

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

С. МЕДВЕДЕВА

ТОКСИНЫ *FUSARIUM BUCHARICUM* JACZ. И *FUSARIUM GRAMINEARUM* SCHW.

(Представлено академиком А. А. Рихтером 21 IV 1937)

В литературе имеется большое количество работ, касающихся вопроса воздействия токсинов, выделяемых паразитными грибами, на растения и попытки выяснения их химической природы. По вопросу о природе токсического начала высказываются различные точки зрения. Одни исследователи, как Броун (2), Уайт (6), полагают, что токсически действующие вещества являются ферментами по своей природе и поэтому термолабильны, другие склонны рассматривать токсины как простые химические соединения. Шаффнит и Людтке (5) на основании своих исследований над токсинами *Fusarium*, вызывающего увядание некоторых растений, приходят к заключению, что амины являются тем токсическим началом, которое вызывает увядание. Элпидина (7) считает, что аммиак является действующим началом токсина. Гречушников (3) в своей работе о токсинах ржавчины высказывает соображение, что действующее начало токсина состоит из аммиака и мочевины. Таким образом имеющиеся в литературе данные по этому вопросу еще очень разноречивы и не позволяют сделать вполне определенное заключение.

В нашей работе исследовались токсины *Fusarium bucharicum* и *Fusarium graminearum*.

Fusarium культивировался на измененной среде Рихарда: пептон 8.65 г, K_2HPO_4 5 г, MgSO_4 2.5 г, Fe_2Cl_6 20 мг, тростниковый сахар 50 г, дистиллированной воды 1 000 см³. Рост *Fusarium* на данной среде продолжался в течение 2 месяцев. По указаниям Шаффнита и др. этот срок является вполне достаточным для максимального выделения токсинов в среду. По окончании этого срока раствор был отфильтрован и подвергнут химическому анализу.

В растворе были определены аммиак и мочевина. Свободный аммиак определялся отгонкой жидкости, подщелоченной СаО под вакуумом в титрованную H_2SO_4 . Анализ показал, что в среде имеется значительное количество аммиака.

В 100 см³ среды, на которой развивался до отфильтровывания *Fusarium graminearum*, содержалось 19.73 мг NH_3 . В 100 см³ среды, зараженной *Fusarium bucharicum*, — 21.74 мг NH_3 . Мочевина определялась по аммиаку

после гидролиза уреазой. В 100 см³ среды после культивирования на ней *Fusarium graminearum* содержалось мочевины 8.4 мг и в 100 см³ среды, зараженной *Fusarium bucharicum*, — 8.90 мг мочевины.

Наряду с определением аммиака и мочевины в фильтрате производилось также определение органических кислот, которое дало отрицательные результаты: кислот в среде не было обнаружено.

Наши данные относительно присутствия кислот в среде и их участия в образовании токсического начала расходятся с данными Уайта, который изучал действие различных органических кислот на растения и пришел к выводу, что эти кислоты повидимому составляют действующее токсическое начало, вызывающее завядание растений.

То обстоятельство, что в фильтратах нами не были обнаружены органические кислоты, может служить указанием на то, что возможность участия кислот в образовании действующего токсического начала должна быть исключена, и в этом отношении нельзя согласиться с Уайтом, придающим такое большое значение органическим кислотам.

Что же касается концентрации водородных ионов в фильтрате, которая по предположениям некоторых авторов играет также известную роль в увядании растений, то определения показали, что первоначальная кислая реакция среды под влиянием развивающегося на ней гриба сдвигается в сторону подщелачивания.

Стерильный контрольный раствор Рихарда имел рН равным 5.27, после двухмесячного роста на нем *Fusarium bucharicum* достиг 6.97 и 6.48 после *Fusarium graminearum*. Подобное явление отмечается многими авторами и свидетельствует или об отсутствии кислотообразования у *Fusarium*, или об очень незначительной способности. Во всяком случае отношение $\frac{\text{аммиак}}{\text{органическая кислота}}$ никем не исследовалось у *Fusarium*, но имеющиеся данные говорят только о большой аммонификационной способности и большой выносливости *Fusarium* к щелочной реакции.

Испытание жидкостей на токсичность проводилось несколькими методами: методом увядания Шаффнита, введенным Брандесом (1) в 1919 г., методом проращивания семян и учетом изменения проницаемости плазм методом интерферометрии. Опытными объектами для изучения увядания служили томаты, которые срезались под водой и помещались в испытываемые растворы. В качестве контроля был взят стерильный раствор Рихарда. Для того чтобы ближе подойти к разрешению вопроса о том, являются ли ферменты действующим началом токсинов, мы в опытах по увяданию часть растворов подвергали кипячению, инактивируя таким образом ферменты, и сравнивали затем состояние растений в кипяченых и некипяченых растворах.

Предполагая, что одной из причин, вызывающих увядание растений, может быть также высокая концентрация раствора (следовательно и высокое осмотическое давление, на что указывает и Уайт), мы употребляли растворы различных концентраций—100, 50, 20 и 10%. Осмотическое давление стерильного раствора равно 4,838 атмосферы, осмотическое давление среды после двухмесячной культуры *Fusarium bucharicum* — 3,0016 атмосферы *. Результаты опыта представлены в табл. 1.

Сравнивая состояние растений в растворах стерильных (контрольных) и фильтратах, мы видим, что в первых растения не теряют своего тургора и остаются нормальными в течение суток (за исключением 100% раствора),

* Осмотическое давление определялось криоскопическим методом.

Таблица 1

Растворы	Состояние растений через 1 час	Состояние растений через 2 часа	Состояние растений через 5 час.
Стерильная среда Рихарда 100%	Растение нормально	Нижн. листья на- чинают скручиваться и увядать	Нижн. листья явно увяли, верхн. сильно скручены
Стерильная среда 50%	» »	Растение нормально	Слабое скручивание нижн. листьев
Стерильная среда 20%	» »	» »	Растение нормально
Стерильная среда 10%	» »	» »	» »
Фильтрат неки- пяченный 100%	Начинается увяда- ние нижн. листьев	Нижн. листья яв- но увяли, верхн. скручиваются	Полное увядание ра- стения
<i>Fusarium buch- aricum</i>			
Фильтрат неки- пяченный 50%	То же	Нижн. листья увяли	То же
То же 20%	Растение нормально	Нижн. листья увя- дают	Нижн. листья явно увяли, верхние скру- чиваются
То же 10%	» »	Скручивание нижн. листьев	То же
Фильтрат кипя- ченный 100%	Начинается увяда- ние нижн. листьев	Сильное увядание нижн. листьев, скручивание верхн.	Растение явно увяло
<i>Fusarium buch- aricum</i>			
Фильтрат кипяче- ный 50%	То же	То же	То же
То же 20%	Растение нормально	Начинается увяда- ние нижн. листьев	Нижн. листья увяли, верхние нормальны
То же 10%	» »	Растение нормально	Увядание нижн. ли- стьев
Фильтрат неки- пяченный 100%	Нижн. листья увя- дают	Нижн. листья явно увяли, верхн. начи- нают увядать	Полное увядание ра- стения
<i>Fusarium grami- nearum</i>			
Фильтрат некипя- ченный 50%	Растение нормально	Нижн. листья силь- но увяли, верхн. начинают увядать	То же
То же 20%	» »	То же	Нижн. листья явно увяли, верхн. начи- нают увядать
То же 10%	» »	Скручивание нижн. листьев	То же
Фильтрат кипя- ченный 100%	Начинается увяда- ние нижн. листьев	Нижн. листья явно увяли, верхн. на- чинают увядать	Явное увядание ра- стения

(Продолжение).

Растворы	Состояние растений через 1 час.	Состояние растений через 2 часа	Состояние растений через 5 час.
<i>Fusarium graminearum</i>			
Фильтрат кипяченый 50%	Начинается увядание нижн. листьев	Нижн. листья явно увяли, верхн. начинают увядать	Явное увядание растения
То же 20%	То же	Нижн. листья увяли, верхн. нормальны	Начинается увядание верхн. листьев
То же 10%	Растение нормально	Начинается увядание нижн. листьев	Нижн. листья явно увяли, верхн. нормальны

в фильтрах же наступает очень быстрое увядание—через 5 часов. Здесь токсичность фильтратов обнаруживается очень ясно.

Из полученных результатов явствует, что как в некипяченом, так и в кипяченом фильтрате (в котором ферменты были инактивированы), наблюдается совершенно аналогичная картина увядания. Таким образом высказываемое некоторыми авторами предположение о том, что токсины увядания имеют ферментативную природу, не находит себе подтверждения в наших опытах, так как фильтрат не потерял своих токсических свойств в результате кипячения.

В стерильном 100% растворе (контроль) наступало очень быстрое увядание растений, в разбавленных же стерильных растворах растения были нормальны. Это обстоятельство указывает на то, что здесь повидимому имеет значение высокая концентрация раствора, приводящая к увяданию.

Второй опыт—с проращиванием семян горчицы и пшеницы. Семена протравливались 15 мин. 0.05% сулемой, затем помещались для проращивания в чашки Петри на стеклянные палочки. В чашки наливались испытуемые растворы кипяченые и некипяченые. Чашки Петри стерилизовались при 100° 2 часа. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Растворы	Семена	Дата посева 1936 г.	Колич. семян посеянных	Начало прорастания на 2-й день; кол-во лич. семян	Колич. проросш. семян на 4-й день	Колич. проросш. семян на 5-й день	Общее колич. проросших семян
Стерильная среда	Горчица . .	14 III	11	6	7	8	8
	Пшеница . .	26 III	11	6	8	9	9
Среда некипяченая после <i>Fus. graminearum</i>	Горчица . .	14 III	14	7	10	11	11
	Пшеница . .	26 III	11	9	9	10	10
Среда кипяченая после <i>Fus. graminearum</i>	Горчица . .	14 III	17	8	9	11	11
	Пшеница . .	26 III	14	9	10	10	10
Среда некипяченая после <i>Fus. bucharicum</i>	Горчица . .	14 III	14	5	7	8	8
	Пшеница . .	26 III	11	7	7	8	8
Среда кипяченая после <i>Fus. bucharicum</i>	Горчица . .	14 III	17	6	8	9	9
	Пшеница . .	26 III	13	8	8	9	9

Результаты опытов показывают, что среды не задерживают прорастания семян. Как в контрольном растворе, так и в фильтрах среды процент проросших семян и скорость прорастания одинаковы.

Таким образом на основании этих опытов можно сделать заключение, что метод проращивания семян не может служить надежным критерием определения токсичности тех или иных растворов.

Третий метод, примененный нами для испытания жидкостей на токсичность, заключался в учете изменения проницаемости плазмы интерферометрически. В качестве испытуемого объекта был взят клубень картофеля, который нарезался небольшими кусочками, и кусочки из сердцевинной паренхимы погружались в соответственные растворы. Навеска кусочков картофеля равнялась в каждом случае 10 г, объем жидкости 10 см³. Центрифугировалось 6 мин.

Результаты опытов представлены в табл. 3.

Таблица 3

Растворы	Средний отсчет по интерферометру (жидкость до погруж. картофеля)	Средний отсчет по интерферометру (после центрифугирования)	Разница
Среда стерильная	0.144	0.208	0.064
Среда некипяченая (<i>Fus. graminearum</i>) . . .	0.768	0.992	0.224
Среда кипяченая (<i>Fus. graminearum</i>)	0.672	0.734	0.062

Сопоставляя показатели интерферометра во всех 3 средах, можно отметить, что проницаемость в среде, не подвергнутой кипячению, значительно повышается. В среде кипяченой никаких изменений обнаружить нельзя. Последнее явление трудно объяснить, возможно оно зависит от присутствия летучих веществ в фильтрате, хотя ядовитых альдегидов нами не было обнаружено.

Таким образом из испытанных нами 3 методов определения токсичного увядания после культивирования фузариума наиболее надежными являются метод увядания и метод учета изменения проницаемости плазмы.

Присутствие значительного количества аммиака в фильтрах, термостабильность токсических веществ и отсутствие альдегидов и органических кислот могут до некоторой степени служить подтверждением положения, выдвинутого А. А. Рихтером⁽⁴⁾, о термостабильности токсического начала, подтвержденного Элпидиной и Гречушниковым и показавшего, что действующим началом токсинов является аммиак.

Кафедра низших растений.
Московский государственный университет.
Институт физиологии растений.
Академия Наук СССР.
Москва.

Поступило
21 IV 1937.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Brandes, *Phytopathology*, 9 (1919). ² Brown, *Ann. of Bot.*, 29 (1915).
³ Гречушников, ДАН, II, 8 (1936). ⁴ А. А. Рихтер и Гречушников, Журн. оп. агр. ю.-в., VII, 2 (1929). ⁵ Schaffnitu, Lüdtkе, *Ver. d. Deutsch. Bot. Gesel.* (1932). ⁶ White, *Journ. of Agricultural Research.*, 34, 3 (1927). ⁷ Элпидина, ДАН, III, 8 (1935).