

ФИТОПАТОЛОГИЯ

А. Р. ВЕРНЕР и В. Ф. АЛЬТЕРГОТ

ОБ ЯВЛЕНИИ МИКОФАГИИ

(Представлено академиком А. А. Рихтером 13 III 1937)

Литическое растворение грибного организма отмечено рядом исследований^(1, 6, 8, 11). Указанным авторам при культуре *Ustilago*, *Verticillium*, *Fusarium* и других грибов совместно с определенными бактериями удавалось установить распад мицелия и спор гриба. Авторы склонны видеть причину распада в угнетающем и лизирующем действии второго организма—бактерии,—рассматривая взаимоотношения между грибным и бактериальным организмом как антагонистические. Вне связи со вторым организмом, а как спонтанное, аналогичное явление лизиса описано Дмитриевым⁽⁵⁾ для актиномицетов.

При разработке некоторых вопросов физиологии грибов рода *Fusarium* нами⁽⁴⁾ неоднократно наблюдалось явление лизиса в чистой культуре; *Fusarium nivium* Smith, культивируемый на рисе, при пересеве на агаризованную среду Ваксмана давал часто резкое растворение мицелия. Четыре-пять дней после посева растущая колония начинала ослизняться, и на 10—12 день с трудом удавалось обнаружить неразрушенный мицелий как на поверхности, так и в самом субстрате. Микроскопирование колонии при этом не показывало наличия загрязнения, что говорило об иных причинах растворения гриба.

Работая не с односпоровой и давно не проверенной на чистоту культуры, мы сочли необходимым получить штаммы гриба из одной споры с проведением их через ряд условий, отрицательно влияющих на бактериальный организм. Приготовленная из односпоровой культуры в стадии обильного спороношения взвесь прогревалась в течение 10—15 мин. при 70° и разливалась на среду Ваксмана, приготовленную на 0.3 N растворе KCN⁽⁹⁾, и в таких условиях полученные штаммы давали энергичное растворение. Нужно поэтому считать, что отмеченный Дмитриевым спонтанный лизис у актиномицетов не является единичным случаем и подтверждается нашими наблюдениями над видами *Fusarium*; мы можем говорить о лизисе без антагонистического воздействия второго возбудителя.

Исследованию причин спонтанного лизиса у грибов рода *Fusarium* и посвящается настоящее сообщение.

Морфология явления лизиса у фузариума в присутствии второго организма описана некоторыми упомянутыми авторами^(8, 11). С лизисом неанта-

гонистическим мы встречаемся впервые, почему считаем необходимым дать его подробное описание.

1. **Х а р а к т е р л и з и с а к о л о н и й.** Лизирующие односпоровые культуры высевались на обычные агаризированные и неагаризированные среды: Ваксмана, сусло, Рихарда и некоторые специальные. При развитии культуры мы могли отметить различные особенности протекания лизиса. В одних случаях начинающая расти колония, не достигая диаметра в 1 см, быстро ослизняется, исчезает мицелий над поверхностью среды, колония превращается в кожистую бесструктурную пленку, едва отличимую от субстрата. При этом скорость нарастания колонии замедляется и рост останавливается. В ряде случаев не удается наблюдать столь быстрого наступления лизиса, колония первоначально, до достижения диаметра в 4—5 см, развивается нормально, затем наступает ослизнение с периферии ее, распространяющееся к середине, что отмечено и Худяковым⁽¹¹⁾. Третий тип внешней картины лизиса проявляется в том, что колония растет нормально до предельных размеров и затем уже спустя 2—3 недели начинается растворение участков ее. Характерно, что нередко на поверхности нацело или частично растворившейся колонии появляются незначительные островки нормального мицелия, разрастающиеся концентрически в дочерние колонии; последнее отмечено и Дмитриевым⁽⁵⁾ для актиномицетов.

2. **М и к р о с к о п и ч е с к а я к а р т и н а л и з и с а.** При перенесении кусочков лизирующей колонии на предметное стекло для раздавленной капли характерен быстрый распад материала, не обнаруживаемого макроскопически в капле воды. Только в редких случаях под микроскопом в таких препаратах удается обнаружить многоклеточный мицелий, отличающийся при этом как бы размытыми границами гиф; обычные обрывки мицелия неопределенной величины и формы без внутреннего содержимого, скопляющиеся в виде неопределенной массы. Характерен общий фон препарата, состоящий из густо разбросанных структурно неопределенных частичек различной величины; размер частиц всегда меньше ширины грибной гифы, и наименьший граничит с разрешающей силой микроскопа. Интересна сравнительно большая устойчивость хламидоспор; часто в казалось бы нацело разрушенной грибной массе попадаются уцелевшие свободные или с небольшими кусочками гиф хламидоспоры. Микро- и макроспоры повидимому менее устойчивы и встречаются только в незначительно разрушенном мицелии.

Явлением дифференциальной устойчивости элементов гриба можно объяснить отмеченное выше образование дочерних колоний и установленные нами различные результаты при отсевах от лизирующей колонии; в одних случаях лизированная нацело колония оказывается стерильной, в других ее удается пересеять. В последнем случае вырастающие колонии давали повторный лизис или практически константные, нелизирующие формы, что аналогично явлению возникновения устойчивых бактериальных форм при бактериографии⁽⁷⁾.

3. **Л и з и с г р и б а в з а в и с и м о с т и о т с у б с т р а т а.** Описанную картину лизиса нам неоднократно приходилось наблюдать, высевая лизирующие и практически нелизирующиеся штаммы *Fus. niveum* на различные агаризированные среды.

Наблюдения за ростом и картина лизиса сведены в табл. 1.

Анализ табл. 1 говорит о непостоянстве лизирующего свойства гриба; штаммы, показывавшие себя длительно устойчивыми к лизису, дают на сусло-агаре и среде Ваксмана лизис при нормальном росте на среде

Таблица 1

Штаммы <i>Fus. niveum</i> Smith	Среда	Начало микроскоп. роста после посева	Ско- рость роста	Начало лизиса с мо- мента высева	Харак- тер ли- зиса ко- лонии	Вто- рич- ное отра- стан.	Глубина лизиса колонии
Штамм III, нелизирую- щийся	Сусло-агар	Через 2 дня	Средний	Не лизи- руется	—	—	—
	Ваксмана	» 2 »	Быст- рый	На 5-й день	С краев	Есть	Отсев положи- тельный
	Рихарда	» 4 »	Медлен- ный	Лизиса нет		—	—
Штамм III (а), ли- зирующийся	Сусло-агар	» 24 час.	Быст- рый	С нача- лом ро- ста	Вся ко- лония	Нет	Отсев положи- тельный
	Ваксмана	» 2 дня	Быст- рый	То же	То же	»	То же
	Рихарда	» 3 »	Медлен- ный	Лизиса нет		—	—
Штамм IV, нелизирую- щийся	Сусло-агар	» 3 »	Средний	На 6-й день	Слабый по пери- ферии	Нет	Отсев положи- тельный
	Ваксмана	» 1 день	Быст- рый	На 5-й день	По пери- ферии	Есть	То же
	Рихарда	» 4 дня	Медлен- ный	Лизиса нет		—	—
Штамм IV (а), ли- зирующий- ся	Сусло-агар	» 1 день	Быст- рый	На 4-й день	Быст- рый с пери- ферии	Нет	Отсев отрица- тельный
	Ваксмана	» 1 »	Средний	То же	Вся ко- лония	»	То же
	Рихарда	» 3 дня	Медлен- ный	Слабый лизис		—	Отсев положи- тельный

Рихарда. Соответственно, лизирующие штаммы обнаруживают быстрый и глубокий лизис на сусле и среде Ваксмана и отсутствие или слабый лизис на среде Рихарда. Характерна зависимость между скоростью прорастания и роста и наступлением лизиса колоний; ускоренный рост колоний сочетается с усиленным лизисом.

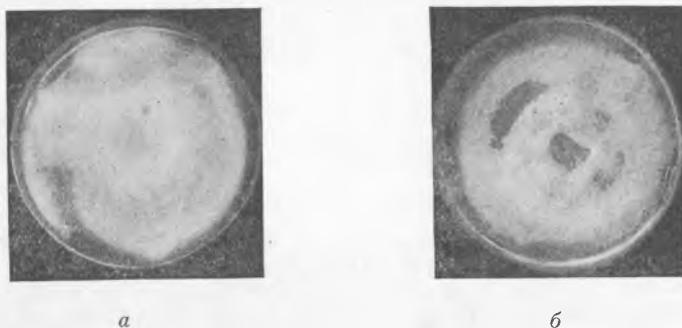
Мы можем рассматривать явление лизиса как результат нарушения при воспроизведении организма соотношения между деструктивными и формативными процессами (3, 2). В результате нарушения соотношений при ускоренном росте можно ожидать избыточное накопление в среде фактора, вызывающего лизис.

4. Г е н е з и с л и з и р у ю щ е г о н а ч а л а. Из трехмесячных лизирующих культур *Fus. niveum* на среде Рихарда отделяются филь-трованием остатки деформированной грибной массы. Отфильтрованная масса растирается в ступке с песком, прибавляется вода (1 : 5) и отсасы-вается на бухнеровской воронке. Полученная слегка опалесцирующая вытяжка, а также отделенный фильтрованием субстрат, на котором раз-вивался грибок, обеспоживаются двояко: одна часть фильтрованием через фильтр Зейца № 3, другая подвергается двукратному кипячению в тече-

Таблица 2

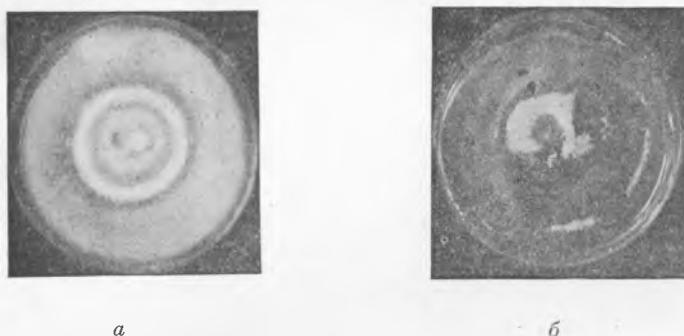
Препараты	Характер лизиса колоний в различные периоды роста			
	Препарат внесен в среду до засева		Препарат нанесен на культуру	
Виды <i>Fusarium</i>	Возраст культуры в днях		Прошло дней после нанесения	
	5	15	18	7
<i>F. nivium</i> — контроль	Нормальная колония покрыва всю чашку			
Ф. Ф.	Лизиса нет, диаметр колоний больше, стега колоний вдвое больше контроля	Первые признаки лизиса с периферии	Углубление лизиса с периферии	Очаги растворения диаметром в 1.0—1.5 см
Ф. Т.	Лизиса нет, диаметр колоний больше, стега колоний вдвое больше контроля	Отдельные прозрачные участки	Недизирующиеся части в виде островков	Очаги растворения диаметром в 1.5 см
М. Ф.	Лизиса нет, диаметр колоний больше, стега колоний вдвое больше контроля	Не отличается от контрольных	Первые признаки лизиса в середине	То же
М. Т.	Лизиса нет, диаметр колоний больше, стега колоний вдвое больше контроля	Просветление отдельных участков	Недизирующиеся части в виде островков	То же
<i>F. lini</i> — контроль	Нормальная колония, покрывшая всю чашку			
Ф. Ф.	Лизиса нет, диаметр колоний превышает контроль в два-три раза	Первые признаки лизиса. Размер колоний несколько больше контроля	Лизис колоний с периферии	В центре очаг в 3.0 см
Ф. Т.	Лизиса нет, диаметр колоний превышает контроль в два-три раза	Большие прозрачные пятна	Незначительные островки мицелия. Вся колон. прозрач.	Очаг края в 2.5 см
М. Ф.	Лизиса нет, диаметр колоний превышает контроль в два-три раза	Очаг растворения 1.0 см	Два очага в 2.0 см	То же
М. Т.	Лизиса нет, диаметр колоний превышает контроль в два-три раза	По краю колон. прозрач. кольцо в 1.5—2.0 см	Ширина кольца в 3.0 см	Очаг в середине в 1.0—1.5 см
			Видны только хламидоспоры на фоне мелких обрывков зерен	Увеличился до 4.0 см
			Видны только хламидоспоры; мицелия нет; зернистость обильная. По сравнению с <i>F. nivium</i> распад глубже	Четыре больших очага
			Встречаются хламидоспоры; мицелия нет; зернистость обильная. По сравнению с <i>F. nivium</i> распад глубже	То же
			Колония более лизирована	Колония более лизирована

ние 15—20 мин. Хранившиеся при комнатной температуре препараты не давали признаков загрязнения. Препараты в дальнейшем обозначаются: Ф. Ф.—обеспложенная фильтрованием среда; Ф.Т.—обеспложенная прогреванием среда; М.Ф.—обеспложенная фильтрованием вытяжка из



Фиг. 1.

грибной массы; М. Т.—прогретая вытяжка из грибной массы. Препараты в количестве 2 см³ вносятся в одной серии опытов в расплавленную среду Ваксмана в чашках Петри до посева, в другой в том же количестве после достижения колонией максимальной величины вносятся на поверхность той же среды в виде отдельных капель. Контролем служат культуры гри-



Фиг. 2.

бов на неизменной среде Ваксмана. Опыты ведутся с нелизирующимися штаммами *Fus. lini* Volley* и *Fus. nivium*. Температура 27—28°. Варианты в двукратной повторности. По той же схеме ставится опыт с культурами в пробирках; результаты идентичны с таковыми на чашках. Приводим в табл. 2 описание только для культур в чашках Петри.

Данные табл. 2 говорят о способности гриба образовывать лизирующее начало; оно накапливается в субстрате, в котором идет литический распад гриба, и может быть получено из остатков распавшейся грибной массы. Литический распад в опытных чашках по сравнению с контрольными виден не только для *F. nivium* (фиг. 1, *a*—контроль; фиг. 1, *b*—нанесено М.Т.), но и характерен своей глубиной, для нелизовавшегося до того вида *F. lini* (фиг. 2, *a*—контроль; фиг. 2, *b*—нанесено Ф. Ф.). Обращает на себя внимание термостабильность фактора, вызывающего лизис.

* Штамм получен от А. И. Райлло.

Сумму процессов, связанных с лизисом, мы склонны рассматривать поэтому как складывающуюся из раздражающего действия на организм нежизненного начала, которое приводит к лизису, и лизиса собственно; последний может быть уподоблен распаду организма при бактериофагии.

Рассматривая это положение как рабочую схему, мы можем описанные до сих пор явления лизиса у грибов считать принципиально отличающимися от бактериофагии в понимании Д'Эрелля (¹⁰, ³, ²) и рассматривать их как аутомикофагию.

Кафедра микробиологии.
Саратовский государственный университет.

Поступило
13 III 1937.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. N. V a m b e r g, *Phytopathology*, **21**, 881 (1931). ² V a i l, *ZS. f. Immunitätsforschung*, **38** (1923). ³ G. B o r d e t, *Ann. Inst. Past.*, XXXIX, 717 (1925). ⁴ А. Р. В е р н е р, *ДАН*, IV, 1—2 (1935). ⁵ С. Ф. Д м и т р и е в, *Журнал микроб. и иммуноб.*, XIII, 2 (1934). ⁶ D. F. J o h n s o n, *Phytopathology*, **21**, 841 (1931). ⁷ С. С. К а з а р н о в с к а я, *Бактериофагия*, Изд. Ак. Наук СССР (1932). ⁸ Д. М. Н о в о г р у д с к и й, *ОМЕН*, 1 (1936). ⁹ А. А. Р и х т е р и А. Р. В е р н е р, *Журн. оп. агр. Ю.-В.*, IX, I (1931). ¹⁰ F. W. T w o r t, *Lancet*, II, 1251 (1915). ¹¹ Я. П. Х у д я к о в, *Микробиология*, IV, 2 (1935).