters, Bull, 1963) активностью.

Нами были определены аминокислоты у гриба триходермы. Методом хроматографии на бумаге в мицелиях гриба установлено 12 аминокислот. Свободные аминокислоты, образуемые триходермой, богаты не только ассортиментом, но и количеством. Так, например, если 10-дневные культуры *Bac. mesentericus*, *Az. chroococcum*, *Ps. fluorescens*, *Asp. niger* и др. образовали от 30 до 140 мкг аминокислот в 100 мл среды, то *Trichoderma lignorum* в тех же условиях дал 245 мкг аминокислот (Тягны-Рядно, 1966).

Из наиболее активных штаммов гриба триходермы был создан споровый препарат (Сейкетов, 1956, 1959), выдерживающий значительное хранение и имеющий ряд качеств для использования. Этот препарат назван триходермином. В 1959 г. он был зарегистрирован в Комитете изобретений и открытий при Совете Министров СССР под названием «Препарат триходермин как профилактическое средство в борьбе с болезнями картофеля и как стимулятор урожая».

Триходермин испытан и изучен как в лаборатории, так и в полевых условиях различных почвенно-климатических зон. Было доказано, что он полностью предохраняет картофель от заражения фитопатогенными грибами. Причем профилактическое действие гриба проявляется по-разному (в зависимости от сорта). Отмечено и профилак-

тическое действие триходермы в отношении ряда болезней помидоров, капусты, кукурузы, огурцов и др. Недавно нам стало известно об эффективном антагонистическом действии триходермы в борьбе с очень вредоносным паразитом хвойных лесов — корневой губкой *Fomitopsis annosa* (Fr.) Karst. в Алтайском крае (Соловьев, 1967). Интересные данные получены недавно из Института микробиологии и вирусологии АН УССР о том, что предпосевная обработка семян огурцов спорами *Tr. Koningi* снижает поражаемость растений бактериозом (*Ps. lachrymans*) в 2 раза и увеличивает урожайность на 19% (Белтюкова, 1966).

Начиная с 1956 г. наша лаборатория испытывает действие препарата триходермина в полевых условиях на различные сельскохозяйственные культуры и неизменно отмечает как профилактический, так и стимулирующий эффект. Последний выражается в повышении урожайности (от 15 до 25, а иногда до 40%) картофеля, томатов, кукурузы и др. в зависимости от сортности, почвенно-климатических и агротехнических условий содержания посевов. Установлено стимулирующее действие триходермина на пшеницу и горох. Причем в большинстве случаев штаммы триходермы специфически действуют в зависимости от видов сельскохозяйственных культур.

За последние годы были отобраны и изучены еще 10 штаммов гриба триходермы и столько же актиномицетов, обладающих высокими антагонистическими и стимулирующими свойствами.

В условиях возделывания сельскохозяйственных культур на современном уровне агротехники биопрепараты микробного происхождения несомненно позволят получать высокие урожаи. В данной статье мы остановимся на вопросах полупромышленного изготовления препарата триходермина из дешевого сырья и на его рациональном применении в растениеводстве.

Способ изготовления триходермина

Накопительная среда. Берется мелко нарезанная (длина 5 мм) зеленая масса кукурузы или тростника (лучше в молодом возрасте), которая в специальном аппарате для стерилизации и выращивания гриба заливается раствором следующего состава: водопроводная вода — 1000 мл, сахар — 10 г, азотнокислый натрий — 0,5 г, кислый фосфорнокислый натрий — 0,5 г, сернокислый магний — 0,25 г, хлористый кальций — 0,25 г.

Количество заливаемого раствора определяется состоянием растительной массы. Если она очень свежая (сочная), то раствора надо взять меньше, а если высушенная, то его берут в количестве 5 л на 1 кг растительного материала. Влажность приготавливаемой растительной массы должна быть не выше 70—80%. В случае высушенной растительной массы влажность ее определяется после тщательного перемешивания; рН питательной массы должна быть около 5—6.

Способ и режим стерилизации питательной массы. В аппарат с питательной растительной массой подается сухой пар под давлением в 2 атм для стерилизации материала (продолжительность и температурный режим устанавливаются степенью стерильности материала). В лабораторных условиях, в колбах, увлажненная растительная масса весом в 30 г, слоем 5 см стерилизуется в автоклаве при 1 атм в течение 1 часа. После стерилизации берется проба для определения рН и влажности материала. Если эти показатели не со-

ответствуют норме, то добавлением стерильной воды или кислоты (соляной, молочной, лимонной) вносят поправки.

Обсеменение материала. Микробный посевной материал готовится заблаговременно путем выращивания гриба в колбах с растительным отваром, с примесью ингредиентов синтетической питательной среды Чапека-7. Питательная среда готовится следующим образом: в 1000 мл водопроводной воды насыпают 10 г нарезанной кукурузной вегетативной массы и кипятят в течение 20 мин. (от начала кипения); отвар процеживают через ватный фильтр, потерю воды в отваре восполняют водопроводной водой до исходного объема. Затем добавляют указанные выше реактивы в том же количестве на 1000 мл отвара.

Приготовленная таким путем жидкая питательная среда разливается по 150 мл в колбы Эрленмейера емкостью 500 мл; стерилизация проводится в автоклаве при 1 атм в течение 1 часа. Когда среда остынет, колбы засеваются культурой триходермы. Гриб культивируется в термостате при 28—29° в течение 5—6 дней. Поверхность среды должна покрываться зеленым грибным газоном триходермы.

Перед применением посевной материал тщательно взбалтывается до получения густой суспензии спор и грибницы гриба, затем им стерильно заполняется аппарат с растительной питательной массой. Количество посевного материала устанавливается от веса взятого растительного субстрата (примерно на 1 кг сухого растительного материала 150 мл суспензии гриба).

Хранение штамма гриба. Исходная культура гриба триходермы высевается на травяной агар (готовится с добавлением агар-агара) в больших пробирках (на косяках). После образования полного газона гриба в термостате культура переносится в холодильник при температуре 2—3°. Пересевы для освежения культуры гриба проводятся через каждые 1,5—2 мес.

Получение биомассы гриба. Аппарат для культивирования гриба должен наполняться растительным питательным субстратом до 2/3. У аппарата внизу есть приспособление для подачи теплого стерильного воздуха, температура которого должна быть равна 28—30°. Напор воздуха свободный. Если аэрация рыхлой питательной массы идет слабо, то через каждые 24 часа в течение 10 мин. она медленно перемешивается винтовым устройством, вмонтированным внутри аппарата.

Через 2 суток стерильно берутся пробы из содержимого аппарата для определения готовности материала, что устанавливается степенью накопления спор гриба на субстрате.

Метод учета спор. Берется 10 г растительного субстрата со середины массы, заливается 30 мл стерильной воды, тщательно взбалтывается в течение 10 мин.; в полученной суспензии под микроскопом подсчитываются споры в счетной камере Горяева. В случае, если концентрация спор высокая, то разведение увеличивается. Затем полученные данные пересчитывают на 1 г субстрата, в котором в нормальных условиях культивирования гриба должно быть не менее 700 тыс. спор.

Сушка материала. Сушка готовой грибной биомассы может осуществляться двумя методами: в одном случае она происходит в самом аппарате для культивирования гриба путем постепенного повышения температуры подаваемого воздуха до 50—60° и постоянного медленного перемешивания массы, а в другом — готовая масса высушивается в специальной сушилке при 80°.

После сушки материал измельчается в закрытой мельнице или дробилке, затем развешивается в бумажных пакетах и упаковывается. Приклеивается этикетка с указанием названия, краткого описания свойств, способа применения, условий хранения и даты. Готовый препарат хранится в прохладном (5—8°), сухом и темном месте. Активность его проверяется на растениях и тест-микробах.

Применение препарата триходермина

Препарат триходермин сохраняется в расфасованном виде в бумажных пакетах по 200 г препарата в пакете.

Препарат — порошкообразная, легко распыляющаяся масса зеленоватого цвета, состоит из зрелых спор гриба триходермы, обрывков мицелия и размельченной растительной ткани. Соотношение материалов, составляющих препарат, таково: 50% субстративного материала, 20% мицелий и 30% спор.

Назначение препарата. Препарат триходермин — живой (споровый) материал, его действие основано, как упоминалось, на биологических и биохимических свойствах гриба.

Действие препарата не рассчитано на моментальность после обработки им определенного материала, а на последствие, когда препарат попадает в почву.

При создании препарата было изучено большое число штаммов триходермы, которые обладали различными свойствами. Как известно, грибов с универсальными свойствами быть не может: у одних доминируют одни, у других иные свойства. Поэтому у грибов отбирались штаммы с наиболее полезными признаками: способностью некоторых штаммов подавлять развитие фитопатогенных микроорганизмов и стимулировать урожайность сельскохозяйственных культур. Применение препарата и основывается на этих признаках.

Подготовка препарата. Препарат может быть использован для всех сельскохозяйственных культур. Основное его применение — обработка семенного материала, клубней, рассады, черенков и т. п. перед посадкой или посевом. Перед использованием он высыпается в чистую воду (колодезную, речную) и перемешивается до получения суспензии. Воды берется столько, сколько нужно, чтобы обрызгать или погрузить в нее обрабатываемый материал. Для обработки семян обычно воды надо немного, а для клубней и рассады — значительно больше.

В качестве посуды для получения водной суспензии препарата можно использовать чистую кадку или воспользоваться несколькими ведрами. Подготовка препарата к применению проводится только в тени.

Применение препарата. Обработка семенного или посадочного материала этим препаратом должна проводиться также в тени, так как прямые солнечные лучи убивают споры гриба и тем самым снижают активность препарата. Желательно, чтобы материал обрабатывался на брезенте или на полу (дощатом, цементном и т. д.).

При обработке семенного материала необходимо добиваться равномерного пропитывания препаратом всех его участков, т. е. чтобы каждое зерно или клубень были со всех сторон облеплены спорами гриба, что достигается обычно разбрызгиванием суспензии препарата опрыскивателем или просто чистым веником при одновременном перемешивании (перелопачивании) обрабатываемого материала.

После обработки семенной или посадочный материал оставляется в покое на 2—3 часа, а затем проводится посадка или посев. Посадка клубней или высев семян делается обычными сельскохозяйственными машинами, предназначенными для этой цели. При использовании препарата изменять технологию посева не нужно. В случае машинной посадки рассады применение триходермина облегчается до минимума: препарат высыпается в водяной бак, и вода в виде суспензии поступает в лунки. Здесь подготовительных работ по применению препарата не требуется.

Норма применения препарата определяется характером обрабатываемого материала. Если обработке подлежат посадочные клубни, корнеплоды, кочерыжки, рассады и т. д., то расход препарата, как и воды для получения суспензии, будет значительно выше, чем при обработке семян. Все препараты и удобрения обычно рассчитываются на гектар, поэтому в таблице представлена также погектарная норма применения триходермина.

Среднегектарная норма применения препарата

Обрабатываемый материал	Норма препарата, кг	Норма воды, л
Картофель, корнеплоды	2,0	30
Кукуруза, огурцы, горох, фасоль, подсолнух и др.	1,6	10
Пшеница и другие мелкосеменные растения	1,6	5
Рассады	3,6	45—50

Другие способы применения препарата. Есть и нестандартные способы применения гриба триходермы в борьбе с болезнями сельскохозяйственных растений, позволяющие получать повышенные урожаи. Сущность способа заключается в том, что грибом триходермой обсеменяются стерильные естественные субстраты: навоз, торф, перегной, компост, черноземная почва, отходы зерна, мякина и т. д., которые после обогащения грибом небольшими порциями вносятся в лунки пропашных культур или просто заделываются в почву. Этот способ дает положительный эффект потому, что стерильность субстрата благоприятствует беспрепятственному размножению гриба в почве, да и сам субстрат, богатый питательными веществами, является прекрасным удобрением для сельскохозяйственных растений. Такой способ применения гриба триходермы впервые был разработан и применен Академией наук Казахской ССР еще в 1954—1956 гг. В 1957 г. аналогичные приемы были испытаны на торфе Всесоюзным институтом защиты растений (Ленинградское отд.), Украинским институтом микробиологии, Саратовским государственным университетом, Академией наук Грузинской ССР и др.

С точки зрения биологической целесообразности этот способ не вызывает возражений, однако практически он неприемлем, поскольку при современных хозяйственных условиях трудно осуществить столь сложную операцию стерилизации или пастеризации субстрата, его обсеменение разводкой гриба, поддержание соответствующей оптимальной температуры, внесение препарата порциями в почву и т. д.

ВЫВОДЫ

Грибы из рода *Trichoderma*, будучи облигатными сапрофитами, обладают широкой ферментативной активностью. Разнохарактерность ее наблюдается не только в разрезе рода, но и вида гриба. Это указывает на необходимость дифференцированного подхода в изучении истинных сапрофитов в отличие от узко приспособленных форм организмов.

Описаны рентабельная технология массового изготовления препарата триходермина и способ его применения в условиях производства.

ЛИТЕРАТУРА

Б е л ь т ю к о в а К. И. и др. 1. Изучение фитопатогенных бактерий и их изменчивости под влиянием факторов внешней среды. 2. Изучение роли и значения антибиотиков и фитонцидов в теории и практике борьбы с возбудителями бактериозов растений. Реферативная информация о законченных н.-и. работах Института микробиологии и вирусологии АН УССР. Киев, 1966.

Б и л а й В. И. Микроскопические грибы — продуценты антибиотиков. Киев, 1961.

С е й к е т о в Г. Ш. Антагонистическое действие триходермы на ризоктонию. Известия АН КазССР, серия микробиологическая, № 3, 1951.

С е й к е т о в Г. Ш., Н и к и т и н а Е. Т. Паразитические свойства грибов рода *Trichoderma*, выделенных из почв Казахстана. Труды Ин-та микробиологии и вирусологии АН КазССР, т. VI, 1962.

С е й к е т о в Г. Ш. Влияние микробного комплекса на рост и развитие картофеля. Сообщ. 1. Труды Ин-та микробиологии и вирусологии АН КазССР, т. 1, 1956.

С о л о в ь е в А. М. Биоэкология корневой губки *Fomitopsis annosa* (Fr.) Karst и меры борьбы с ней в пихтовых лесах Восточного Казахстана. Автореферат. Алма-Ата, 1967.

С е й к е т о в Г. Ш. Препарат триходермин. «Картофель», 1959, № 1.

Т я г н ы - Р я д н о М. Г. Образование аминокислот микроорганизмами в культуральной жидкости и почве. «Микробиология», 1966, т. XXXV, 6.

S i m p s o n F. Microbial pentosanases. III. Some factors affecting the production of pentosanases by *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. *Canad. J. Microbiol.*, 1959, 5.

C h e s t e r s C., Bull An. The enzymic degradation of laminarin. I. The distribution of laminarinase among microorganisms. II. The multicomponent nature of fungal laminarinases. *Biochem. J.*, 1863, 86.

УДК 576.809.55

Г. Ш. СЕЙКЕТОВ, З. С. САУТБЕКОВА

ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТРИХОДЕРМЫ

Для повышения биологической активности микроорганизмов применяют различные методы воздействия. Большое распространение имеют так называемые жесткие мутагены: ультрафиолетовые лучи, ядовитые химические вещества и др. Путем длительной обработки микроорганизмов мутагенами многим исследователям удалось повысить у них продуцирование различных полезных веществ. Однако было установлено, что большая концентрация жестких мутагенов нередко дает отрицательные результаты. Так, например, А. А. Имшенецкий и Л. А. Кузюрина (1966) доказали, что относительно низкие дозы этиленimina позволяют получить мутанты *Asp. niger*, образующие больше лимонной кислоты, чем исходные культуры, а высокие дозы его, наоборот, приводят к появлению мутантов с пониженной способностью образовывать эту кислоту. Далее установлено, что при комбинированном действии этиленimina и ультрафиолетовых лучей можно получить более активные мутагены, чем при действии одного из этих мутагенов в отдельности.

М. Х. Шигаевой и К. А. Тулемисовой (1967) путем трехкратной обработки этиленимином удалось значительно повысить антибиотикообразующую способность *Act. Longisporus ruber*, являющегося в Казахстане антагонистом возбудителя слизистого бактериоза капусты.

За последние годы начали публиковаться результаты экспериментов по влиянию совместного культивирования двух или нескольких микроорганизмов на их функциональные свойства. Так, А. В. Киракосян, Л. А. Ерзинкян и А. Б. Аколова (1966) показали, что при добавлении к культуре азотобактера молочнокислых бактерий азот-ассимилирующая способность его усиливается на 14—48%. Ф. Г. Саруханян и А. Г. Савоян (1966) привели данные по стимуляции роста различных дрожжей при комбинированном их выращивании.

Имеются сведения, что метаболиты одних микроорганизмов в процессе онтогенеза благотворно влияют не только на рост других микроорганизмов, но и на их отдельные физиологические свойства. С. Саоно, Н. А. Красильников и Н. П. Бабьева (1966) привели данные о том, что при помощи некоторых дрожжей можно стимулировать половой процесс у гриба *Zygorhynchus* sp., усиливая у него зиготообразование.

Все приведенные, а также другие данные говорят в пользу того, что мутагенными средствами различного происхождения возможно внести существенные коррективы в физиологические признаки микро-

организмов. Однако заслуживает пристального внимания положение, что жесткие мутагены высокой концентрации менее эффективны в стимуляции полезных свойств организма. Отсюда можно сделать предположение, что менее жесткие и более естественные воздействия на организм окажутся более результативными.

Задачи и объект исследования

В природе и производстве микробиологические процессы, совершающиеся при участии абсолютно чистой культуры, — редкое явление. Всегда приходится иметь дело с целым комплексом организмов. Но как ведут себя микроорганизмы в таком сообществе? Какое влияние оказывают они друг на друга? Какие физиологические явления они переживают? Все это является животрепещущими вопросами, нуждающимися в разрешении в самое ближайшее время. Следует отметить, что эти вопросы на повестке дня стоят уже давно, однако неразработанность точных методик исследования микроорганизмов в процессе жизнедеятельности в естественной среде не позволили вникнуть в их внутренние тайны. Есть целый ряд оригинальных работ, посвященных физиологии отдельных микроорганизмов, но они не дают полного ответа на поставленные вопросы.

В данной статье мы не претендуем на освещение полной картины сложных явлений, происходящих в процессе жизнедеятельности большого комплекса почвенных микроорганизмов, а опишем лишь результаты некоторых опытов, проведенных оригинальными методами.

Задачей наших исследований было выяснение возможности повышения физиологической активности *Tr. lignorum* штамма Т-2 путем воспитания его на метаболитах других микроорганизмов. Этот штамм обладает стимулирующими свойствами по отношению к пшенице, кукурузе, картофелю и др. (Г. Ш. Сейкетов, см. другие статьи в данном сборнике).

Для этой цели были взяты представители четырех физиологических групп микроорганизмов.

Пенициллы, выделенные из огородной черноземной почвы, обладающие слабым антагонистическим свойством по отношению к некоторым фитопатогенным грибам, которые здесь обозначены символами Р₂, Р₃, Р₉ (*Monoverticillata velutina* — Р₃, Р₉, *Monoverticillata funiculosa* — Р₂).

Гриб *Rhizoctonia solani*, полученный из пораженного клубня картофеля в Алма-Атинской области, обладающий фитопатогенным свойством для многих сельскохозяйственных культур. Его символ — RS.

Актиномицет 1618 (*Act. Longisporus ruber* Krass.), выделенный в окрестностях Алма-Аты из черноземной почвы, где была посажена морковь. Продукты жизнедеятельности этого актиномицета обладают высокой антибиотической активностью по отношению к возбудителю слизистого бактериоза капусты (*Bact. carotovorum*). Впоследствии получен концентрат, легко растворяющийся в спирте и воде (Мазунина, 1963; Фролова, Паршина, 1965). Этот актиномицет в таблицах представлен под номером 1618.

Актиномицеты 1179 *Act. niger* (Rossi — Doria) и 2210 *Act. violaceus niger* (Waksman et Curtis). Первый получен из черноземной почвы (из-под капусты) ур. Уш-Конур (выс. 2000 м), а второй — из каштановой почвы горных прилавков (из-под моркови). Оба штамма

не обладают стимулирующими свойствами по отношению к пшенице. В таблицах они будут идти под соответствующими цифрами.

Методика работы

Испытуемые грибы выращивались в колбах на жидкой среде Чапека для грибов (Ч-7), а актиномицеты — на среде 52/6 на круговых качалках при 27—28°C в течение трех суток. Состав среды 52/6 следующий (г): KNO_3 —2; $(NH_4)_2SO_4$ —1; K_2HPO_4 —0,2; $MgSO_4$ —0,25; $CaCO_3$ (мел) — 1; глюкоза — 5; NaCl — 5; крахмал нерастворимый — 10; вода водопроводная — 1000 мл, pH=7,3; стерилизация 30 мин. при 1 атм.

Стерильные культуральные жидкости указанных микроорганизмов, отфильтрованные через фильтр Зейца по 3, 6, 9 и 12 мл, добавлялись к 75 мл обычной жидкой среды Чапека-7, приготовленной в колбах (емкость 0,5 л). Затем среда засеивалась суспензией спор триходермы по 0,5 мл в каждую колбу. Причем для одинакового попадания спор триходермы в каждую колбу посевная суспензия бралась из одного сосуда. Колбы с посевом триходермы содержались в условиях покоя (в термостате) при 27—28°C в течение 6 суток. Контролем служил посев триходермы на обычной среде Чапека-7, но без добавления метаболитов микроорганизмов.

После инкубации выросшая триходерма из первых колб была пересеяна в новые колбы с такими же ингредиентами. Пассажи повторялись многократно. Рост и развитие триходермы первоначально оценивались визуально через 3 суток культивирования по пятибальной системе, а через 6 суток — взвешиванием биомассы гриба. Каждый вариант опыта имел трехкратную повторность.

Характер роста и развития триходермы

На обычной жидкой среде рост и развитие гриба триходермы штамма Т-2 характеризуется некоторыми особенностями. Через 3 суток содержания в термостате в слое питательной жидкости появляются отдельные хлопьевидные (медузовидные) скопления мицелия гриба. По истечении 4—5 суток разрозненные плавающие колонии скапливаются, гифы переплетаются между собой, в результате чего образуется общая пленка, простирающаяся по всей поверхности питательной среды. Одновременно начинают образовываться отдельные клубочки ватообразного воздушного мицелия. Обычно клубочки бывают мелкими, но иногда они расположены в виде россыпи, покрывающей поверхность жидкости. На 6—7 сутки они постепенно принимают зеленый оттенок, который затем окончательно переходит в темно-зеленый цвет. Пигментобразование и окрашивание газона в другой цвет здесь не отмечается. Такой характер роста и развития гриба триходермы принят как удовлетворительный и обозначен цифрой 3.

При добавлении в питательную среду различных доз культуральной жидкости микроорганизмов вначале наблюдалась общая тенденция к угнетению роста триходермы, что показано в таблице 1.

Угнетение было особенно явным в случаях присутствия в среде культуральных жидкостей всех штаммов пенициллов и актиномицета 1618. Рост триходермы в присутствии культуральных жидкостей отмечался вплоть до VI пассажа, после чего некоторые изменения в росте и развитии гриба возникали только в отдельных случаях. Так,

Таблица 1

Зависимость роста триходермы от доз фильтратов культуральной жидкости различных микроорганизмов

№ пассажа	№ штамма и доза фильтрата, мл															Конт-роль Ч-7												
	1618					1179					2210																	
	P ₂			P ₃		P ₂			P ₃		P ₉			RS														
	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9		12											
I	2	2	3	3	3	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
II	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
III	3	3	2	2	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
IV	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
V	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
VI	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
VII	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
VIII	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
IX	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
X	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
XI	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
XII	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
XIII	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Таблица 2

Воздушносухой вес биомассы триходермы, мг

№ пасса-жа	№ штамма и доза фильтрата, мл															Конт-роль Ч-7								
	1618					1179					2210													
	P ₂			P ₃		P ₂			P ₃		P ₉			RS										
	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9		12							
VIII	110	100	80	80	190	170	110	80	130	100	100	160	130	130	110	50	80	55	40	80	100	110	70	120
IX	80	190	120	120	200	150	120	90	200	200	160	140	180	180	220	110	195	170	130	140	180	180	90	130
X	100	180	195	100	180	145	100	80	200	190	145	140	170	200	125	100	195	110	100	165	170	180	60	125

Например, в варианте опыта с добавлением культуральной жидкости актиномицетов 1618 и 1179 рост триходермы заметно улучшался: грибная пленка была сплошной, более мощной; воздушный мицелий более или менее ровным пушистым ковром покрывал поверхность среды и т. д. Словом, резкие изменения развития гриба явно бросались в глаза.

В тех вариантах опыта, где применялись культуральные жидкости других микроорганизмов, вплоть до VIII пассажа никаких изменений в развитии триходермы наблюдать не удалось. И только с VIII пассажа варианты P₂, P₃, P₉, RS, а с IX вариант 2210 начали заметно улучшать рост триходермы, в то время как контроль (Ч-7) оставался без изменений.

Что касается эффективности влияния различных доз культуральных жидкостей микроорганизмов, добавляемых в питательную среду, на развитие триходермы, то здесь какой-либо аналогии между культуральными жидкостями различных микроорганизмов зафиксировать не удалось. При добавлении в питательную среду метаболита актиномицета 1618 лучшие результаты дала доза 6 мл, а при введении актиномицета 1179 — также 6 мл, но на XIII пассаже метаболиты отклоняются уже к дозе 12 мл. Совершенно иначе оказывают свое влияние метаболиты актиномицета штамма 2210: здесь почти в одинаковой степени хороший эффект дают три самых больших дозы (6, 9 и 12 мл), а малая доза (3 мл) не стимулирует роста триходермы.

По отношению к дозам метаболитов пенициллов триходерма вела себя крайне дифференцированно. В случае P₂ лучший рост ее отмечался (как и в предыдущем варианте) в довольно широком диапазоне дозировок (6, 9, 12 мл).

Продукты жизнедеятельности пеницилла P₃ стимулируют действие только в больших дозах. И, пожалуй, из всех ранее перечисленных вариантов опыта наилучший эффект стимулирующего влияния принадлежит метаболиту пеницилла P₉. У этого штамма доза культуральной жидкости в 3 мл дала лучшее развитие триходермы. Что касается RS, то здесь стимулирующее влияние несколько уступает P₉ и простирается от самой малой дозировки в 3 мл до большой — в 9 мл.

Резюмируя приведенные данные, следует отметить, что продукты жизнедеятельности микроорганизмов при добавлении в питательную среду в малом количестве вначале не оказывают никакого положительного влияния на развитие гриба триходермы. После многократных пассажей, т. е. при длительном воспитании гриба в этих условиях, он начинает менять свое поведение, и его развитие несравненно улучшается. Здесь можно отметить некоторую последовательную смену нескольких процессов: угнетение — адаптация — стимуляция. Эти явления, видимо, в какой-то степени имитируют взаимоотношения почвенных микроорганизмов в естественных условиях.

В проведенных наблюдениях особый интерес представляет то, что дозировка добавляемых метаболитов микроорганизмов играет существенную роль для роста и развития триходермы. В основе этого явления лежит, видимо, важная биологическая сущность, указывающая на узкую приспособленность представителей почвенных микроорганизмов к концентрации продуктов жизнедеятельности своих соседей.

Влияние антибиотика на рост и развитие триходермы

Выше упоминалось, что из *Act. Longisporus ruber* Krass штамм 1618 методом биосинтеза были получены два вещества (белое и крас-

ное). Белое вещество по отношению к *Bact. carotovorum* (возбудитель слизистого бактериоза капусты) не обладало антибиотической активностью, а красное, напротив, оказалось высокоактивным. Красное вещество (природа неизвестна) было сконцентрировано и в виде спиртового раствора предложено для применения.

Из предыдущих опытов известно, что культуральная жидкость актиномицета штамма 1618 после VI—VII пассажей давала хорошую стимуляцию роста и развития гриба триходермы. Поэтому необходимо было выяснить причастность к этому явлению антибиотических веществ, продуцируемых этим штаммом. Для этого был поставлен следующий опыт: 1 мл концентрата 1618 растворен в 1 л дистиллированной воды. Из раствора путем последовательного разбавления получены разведения 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000, 1:100 000 и 1:1 000 000. Затем от каждого разведения брали по 3, 6, 9 и 12 мл раствора и наливали в 75 мл питательной среды Чапека-7. На эти среды обычно высевалась триходерма. Условия опыта не отличались от предыдущих.

Наблюдения за ростом и развитием триходермы показали, что испытуемый концентрат положительно на нее не влияет. Наоборот, было отмечено явно угнетающее действие: на 4 сутки развития гриба в вариантах с добавлением разведений 1:10, 1:100, 1:1000 на поверхности среды появились отдельные скудные пучки воздушного мицелия. На 5—6 сутки они, не увеличиваясь ни в размере, ни в количестве, приобрели ярко-желтую окраску, что является явным признаком угнетенного роста. При добавлении 1:1 000 000 разведения рост триходермы не отличался от контрольного варианта. Дальнейшее повторение пассажей не дало положительных результатов, поэтому вариант с концентратом из опытов был исключен.

Полученные данные показывают, что стимулирующее влияние актиномицета штамм 1618 не связано с его антибиотическим свойством. Кстати, в пользу такого положения говорят и некоторые другие данные, полученные в нашей лаборатории с совершенно иными штаммами микроорганизмов.

Влияние метаболитов микроорганизмов на биомассу триходермы

До этого речь шла о визуальной картине роста и развития гриба триходермы в условиях его воспитания на среде Чапека-7 с добавкой небольшой дозы метаболитов различных микроорганизмов. В этом разделе будут представлены весовые данные биомассы шестисуточной культуры триходермы тех же вариантов опыта. Для этого культура гриба фильтровалась через бумажный фильтр, вес которого был известен.

Фильтр с биомассой гриба выдерживался в термошкафе при 30° в течение 7 суток. Затем масса взвешивалась на аналитических весах. В таблице 2 приведен чистый вес воздушносухой биомассы гриба триходермы, выращенного на среде Чапека-7 с добавками метаболитов микроорганизмов, и представлены весовые данные VIII, IX, X пассажей; поскольку предыдущие пассажи существенно не изменили развития триходермы, то здесь иллюстрируются только наиболее характерные из них.

Из таблицы 2 видно, что воздушносухой вес биомассы триходермы в контрольном варианте с увеличением числа пассажей не изме-

няется, он равен 120—130 мг на 75 мл питательной среды. В вариантах с добавкой различных доз культуральных жидкостей микроорганизмов можно отметить иную картину. Изменения в весе биомассы гриба характеризуются пропорциональностью к увеличению кратности пассажей. Так, при VIII пассаже наблюдался значительный выход биомассы триходермы при добавке в питательную среду метаболитов актиномицета 1179 (6—9 мл) и пеницилла P₂ (9—12 мл). Метаболиты других микроорганизмов в этом случае существенно не влияли на накопления биомассы гриба, а некоторые (P₉), наоборот, тормозили процесс.

Совершенно другая картина была при IX пассаже. Здесь особенно характерно то, что метаболиты всех использованных представителей микроорганизмов стимулирующе влияли на накопление биомассы триходермы. Поэтому сопоставимую картину между микроорганизмами в этом случае приходится искать только в дозировках метаболитов, введенных в питательную среду испытуемого гриба.

Культуральные жидкости всех представителей актиномицетов, использованных в дозе 6 мл, увеличили выход биомассы гриба на 60—70 мг. Столь же высокие показатели дали P₂, P₃ и RS при дозе в 9 мл. Самый лучший результат отмечен у пеницилла P₉, который дал такой же урожай биомассы триходермы при добавке 3 мл культуральной жидкости. При последующем, X пассаже показатели триходермы почти не изменились.

Из сопоставления данных таблиц 1 и 2 видно, что визуальная характеристика: спорообразование гриба, здоровый и пышный внешний его вид, равномерность спорообразующей поверхности и т. д. — не обязательно должна совпадать с весовыми данными биомассы гриба. Сравнительный анализ табличных данных показывает, что указанная закономерность изменений весовых показателей биомассы триходермы подтверждает результаты визуальной оценки роста и развития гриба, за исключением отдельных незначительных отклонений.

Стимулирующие свойства адаптированной триходермы

Из изложенного материала ясно, что в результате постепенного воспитания триходермы на синтетической среде Чапека-7 с добавкой метаболитов различных микроорганизмов удается вызвать у нее изменения культуральных свойств, которые в значительной степени улучшают рост и развитие гриба. Влияют ли эти изменения на функциональные особенности триходермы — этот вопрос остался открытым.

Для выяснения были проведены опыты с семенами пшеницы, которые обрабатывались культуральной жидкостью, адаптированной на метаболитах различных микроорганизмов триходермы.

Эксперимент проведен следующим образом. Отбирались внешне одинаковые семена пшеницы сорта Казахстанская-420 и помещались в фильтрат культуральной жидкости (в различных разведениях) шестисуточной культуры триходермы. Последняя выращивалась на 75 мл среды Чапека-7 с добавкой по 6 мл культуральной жидкости различных микроорганизмов.

В фильтрате семена выдерживались в течение суток. После этого они высаживались на слабо агаризованную среду Ковровцева в литровые стеклянные банки по 30 штук. Через 7 суток выросшие расте-

ния извлекались из банок, корни их промывались в водопроводной воде, высушивались в термошкафе.

Воздушносухие растения повариантно взвешивались и высчитывался средний вес каждого растения. Средневесовые данные растений пшеницы, обработанных филтратом культуральной жидкости адаптированных триходерм после X пассажа, представлены в таблице 3 (каждый вариант опыта, где триходерма культивировалась на среде с добавками культуральной жидкости посторонних микроорганизмов, обозначен символами этих же микроорганизмов). Контрольные варианты, где семена пшеницы обрабатывались водой, обозначены знаком В, питательной средой Чапека-7 (Ч-7), филтратом культуральной жидкости исходного (неадаптированного) штамма триходермы — Т-2.

Таблица 3

Воздушносухой вес растений пшеницы, обработанных метаболитами триходермы после X пассажа, мг

Вариант	Контроль	Культуральная жидкость	Разведение		
			1:100	1:1000	1:10000
В	14,0				
Ч-7	14,0				
Т-2		15,0	15,5	14,5	16,0
1618		13,0	14,5	18,5	15,0
1179		17,0	15,5	16,0	14,5
2210		16,5	14,0	15,5	14,5
P ₂		16,5	17,5	17,0	17,0
P ₃		12,5	16,0	14,5	15,0
P ₉		16,0	17,0	15,5	15,5
RS		14,0	16,0	15,5	14,5

Из данных таблицы 3 видно, что средний воздушносухой вес растений пшеницы контрольных вариантов (В и Чапека-7) не превышал 14 мг. В остальных случаях, когда семена пшеницы обрабатывались метаболитами триходермы, воспитанной на среде Чапека-7 в количестве 75 мл с добавкой 6 мл культуральной жидкости различных микроорганизмов, наблюдались значительные изменения в накоплении биомассы растений. Эти изменения отличались между собой в зависимости от характера влияния метаболитов микроорганизмов и разведений культуральной жидкости триходермы. Так, исходный штамм триходермы (Т-2), не подвергшийся адаптации, по сравнению с контрольными вариантами дал повышенное накопление биомассы растений, что особенно заметно при разведении филтрата в 10 000 раз (16 мг). Примерно такие же весовые данные получены в вариантах с применением метаболитов актиномицетов 1117 и 2210, а также грибов P₃, P₉ и RS с той разницей, что здесь лучшие результаты (16—17 мг) относились к чистой культуральной жидкости триходермы.

Разведения культуральных жидкостей указанных вариантов почти не превышали контрольных. Это означает, что по эффективному влиянию на накопление стимулирующих веществ триходермы перечисленные организмы значительно уступают исходному штамму триходермы.

В X пассаже особенно интересные данные были получены с применением актиномицета 1618 и пеницилла P₂. При разведении культуральной жидкости триходермы 1:1000 в первом случае средний воздушносухой вес одного растения оказался равным 18,5 мг, во втором — 17 мг, а в последующем даже при разведении 1 : 10 000 — 15 мг.

Таким образом, данные указывают на то, что продолжительное воспитание триходермы на малых дозах метаболитов некоторых микроорганизмов не только улучшает культуральные особенности, но и положительно влияет на биосинтез стимулирующих веществ. Однако следует сказать, что пышный рост и развитие микроорганизмов не всегда сопровождается повышенным накоплением физиологически активных продуктов. По-видимому, такое положение было и в нашем случае.

Принципиальной стороной данной работы является то, что малая доза метаболитов некоторых микроорганизмов, добавляемая в питательную среду, является как бы постоянным раздражителем, позволяющим либо временно изменить физиологическую функцию триходермы, либо вызвать в ней истинную мутацию.

Несомненным является одно: по мере увеличения числа пассажей свойства организма (положительные или отрицательные) изменяются, и продолжительное воздействие углубляет этот процесс. Поэтому при дальнейших наблюдениях представляло интерес сопоставление стимулирующего действия метаболитов триходермы X пассажа с последующим XIII пассажем (табл. 4).

Таблица 4

Воздушносухой вес растений пшеницы, обработанных метаболитами триходермы после XIII пассажа, мг

Вариант	Контроль	Культуральная жидкость	Разведение		
			1:100	1:1000	1:10 000
В	14				
Ч-7	15				
Т-2		13	14	17	14
1618		18	16	18	20
1179		17	16	18	16
2210		15	14	18	19
P ₂		15	17	16	16
P ₃		15	17	15	14
P ₉		20	14	15	14
RS		13	14	16	14

Цифровые показатели XIII пассажа (табл. 4) по сравнению с X пассажем в контрольных вариантах (В, Ч-7, Т-2) и при грибных ингредиентах (P₂, P₃, P₉) никаких существенных изменений не показали. Но иная картина наблюдалась в случаях с актиномицетами. Штамм 1618 по-прежнему дал самые лучшие показатели: при разведении культуральной жидкости триходермы 1 : 1000 воздушносухой вес одного растения равнялся 18 мг, а при 1:10 000 — 20 мг, что превышает контрольный вариант (В) на 6 мг. Метаболиты актиномицетов 1179 и 2210 в данном случае оказали также хорошее влияние на стимулирующие свойства триходермы, позволившие получить больше биомассы растений пшеницы на 4—5 мг.

После экспериментов, естественно, возник вопрос: в самом ли деле продукты жизнедеятельности отдельных микроорганизмов могут так глубоко влиять на биосинтез активного начала триходермы? Не причастны ли к этому явлению те небольшие дозы метаболитов инородных микроорганизмов, добавляемые в питательную среду в качестве ингредиента? Казалось, нет места для сомнения, так как в испытуемой культуральной жидкости триходермы эти инородные метаболиты составляют очень мизерную долю. Так, например, при последовательно ступенчатом разведении культуральной жидкости трихо-

дермы 1 : 1000 содержание их соответственно разбавляется в 13 500 раз.

Чтобы не было сомнений, мы решили проверить стимулирующую активность испытуемых микроорганизмов на растениях пшеницы. В таблице 5 представлен воздушносухой вес растений пшеницы, семена которой обрабатывались фильтрами натуральных культуральных жидкостей различных микроорганизмов и их разведениями. Условия опыта были совершенно одинаковыми с предыдущими.

Таблица 5

Воздушносухой вес растений пшеницы, обработанных метаболитами различных микроорганизмов, мг

Варианты	Контроль	Культуральная жидкость	Разведение		
			1:100	1:1000	1:10 000
В	14				
Ч-7	15				
Т-2		13	16	15	17
1618		14	16	16	14
1179		16	13	13	14
2210		15	15	16	15
P ₂		14	15	16	15
P ₃		14	16	16	16
P ₉		15	14	14	16
RS		14	15	15	16

Из данных таблицы 5 видно, что метаболиты триходермы Т-2 наиболее стимулируют накопление биомассы развивающегося растения.

Культуральные жидкости других микроорганизмов как в натуральном, так и в разведенном видах не влияют на жизнедеятельность растений; некоторые из них имеют очень незначительное влияние, что практически не учитывается.

Таким образом, из опытных данных совершенно определенно можно сделать заключение, что стимулирующее действие продуктов жизнедеятельности триходермы на рост и развитие растений пшеницы несомненно повышается при воспитании на обычной синтетической питательной среде Чапека-7 с добавкой метаболитов некоторых почвенных микроорганизмов.

Выводы

Метаболиты исследованных микроорганизмов, добавляемые в малых количествах в питательную среду, существенно влияют не только на рост и развитие гриба триходермы, но и на его физиологические свойства.

Положительные признаки триходермы усиливаются только после длительного ее воспитания на среде с примесью метаболитов исследуемых микроорганизмов.

В основе влияния метаболитов на биологическую особенность триходермы лежат принципы естественной изменчивости микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

Абрамова Н. В., Мазунина В. И. *Act. Longisporus ruber* шт. 1618 и его антибиотические вещества. Труды Ин-та микробиологии и вирусологии АН КазССР, т. VII, 1963.

И м ш е н е ц к и й А. А. и К у з ю р и н а Л. А. Изменчивость *Aspergillus niger*, вызванная комбинированным действием этиленimina и ультрафиолетовых лучей. «Микробиология», 1966, вып. 5.

К и р а к о с я н А. В., Е р з и н к я н Л. А., А к о п о в а А. Б. О взаимодействии азотобактера и молочнокислых бактерий. «Вопросы микробиологии», вып. III. Ереван, 1966.

С а о н о С., К р а с и л ь н и к о в Н. А., Б а б ь е в а И. П. Стимуляция полового процесса грибов почвенными дрожжами. «Микробиология», 1966, вып. 3.

С а р у х а н я н Ф. Г., С а в о я н А. Г. Метаболиты дрожжей как стимуляторы роста микроорганизмов. «Вопросы микробиологии», вып. III. Ереван, 1966.

Ф р о л о в а Л. Ф., П а р ш и н а Н. В. Биосинтез и некоторые свойства антибиотика 1618. Труды Ин-та микробиологии и вирусологии АН КазССР, т. VIII, 1965.

Ш и г а е в а М. Х. и Т у л е м и с о в а К. А. Индуцированная изменчивость *Act. Longisporus ruber* штамм 1618. Труды Ин-та микробиологии и вирусологии АН КазССР, т. X, 1967.

УДК 631.46.577.15/17

Г. Ш. СЕЙКЕТОВ, Л. М. АМИРХАНОВА

ОТБОР ГРИБОВ — СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ

Одним из способов повышения урожаев сельскохозяйственных культур является использование стимуляторов роста и развития растений. Ростовые стимуляторы микробного происхождения изучены мало. Способность некоторых микроорганизмов выделять в процессе жизнедеятельности биологически активные вещества известна давно и подтверждена целым рядом исследователей. Так, Н. А. Красильников (1958) изучил действие 130 культур различных микроорганизмов на изолированные корни и проростки гороха, пшеницы, ржи и других культур. Автор отметил, что в присутствии фильтратов и экстрактов азотобактера, клубеньковых бактерий некоторые представители рода *Pseudomonas* и *Bacterium* увеличивают прирост растений, повышают урожай зеленой массы и зерна. Эти продуценты биологических стимуляторов роста и развития растений, активизируя биохимические процессы превращения веществ в тканях растений, позволяют получать повышенный урожай.

Исследования Ю. Н. Возняковской и Г. К. Жильцовой (1960) и Ю. Н. Возняковской (1961) показали, что среди микрофлоры, обитающей на поверхности здоровых растений, имеются виды микроорганизмов, которые выделяют вещества, стимулирующие прорастание семян, рост корней, и положительно влияют на урожай.

М. Г. Николаева (1962) и Виденина (1963) при использовании гиббереллина получили положительные результаты прорастания семян зерновых и овощных культур, а также древесных и фруктовых деревьев. Имеются данные о стимулирующем действии гиббереллина на рост проростков кукурузы и пшеницы (Шкляр, 1961).

Работами Т. Г. Катарьян, Н. Х. Чайлахян, М. А. Дрбоглав, В. Г. Кочанкова, Н. В. Давыдова (1963) установлено, что опрыскивание соцветий виноградной лозы водными растворами гиббереллина повышает урожайность бессемянных сортов винограда, увеличивает вес ягод и гроздей. Вкусовые качества ягод при обработке соцветий гиббереллином сохраняются.

Аналогичные исследования по изучению влияния микробов-продуцентов биологических веществ на сельскохозяйственные культуры были проведены и за рубежом.

Так, Weaver (1958), Nelson (1957) наблюдали, что гиббереллиновая кислота положительно влияет на рост и развитие древесных растений и увеличение веса бессемянных ягод.

Использование биологически активных веществ микробного происхождения для интенсификации ростовых процессов растений и получения повышенного урожая сельскохозяйственных культур — сравнительно молодое научное направление; сущность этого явления во взаимосвязи с другими еще не выяснена.

Среди микроорганизмов, обладающих стимулирующими действиями на урожайность сельскохозяйственных культур, не последнее место занимают грибы рода *Trichoderma*. Исследованиями Г. Ш. Сейкетова (1959—1963) установлено высокое стимулирующее действие гриба *Trichoderma lignorum* штамма Т-2 на урожай разных сортов картофеля в разных почвенно-климатических условиях Казахстана (Караганда, Балхаш, Алма-Ата). При этом урожайность картофеля повышалась от 13 до 33% в зависимости от сорта и экологических факторов. Наиболее чувствительны к действию стимулирующих веществ триходермы сорта Карагандинский и Рекорд в условиях города Караганды.

В 1965—1966 гг. К. И. Бельтюкова с сотрудниками (Ин-т микробиологии и вирусологии АН УССР) провела испытания *Trichoderma Koningi* штамма 5320 в полевых условиях с целью борьбы с возбудителем угловатой бактериальной пятнистости огурцов (*Ps. lachrymans*). Опыты показали, что триходерма повышает урожайность огурцов на 19% и снижает поражаемость растений бактериозом в два раза.

Отсюда можно сделать вывод, что в условиях возделывания сельскохозяйственных культур на высокой научной основе разработка и широкое внедрение биологических активаторов роста растений являются одним из перспективных мероприятий в борьбе за высокий урожай.

В данной статье приводятся некоторые результаты испытания штаммов триходермы на проростках кукурузы, пшеницы, гороха, томатов.

Культуры грибов были выделены в Алма-Атинской области из ризосферы почв различных сельскохозяйственных культур.

Методика работы

Испытание музейных культур грибов *Trichoderma* для выявления стимулирующей активности проводилось методом так называемого первичного отбора, который заключается в следующем. Исследуемые штаммы грибов засеивались сплошным газоном на стерильные целлофановые пластинки, расположенные на тонком слое питательного агара Чапека-7 (для грибов) в чашках Петри. Засеянные чашки ставились в термостат (27—28°). На шестой день роста целлофан с газоном развившегося гриба осторожно удалялся с агаровых пластинок, а на агар, в который в процессе роста диффундировали метаболиты испытуемой культуры, наливалось по 10 см³ стерильной воды в каждую чашку для получения вытяжки активного вещества. В эту вытяжку помещали на 24 часа испытуемые семена растений. В опытные и контрольные чашки было разложено равное количество семян (по 20 шт.) В опыте было два контрольных варианта: 1) семена замачивались в воде; 2) в вытяжке из чистого питательного агара также 24 часа. После этого семена как опытные, так и контрольные тщательно промывались в стерильной воде и помещались в чашку Петри на влажную вату. На 6 сутки измерялась высота растений и учитывался их вес. Из полученных цифровых данных высчитывались средние величины.