В 7

Ю. М. ВОЗНЯКОВСКАЯ



МИКРОФЛОРА РАСТЕНИЙ И УРОЖАЙ



855

Ю. М. Возняковская

МИКРОФЛОРА РАСТЕНИЙ И УРОЖАЙ

Издательство «КОЛОС» Ленинград 1969

УДК 576.8:58.071+631.559

Ученые уже давно обратили внимание, что между величиной урожая и деятельностью микроорганизмов существует тесная связь. Однако лишь сравнительно недавно науке стали известны методы использования микроорганизмов для повышения урожая. В книге обобщен большой экспериментальный материал, полученный автором, а также данные других ученых, работающих над изучением этой проблемы как у нас, так и за границей.

В книге показано разнообразное значение для растений микрофлоры, которая размножается на поверхности корней и надземных органов, а также влияние этой микрофлоры на некоторые процессы, протекающие при хранении и переработке растительного сырья; рассматриваются способы использования микроорганизмов для улучшения условий питания растений, стимуляции их роста, усиления энергии прорастания семян, защиты от фитопатогенных грибов и др.

Книга рассчитана на микробиологов, агрохимиков, агрономов, фитопатологов, работников лабораторий семеноведения.

Все замечания и пожелания просим направлять по адресу: Ленинград, Д-186, Невский пр., 28, отделение издательства «Колос».

4-3-4
55-56-69

ПРЕДИСЛОВИЕ

В постановлении октябрьского (1968) Пленума ЦК КПСС отмечается, что на современном этапе в ускорении темпов развития сельского хозяйства важная роль принадлежит науке.

Одна из важнейших задач сельскохозяйственной науки — всестороннее изучение условий, влияющих на продуктивность растений. Среди этих условий большая роль принадлежит микроорганизмам.

Микрофлора растений составляет неотъемлемую часть внешней среды, с которой взаимодействуют растения. Эта микрофлора влияет на жизнедеятельность растительного организма на протяжении всей вегетации, а впоследствии — на процессы, протекающие при хранении или переработке урожая. До последнего времени при выяснении значения микрофлоры в жизни растений основное внимание уделялось почвенным и ризосферным микроорганизмам, а также эндофитам, являющимся симбионтами растений.

Значительно меньше исследована микрофлора поверхности здоровых растений, особенно их надземных органов. Эпифитным микроорганизмам, название которых происходит от греческих слов επι — поверхность и φυτον — растение, не придавали большого значения, так как считали, что их присутствие на растениях никак не влияет на жизнедеятельность последних и что их состав ограничен немногими видами. Между тем сосуществование растений и микроорганизмов могло сохраняться на протяжении длительного времени только благодаря выработке у них взаимных приспособлений: зеленые растения создают органическое вещество в процессе фотосинтеза за счет воздуха, воды, солнечной энергии и минеральных соединений почвы, а микроорганизмы в подавляющем большинстве питаются за счет готовых органических соединений (мертвых растительных остатков и

выделений корневых и надземных органов вегетирующих растений). В то же время, размножаясь на поверхности растений и около корней, микроорганизмы превращают недоступные для питания растений вещества почвы и удобрений в растворимые, выделяют стимуляторы роста и др.

Свойства, присущие разным видам микроорганизмов, весьма различны, различно и проявление этих свойств в изменяющихся условиях внешней среды. Микрофлора корней и надземных органов относится к так называемой нормальной микрофлоре, всегда сопутствующей здоровым растениям. Однако в некоторых случаях не исключена возможность проявления вредного действия нормальной микрофлоры. При определенных условиях (в частности, при ослаблении организма) ряд ее представителей могут вызывать заболевания.

В настоящее время все больше раскрывается полезная роль микрофлоры, сопутствующей растениям. Сущность полезного влияния микроорганизмов на растения изучена далеко не достаточно, несмотря на то, что оно представляет большой интерес и имеет практическое значение.

Для использования в практике населяющих растения микроорганизмов необходимо прежде всего знать биологические особенности отдельных видов, характер выделяемых ими продуктов обмена (витаминов, антибиотических веществ, набора ферментов и пр.). На этой основе можно понять взаимосвязь микрофлоры с растением, а затем использовать эти знания для улучшения условий роста и развития растений (усиление энергии прорастания семян, улучшение условий питания растений, повышение устойчивости к заболеваниям и др.) и, следовательно, для повышения их продуктивности.

В книге приводятся данные о свойствах разных видов микроорганизмов, о роли корневой и эпифитной микрофлоры в жизни растений, о путях ее использования и условиях, благоприятствующих проявлению ее полезных свойств как при воздействии на живое растение, так и при переработке растительного сырья.

МИКРОФЛОРА НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ (ФИЛЛОСФЕРЫ)*

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ЗЕЛЕНЫХ РАСТЕНИЯХ

Впервые в 1903 г. Бурри (R. Burri) обнаружил, что зеленые части растений обильно заселены микрофлорой. В смывах с листьев различных растений он нашел на 1 *г* зеленой массы: картофеля — 28,6 млн. бактерий, огурца — 15,4, салата — 17,0, клевера — 9,2, яблони — 1,38 млн. бактерий и т. д. После дождя количество микроорганизмов на растениях значительно увеличивалось, что указывало на их способность размножаться в этих условиях.

При высевах на питательную среду смывов с листьев Бурри выделил в качестве преобладающих видов Bact. herbicola, Bact. fluorescens и Bact. putidum**. На основании своих наблюдений он сделал вывод, что микрофлора на растениях довольно однообразна, однако по своему составу отличается от той, которая характерна для почвы, воды и воздуха.

Следовательно, уже эти первые наблюдения показали, что микроорганизмы, обитающие на поверхности растений, относятся к особой группе эпифитов, приспособленных к существованию на разных органах растений.

Дюггели (M. Düggeli, 1904), продолжая работы Бурри, подтвердил его данные и показал, что если овес выращивать под стеклянным колпаком для изоляции от

---

* Термин «филлосфера» предложен английским микробиологом Ластом (F. Last, 1955).

** При цитировании опубликованных работ все названия микроорганизмов приводятся в соответствии с оригиналом.

Сокращения родовых названий микроорганизмов в тексте следующие: Pseudomonas — Ps., Bacterium — Bact., Chromobacterium — Chr., Mycobacterium — Myc., Pseudobacterium — Psdb., Mycococcus — Mycoc., Micrococcus — Micr., Sarcina — Sarc., Bacillus — Bac.

воздуха и пыли, то его зеленые проростки все равно обильно заселяются теми бактериями, для которых поверхность растений является нормальной средой обитания. Автор предполагал, что со стеблей и листьев микроорганизмы переходят на развивающиеся на этом растении семена, а с семян после высева вновь попадают на растения.

По мнению Дюггели, микроорганизмы очень прочно прикрепляются к поверхности растения. Это он объяснял тем, что слизь, окружающая бактериальные клетки, при подсыхании крепко приклеивает их к растению, поэтому легкое растирание исследуемых образцов обычно позволяет обнаружить больше микроорганизмов, чем обычный смыв. В настоящее время увеличение количества микроорганизмов при исследовании растертых образцов нашло иное объяснение. Барнес (E. Barnes, 1965) доказала, что микроорганизмы находятся не только на самой поверхности листа, но частично проникают и в его «поры». Она облучала листья определенной дозой ультрафиолетовых лучей, чтобы уничтожить микробные клетки на их поверхности. Однако после легкого растирания таких облученных листьев в высевах из них вновь обнаруживали тех микроорганизмов, которые были защищены от облучения, находясь в глубине пор.

Методом отпечатков на агаре, которые получают плотным прижатием листьев к питательной среде, было показано, что на поверхности листа микроорганизмы (рис. 1) располагаются в виде микроколоний (V. Leben, 1965). Наличие на листьях колоний микроорганизмов подтверждается и методом последовательных отпечатков с одного и того же листа на ряд чашек с агаровой средой; при этом наблюдается рост большого количества бактерий даже на десятой чашке. Например, на свекле часто обнаруживается более 100 колоний микроорганизмов на 1 $см^2$ листа.

Количество микроорганизмов на растениях непостоянно и зависит от ряда факторов. В частности, большое значение имеют выпадающие осадки, которые способствуют размножению микроорганизмов на поверхности растений; оказывают также влияние вид растения и условия его произрастания.

На разных частях растения микрофлора распределена неравномерно. Например, Н. Д. Чумак (по Е. Н. Ми-

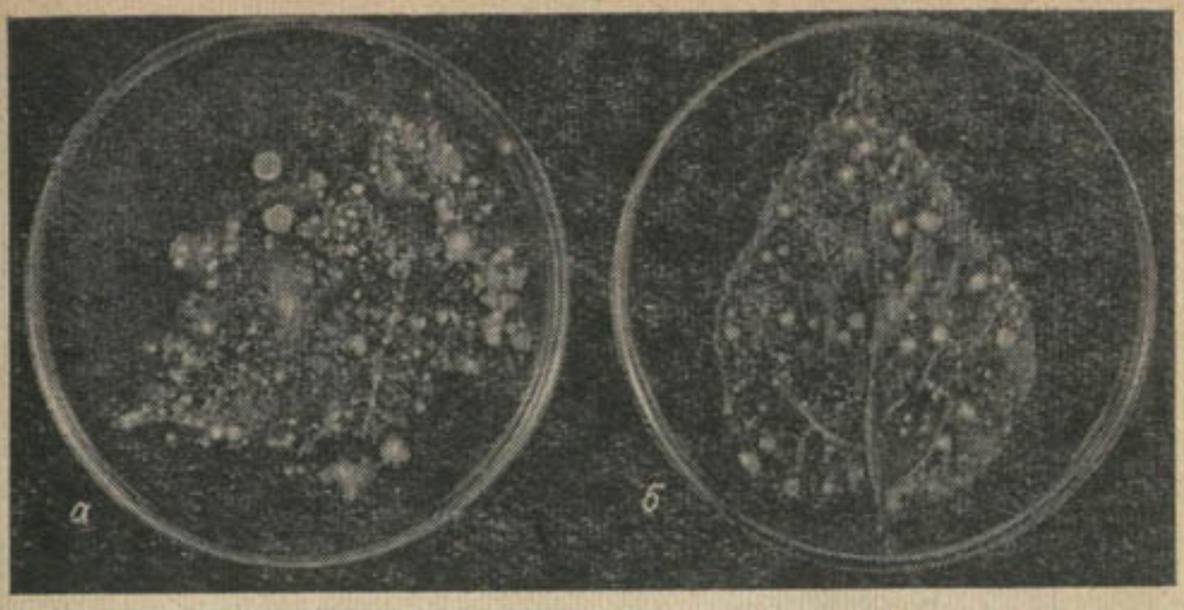


Рис. 1. Микроорганизмы на поверхности листьев (отпечаток на агаре).

а — лист картофеля, *б* — лист липы.

шустину и Л. А. Трисвятскому, 1963) показала, что по мере роста растения количество микроорганизмов на 1 *г* зеленой массы возрастает и что оно различно на листьях, стеблях и колосьях (табл. 1).

Таблица 1

Количество микроорганизмов на надземных органах ржи на 1 *г* сырого веса
(по Н. Д. Чумак)

Орган растения	Фаза		
	колошения	молочной спелости	полного созревания
Лист	2900	1330	332 000
Стебель	460	4800	55 560
Колос	860	400	47 200

При использовании разнообразных питательных сред для изучения эпифитной микрофлоры был обнаружен ряд видов, входящих в разные физиологические группы. Эти микроорганизмы выявлялись на так называемых элективных средах, т. е. благоприятных для размножения микроорганизмов с определенными свойствами.

Из табл. 2 видно, что бóльшая часть эпифитных микроорганизмов относится к группе аммонификаторов, ко-

Таблица 2

Численность микроорганизмов (на 1 *г* сухого веса), входящих в различные физиологические группы, на поверхности листьев

Вид растения	Аммонификаторы	Денитрификаторы	Целлюлозоразлагающие аэробы	Нитрификаторы	Дрожжи	Масляно-кислые бактерии	Фиксатор азота (Clostridium pasteurianum)	Кишечная палочка	Молочно-кислые бактерии
По Ю. М. Возняковской									
Пшеница . . .	2 500 000	2500*	0	0	300	6	13	Не учитывались	
Смородина . .	600 000	2500*	13	0	15 000	25	60		
По Е. И. Квасникову									
Кукуруза . . .	23 000 000	0**	0	10	5 500	1 000	0	3600	10 000
Люцерна . . .	5 600 000	100**	0	0	15	10 000	100	1700	1 000
Хлопчатник .	12 000	0**	0	0	35	1 000	0	720	1 000
Лебеда	830	0**	0	0	18	10	0	350	10
Полынь . . .	11	0**	10	0	0	0	0	25	0

* Восстанавливают NO_3 до NO_2.
** Восстанавливают NO_3 до N_2.

торые питаются органическими азотистыми веществами. Наряду с ними иногда в довольно значительных количествах встречаются молочнокислые бактерии, бактерии из группы кишечной палочки, дрожжи и плесневые грибы. Кроме того, по данным И. В. Воронкевич и Г. Г. Платоновой (1963) и других, на растениях присутствуют и представители фитопатогенной микрофлоры.

Во всех случаях использования растений — в качестве сырья для промышленности, для скармливания животным или для пищевых целей — важно помнить о микрофлоре, которая имеется на растениях и влияет на процессы, протекающие при их переработке и хранении. Приведенные выше данные показывают, что эта микрофлора очень обильна и разнообразна. Поэтому в зависимости от создаваемых условий она может вызывать либо порчу продукции, либо, наоборот, способствовать ее долгому сохранению.

ИСТОЧНИКИ ПИТАНИЯ ЭПИФИТНОЙ МИКРОФЛОРЫ

Поверхность зеленых растений является подходящей средой для размножения многих микроорганизмов, так как они могут питаться веществами, вымываемыми через покровные ткани листьев, стеблей и семян росой и дождем, а также веществами, содержащимися в каплях гуттационной влаги. Они могут использовать и многие летучие вещества, выделяемые надземными органами растений. Более чем 160 лет тому назад стало известно, что промытые листья содержат некоторых веществ меньше, чем непромытые. Затем было установлено, что в дождливую погоду из зерна и из листьев растений вымываются углеводы и минеральные соли, в том числе фосфаты (R. Wasicky, 1959 и др.). В настоящее время эти наблюдения экспериментально подтверждены опытами Тукея старшего, Тукея младшего и Виттвера, которые выращивали растения в растворах, содержащих вещества, меченные радиоизотопами, а затем определяли их в смывах с листьев и в испарениях надземных органов. Оказалось, что в выделениях надземных органов разнообразных растений удается обнаружить минеральные и органические вещества. Из минеральных ве-

ществ особенно легко вымываются натрий и марганец, труднее — кальций, магний, сера, калий, иод и наиболее трудно — железо, цинк, фосфор и хлор. Из органической фракции в смывных водах обнаружены такие аминокислоты, как глютаминовая и аспарагиновая, а также серин, глицин, аланин, аргинин, валин, лейцин, метионин, цистин, гистидин, тирозин, пролин, глютамин, аспарагин и лизин, кроме того, сахара — глюкоза, сахароза, фруктоза, ряд органических кислот и некоторые другие соединения (H. B. Tukey Ir. u. H. B. Tukey S., 1962).

В транспирационных водах ели, сосны, березы, рябины и других древесных пород тоже обнаружены минеральные и органические вещества — азот, фосфор, калий, углеводы, аминокислоты, которые выделяются при испарении вместе с водой (Ю. Н. Новицкая, 1965).

Исследование гуттационной воды, собранной с проростков пшеницы и ячменя, показало, что в ней содержатся азотистые и фосфорные соединения, а также многие аминокислоты. Аминокислоты и некоторые сахара обнаружены в значительном количестве и в смывных водах с набухающих семян ржи, пшеницы, ячменя и фасоли (Л. Н. Вигоров, 1954; H. Börner, 1955; Ю. М. Возняковская, 1964).

Известно, что выделение гуттационной влаги происходит через особые устьица на листе — гидатоды. Они соединены с концами проводящих пучков, которые состоят из трахеид, расходящихся по эпитеме и находящихся в тесной связи с ее клетками (рис. 2). Движущей силой гуттационной воды является корневое давление (Б. А. Рубин, 1961).

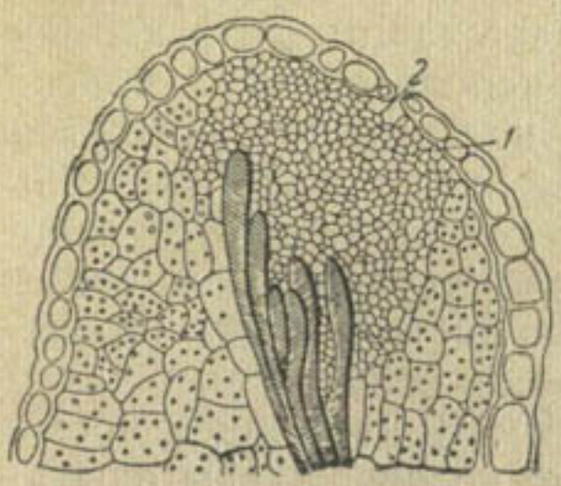


Рис. 2. Приспособления на листьях, защищающие растения от потерь питательных веществ при гуттации (по Б. А. Рубину).

1 — эпитема, выполняющая роль фильтра, 2 — гидатода—полость для выделения воды.

В монографии А. М. Гродзинского (1965) приводится большой фактический материал и сводка работ, касающихся выделительных функций растений. К активным прижизненным выделениям листьев он относит гуттацию, вымывание

растворимых веществ осадками и экскрецию газообразных соединений.

Для питания эпифитной микрофлоры немаловажную роль играет летучая фракция органических соединений, выделяющихся из растений. Так, Фирлинг (K. Vierling) еще в 1921 г. показал, что бактерии способны использовать для своего питания некоторые летучие вещества. Он выделил из почвы микобактерии, которые могли усваивать пары бензина в качестве единственного источника углерода. Позднее было доказано усвоение бактериями из воздуха паров этилового спирта, метана, нафталина. Особенно подробно этот вопрос изучался Н. Г. Холодным (1944). В его работах впервые указывается, что микроорганизмы могут усваивать для своего питания летучие выделения надземных органов растения — цветков, листьев и плодов. Для доказательства этого стекла с почвенной пылью помещали во влажные камеры, где находились различные части растений и прорастающие семена; для сравнения такие же стекла помещали в камеры без растений. Просмотр стекол под микроскопом и сравнение их с контрольными показали, что в присутствии растений и прорастающих семян рост бактерий, находившихся в почвенной пыли, заметно стимулировался.

Особенно благотворное влияние на рост бактерий оказывали выделения цветков.

Исходя из этих данных, Н. Г. Холодный (1944а) сделал предположение, что атмосфера может быть также источником витаминов. Это было подтверждено в 1946 г. работами М. Н. Мейселя и его сотрудников. Оказалось, что дрожжи Endomyces magnusii, грибы Neurospora crassa и Phycomyces nitens усваивали пары тиазола, являющегося компонентом молекулы тиамина (витамина B_1). Было обнаружено витамина B_1 в клетках микроорганизмов: в присутствии паров тиазола — 60—80 *мкг* на 1 *г* клеток, в контроле — следы. Дрожжи Zigosaccharomyces в присутствии паров никотиновой кислоты сильно почковались и копулировали, в то время как без этого витамина такие свойства у них не проявлялись. Способность усваивать из воздуха пары парааминобензойной кислоты была обнаружена у дрожжей Rhodotorula (М. Н. Мейсель, 1947; М. Н. Мейсель и Г. А. Медведева, 1947).

Благодаря очень мелким размерам бактерии обладают относительно большой поверхностью, которой они соприкасаются с внешней средой. В силу этого они имеют возможность поглощать даже чрезвычайно малые количества веществ, находящихся как в воздухе, так и в растворах.

ФАКТОРЫ, ОГРАНИЧИВАЮЩИЕ РАЗМНОЖЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ПОВЕРХНОСТИ ЗДОРОВЫХ РАСТЕНИЙ

Если бы микроорганизмы, даже обладающие полезными свойствами, беспрепятственно размножались на растениях, то это неизбежно привело бы к угнетению последних, а в прикорневой зоне почвы — к конкуренции за питательные вещества. Особенно вредно чрезмерное обилие микрофлоры сказалось бы на растениях в молодом возрасте. Фактически этого не происходит по двум причинам. Поглощаемые растениями элементы пищи расходуются на накопление массы, на рост и т. д., а наружу выделяется лишь небольшая их часть, которая служит пищей для микроорганизмов. Невысокая концентрация питательных веществ как в летучих выделениях растений, так и растворимых в воде, а также наличие у растений приспособлений, защищающих их от возможных при гуттации больших потерь минеральных элементов, — гидатод и мелкоклеточной паренхимы является фактором, ограничивающим размножение микроорганизмов на поверхности растений.

Вторым, не менее значительным фактором, ограничивающим чрезмерное размножение нормальной микрофлоры, является естественный иммунитет растений. Эпифитные микроорганизмы приспособлены к жизни на поверхности растений и не проникают при обычных условиях внутрь их тканей. В настоящее время общепринятым является мнение, что ткани здоровых растений стерильны. Правда, в литературе периодически появлялись работы, в которых приводились факты нахождения бактерий в разных органах растений (Е. Ф. Березова, 1953; S. Touzig a. L. Bracci-Orsengigo, 1955), однако эти сведения нельзя считать убедительными и окончательно подтвержденными. Еще в 1892 г. Рассел

(H. Russel) нашел, что бактерии, искусственно введенные им в стебли растений путем инъекции, в скором времени там погибают. Зодинг (H. Söding, 1959) изучал выживаемость бактерий в живых листьях. Он помещал мясистые листья алоэ, ириса и других растений в суспензии бактерий и создавал вакуум. После удаления воздуха бактерии из суспензии всасывались путем инфильтрации в клетки листьев. Кроме того, исследовалась судьба бактерий Bact. prodigiosum, Bact. ozaenae, Aerobacter aerogenes и Ps. fluorescens, введенных в листья при повреждении их поверхности и внесенных в выжатый из этих растений сок. В результате было установлено, что бактерии, введенные в клетки цельного или поврежденного листа, быстро погибают, тогда как в выжатом соке и на поверхности поврежденных листьев они развиваются. О бактерицидности цельных тканей нельзя судить по действию сока, ее можно определить только методом инфильтрации, так как бактерицидность цельной ткани листа зависит от выделения бактерицидных веществ живыми клетками. В частности, Зодингом установлено, что на поверхность стенок межклетников выделяются бактерицидные вещества типа дубильных.

Обнаружено, что из семян многих растений в момент их прорастания выделяются противомикробные вещества. Поэтому если разложить семена на поверхности питательной среды, предварительно засеянной некоторыми микроорганизмами, то вокруг семян образуются зоны отсутствия роста бактерий. Определение природы антибактериальных веществ семян показало, что они относятся к пигментам типа флавонолов и что их действие выражается в блокировке дыхательных систем микроорганизмов (Н. В. Новотельнов и И. С. Ежов, 1957). Кроме того, в семенах ржи был найден водорастворимый и термоустойчивый антибиотик, активный против бактерий.

Все факты нахождения бактерий внутри растений (за исключением симбионтов) Е. Н. Мишустин объясняет тем, что исследователи имели дело с отмирающими тканями. Живое, здоровое растение обладает иммунитетом, который предохраняет его внутренние ткани от размножения в них бактерий.

Факторами внутреннего иммунитета растений (пассивного и активного) в настоящее время считают: 1) осо-

бенности строения покровных тканей; 2) функциональные факторы, например время открывания устьиц, характер прорастания семян; 3) химический состав клеточного сока — наличие в нем алкалоидов, фенолов, танинов, глюкозидов, фитонцидов, обладающих бактерицидными свойствами; 4) образование защитных некрозов; 5) образование антитоксинов; 6) фагоцитоз (М. В. Горленко, 1959). Два последних свойства появляются у растений после проникновения паразита внутрь органов.

По условиям своего существования эпифитная микрофлора непосредственно не соприкасается с внутренними частями растений и не попадает под влияние факторов внутреннего иммунитета растения. Однако фракции, выделяющиеся наружу через покровные ткани растений, содержат различные органические соединения, в том числе фитонциды. Наличие различных фитонцидов, летучих и нелетучих, присуще всем растениям (Б. П. Токин, 1952). Фитонциды являются важным фактором иммунитета и имеют различную химическую природу. К ним относятся алкалоиды, дубильные вещества, смоляные кислоты и др. Летучие фракции в основном представлены эфирными маслами, терпенами, глюкозидами, а также органическими кислотами и альдегидами. Обычно выделяется одновременно не одно, а несколько веществ, причем у разных растений они могут быть общими. Установлено, что к фитонцидам относятся некоторые соединения, образующиеся в качестве промежуточных продуктов при основных жизненных процессах, протекающих в растениях. Было, например, показано, что из растертых листьев выделяются альдегиды на протяжении 5—7 дней. Это указывало на непрерывность образования подобных веществ при ферментативных реакциях — окислительно-восстановительных превращениях кислот и спиртов (С. С. Скворцов, 1964).

Кроме веществ, образующихся в результате вторичных процессов, в клетках имеются некоторые соединения в готовом виде, выделяющиеся в естественных условиях через устьица, железки и эктодесмы покровных тканей. В числе таких веществ были обнаружены летучие органические кислоты (муравьиная, уксусная, пропионовая, масляная, изовалерьяновая, капроновая) и альдегиды.

Альдегиды выделяли из различных растений: уксусный и пропионовый — из плодов и листьев лука и из яблонь, масляный и изовалерьяновый — из лаванды, капроновый — из эвкалипта, каприловый и пеларгоновый — из плодов цитрусовых, лавровый — из смолы сосны и др. Из камбиального сока хвойных растений был выделен ряд веществ, обладающих антимикробной активностью. Ими оказались норпиновая и абистиновая кислоты, α-пинен и цинеоловая кислота, называемая деркуином (И. В. Указов, 1964).

Механизм действия многих фитонцидов одинаков и заключается в их влиянии на процессы обмена веществ, в которых участвуют функциональные сульфгидрильные группы ферментных белков. Было изучено влияние летучих фракций фитонцидов на активность ферментных систем микроорганизмов и установлено, что происходит их инактивация, приводившая к нарушению жизненных функций организмов.

Несмотря на то, что эпифитные микроорганизмы приспособились к жизни в присутствии летучих фитонцидов, нельзя забывать, что решающее значение при этом имеет концентрация бактерицидных веществ, вырабатываемых растениями. Именно благодаря этому фитонциды не утратили своего значения как фактор, ограничивающий размножение не только вредной, но и нормальной для растений микрофлоры. Токсичность корневого сока тоже имеет большое значение. У различных видов растений в разные периоды их развития токсичность не одинакова, причем в те сроки, когда токсичность высокая, количество бактерий на корнях резко снижается. Предполагается, что фитонциды могут регулировать взаимоотношения между микроорганизмами и растениями благодаря их способности задерживать размножение одних видов и стимулировать другие (Е. Х. Ремпе, 1951; Т. А. Сорокина, 1960).

Замечено, что на поверхности хорошо развитых растений количество микроорганизмов обычно бывает меньше, чем на поверхности слабых растений. Это объясняется тем, что мощное растение вырабатывает больше различных бактерицидных и бактериостатических веществ (С. А. Самцевич, 1961; Г. И. Саникидзе, 1965). В нормальных условиях роста, не приводящих к ослаблению растений, обеспечивается состояние так называемой бу-

ферности между растением-хозяином и населяющей его микрофлорой, которое обычно характерно для случаев раздельного симбиоза между организмами.

ИСТОЧНИКИ ЭПИФИТНОЙ МИКРОФЛОРЫ И СПОСОБЫ ЕЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПО ПОВЕРХНОСТИ РАСТЕНИЙ

Поскольку на растениях присутствует ряд микроорганизмов, оказывающих влияние на различные стороны хозяйственной деятельности человека (получение волокна из лубоволокнистых растений, квашение капусты и проч.), вопрос об источниках эпифитной микрофлоры и ее распространении по поверхности растений интересовал исследователей с первого момента ее обнаружения. Уже Бурри, Дюггели, Велер (1903, 1904, 1929) наблюдали, что зеленые проростки, изолированные от окружающего воздуха, все равно заселяются микроорганизмами.

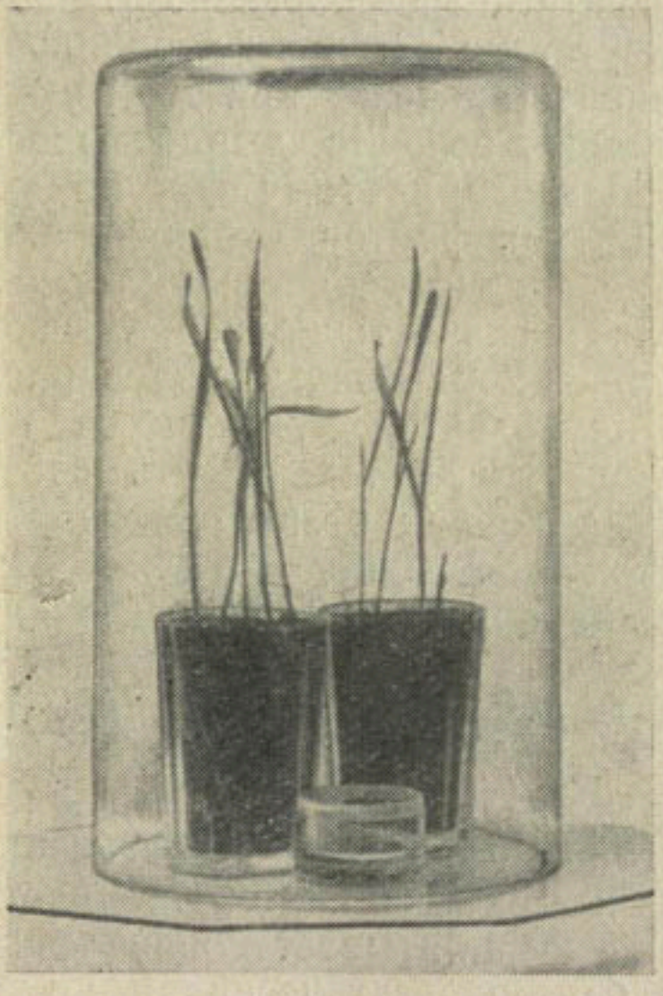


Рис. 3. Способ изучения способности микроорганизмов переходить с семян на проростки.

В настоящее время установлено, что характерным свойством эпифитной микрофлоры в отличие от неэпифитной является ее способность переходить с семян на проростки, жить и размножаться на них. Учитывая эту особенность, нетрудно показать, откуда в основном микрофлора попадает на растения. Для примера можно исследовать микрофлору на поверхности растений, выращенных из нестерильных и стерильных

семян в стерильной и нестерильной почве (рис. 3). В первом случае источником микрофлоры могут быть только семена, во втором случае — только почва.

Подобные исследования проводились неоднократно и показали, что источником микрофлоры, поселяющейся на однолетних растениях, являются не только сами растения (их семена, растительные остатки), но также и почва.

Очевидно, значительная часть неспоровой микрофлоры почвы может существовать не только за счет источников органических веществ, имеющихся в почве, но и за счет выделений растений на их поверхности, т. е. эпифитно. Это подтверждается следующим фактом: в почве, которая поддерживалась в состоянии чистого пара, куда в течение 47 лет не вносили никаких органических удобрений, присутствовали микроорганизмы, способные поселяться на корнях и зеленых частях проростков растений. Очевидно, в данном случае микроорганизмы, перешедшие на растения из почвы, существовали в ней за счет почвенного гумуса, так как никаких других источников органического вещества в почве не было. Уместно вспомнить, что клубеньковые бактерии, являющиеся, бесспорно, симбионтами растений, многие годы могут жить в почве, а затем при посеве соответствующих видов бобовых растений вновь внедряться в их корни и размножаться в клубеньках.

Доказано, что при посеве почвенной болтушки на гуматные среды (кремнекислые пластинки с нанесенными на них α-гуматами кальция) при многократных последовательных пересевах вырастает ряд неспоровых микроорганизмов (Н. А. Мовчан, 1956). Из сероземных почв были выделены неспоровые микроорганизмы, способные разлагать гуминовую кислоту (М. Очилова, 1961). Почти все виды микроорганизмов (Ps. fluorescens, Ps. herbicola, Bact. agile), перечисленные в работах Н. А. Мовчан и М. Очиловой, входят в группировки, обнаруживаемые на растениях.

Источники эпифитных микроорганизмов, поселяющихся на растениях, не ограничиваются их круговоротом: почва — растение — семена — почва или почва — растительные остатки — почва. На листья многолетних растений, в том числе древесных и кустарниковых пород, микроорганизмы не могут попасть ни с семян, ни

с корней из почвы. Одним из основных источников микроорганизмов на этих растениях являются зимующие почки. Из распускающихся почек весной микроорганизмы распространяются на молодые, растущие листочки. Если сделать микробиологический анализ почек, взятых с дерева в лесу в зимнее время, то окажется, что на их поверхности бактерий нет, зато во внутренних частях при исследовании вскрытых и растертых в воде почек обнаруживаются различные бактериальные и дрожжеподобные виды.

Исследованиями В. А. Тыриной (1958) показано, что почти у всех древесных пород как на севере, так и на юге наблюдается зимний рост почек. С 1 октября по 1 ноября изменения бывают мало заметны, в декабре — более существенны. В январе увеличивается объем всей почки, столбик пестика, в семяпочке намечаются контуры будущих камер. В течение февраля сильно увеличиваются все части цветка, усиливается дифференциация тканей. Микроорганизмы хорошо переносят низкие температуры. Попадая в почки осенью в момент их закладки, микроорганизмы находят там для себя условия для перезимовки.

На растениях обнаруживается некоторое количество микроорганизмов, которые не являются типичными представителями эпифитной микрофлоры. Например, исследователей интересовал вопрос о том, как попадают на ягоды винограда винные дрожжи. Применение специального метода исследования — выдерживание засеянных пробирок в атмосфере CO_2 — показало, что в пробах почв, взятых с виноградников, в 70—100% случаев присутствуют винные дрожжи, вызывающие брожение. Из почвы на ягоды эти дрожжи могут попадать разными путями; один из наиболее вероятных — перенос их насекомыми. Интересна работа E. Sergent и H. Rougebief (1926), которые предположили, что винные дрожжи переносятся на ягоды винограда мушкой дрозофилой. Для доказательства этого был поставлен специальный опыт, в котором одни виноградные кусты росли свободно, а другие были покрыты сеткой. Под сетку дрозофила проникнуть не могла, а пыль проникала. Созревшие ягоды срывали и помещали в пробирки со стерильным суслом. О наличии на ягодах дрожжей судили по брожению.

Оказалось, что в варианте с сеткой во всех 500 засеянных микроорганизмами с ягод пробирках брожение отсутствовало. В варианте, где мушка имела свободный доступ к ягодам, содержимое всех 420 контрольных пробирок бродило. Авторы предполагают, что между дрозофилой и дрожжами существует симбиоз: дрожжи находятся в кишечнике мушки, которая переносит их на ягоды, где они находят для себя наилучшие условия для размножения. В то же время дрожжи, размножаясь, служат пищей для личинок мушки.

Подробное изучение насекомых как носителей и распространителей бактерий эпифитов провела Н. С. Новикова (1963). Она исследовала более 1000 насекомых, собранных с посевов клевера и кок-сагыза в колхозах Черкасской области. Свободными от бактерий оказались 19%, в остальных было найдено 3—4 вида микроорганизмов из числа тех, которые характерны для надземных органов растений. Из наиболее часто встречающихся видов были отмечены: Ps. herbicola (выделенный из 40% всех исследованных особей), Bact. coli-aerogenes и coli cloacae, реже встречались Ps. fluorescens, Mycobacterium, Micrococcus, Sarcina. Для доказательства факта перенесения бактерий насекомыми их подсаживали на соцветия кок-сагыза, свободные от Ps. herbicola, а через несколько дней с соцветий удавалось высеять обильную культуру Ps. herbicola.

Рассматривая источники, из которых микрофлора попадает на растения, нельзя не затронуть вопрос о вторичном ее расселении по поверхности растения. От этого расселения зависит появление микрофлоры на вторичных органах, в том числе на цветках и семенах. Еще не раскрывшиеся бутоны цветков (душистой гвоздики, настурции и др.) оказываются стерильными. То же самое можно сказать и о семенах, находящихся в закрытых стручках, или под прикрытием колосовых чешуек, или на початках кукурузы, закрытых обертками. После раскрытия бутонов, стручков, колосовых чешуек микроорганизмы попадают соответственно на лепестки цветка или на семена с соприкасающихся с ними зеленых частей растения. Все растущие части растений очень быстро заселяются микрофлорой, в том числе и в условиях, исключающих ее попадание из воздуха или перенос насекомыми, причем распространяются не только подвиж-

ные формы, имеющие жгутики, но и такие, как микобактерии, дрожжи, сарцины, не обладающие способностью активно передвигаться. Из них только редкие виды имеют специальные приспособления для распространения. Например, дрожжи рода Sporobolomyces выбрасывают свои баллистоспоры на значительное расстояние.

Микроорганизмы, непрерывно попадая на растущие части растения при первоначальном их соприкосновении с почвой и другими растениями, могут передвигаться вверх вместе с растущей частью стебля или листа. Это реально можно себе представить, если вспомнить опыт физиологов растений по распределению роста в отдельных частях стебля методом меток. Нанесенные тушью метки на проростки (на стебель, листья) любых растений — пшеницы, ячменя, кукурузы, фасоли — вместе с ростом органов передвигаются (рис. 4). Подобно передвижению меток могут передвигаться и бактерии, находящиеся на поверхности растения.

Во все стадии роста, т. е. деления и растяжения клеток, а также во время окончательного формирования тканей бактерии на растениях размножаются. Это, естественно, также способствует их распространению, особенно при наличии влаги.

Усиленное размножение бактерий на растениях совпадает с дождливыми днями. Например, общее количество бактерий (на 1 *г*) на листьях груши в сухой день было 140 000, а после дождя — 1 040 000, на листьях яблони соответственно 1 380 000 и 9 800 000 и т. д. Кроме того, сильно увлажняется поверхность растений при выпадении росы и частично при выделении гуттационной жидкости, что также создает благоприятные условия для размножения микроорганизмов.

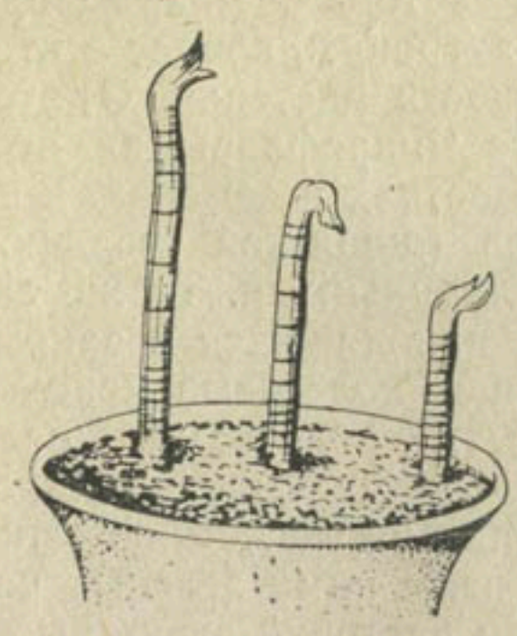


Рис. 4. Передвижение меток по мере роста стебля конских бобов (по Л. А. Иванову).

Специальные опыты подтвердили способность микроорганизмов размножаться на проростках. Так, на семена пшеницы наносили суспензию дрожжей Rhodotorula aurantia-

са и затем проращивали их во влажной атмосфере под стеклянными колпаками. Оказалось, что менее 100 тыс. клеток дрожжей, нанесенных на каждое высеваемое семя, размножились и в смыве с одного растения их было несколько миллионов клеток. Аналогичные данные получены при высеве в стерильный субстрат семян огурцов, на которых насчитывалось по 2 тыс. бактерий; на надземных органах растений, выросших из этих семян в камерах, защищенных от окружающего воздуха, количество бактерий увеличилось до нескольких миллионов (C. Leben, 1961).

ХАРАКТЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ ФИЛЛОСФЕРЫ

Приспособление организмов к определенным условиям среды обитания определяет их характерные особенности. Эпифитных микроорганизмов относят к одной экологической группе по следующим особенностям: способность переходить с семян на растущие части растения; способность жить на поверхности растения, не проникая в его ткани, и питаться выделениями растения; способность использовать питательные вещества очень малых концентраций; повышенная устойчивость по сравнению с неэпифитными видами к фитонцидам; способность переносить периодическое подсушивание; повышенная устойчивость многих видов к солнечной радиации.

Если бы способность к приспособлению у микроорганизмов отсутствовала, то жизнь на поверхности растений не была бы нормальным явлением и микроорганизмы не могли бы не только размножаться, но и сохраняться на них.

В опытах с микроорганизмами в лабораторных условиях подтверждена их способность приспосабливаться не только к наличию определенных питательных веществ в среде, но также и к другим факторам, например к повышенным дозам антибиотиков или антисептиков, к отсутствию кислорода и проч. Эпифитные микроорганизмы приспособились к жизни в присутствии повышенного количества фитонцидов, выделяемых растениями, однако данных о влиянии этих веществ на указанную груп-

пу микроорганизмов пока еще очень мало. При изучении действия фитонцидов лука и чеснока на розовые дрожжи Rhodotorula glutinis и дрожжеподобные грибки из рода Candida, встречающиеся на растениях, было установлено, что сативин — фитонцид чеснока — в малых концентрациях (1—10%) оказывал на эти микроорганизмы стимулирующее действие, а в больших концентрациях (90—100%) — угнетающее. Важно также, что при повторных воздействиях этим фитонцидом удавалось получить культуры, приспособленные к сативину (Е. П. Лесников, Ю. А. Тимоховский и И. Г. Гошандер, 1956).

Изучение бактерицидного действия летучих фитонцидов ели на гнилостную микрофлору силоса — Bact. levans, Bac. mesentericus, Bac. megaterium, Ps. fluorescens, Bact. coli, Bac. mycoides — показало, что наиболее резко угнетался рост Bac. mycoides, типичного почвенного микроорганизма. Все остальные эпифиты — обитатели растений—росли так же, как и Lactobacterium plantarum, культуры которой совсем не реагировали на присутствие хвои (А. А. Голикова, 1958).

Для того чтобы установить, имеется ли у эпифитных микроорганизмов, обитающих на надземных частях растений, приспособленность и повышенная устойчивость к летучим фитонцидам растений, сравнивали их выживаемость в присутствии этих фитонцидов с выживаемостью почвенных сапрофитов и некоторых представителей корневой микрофлоры. Чувствительность разных микроорганизмов к летучим фитонцидам сосны (Pinus silvestris) и редьки (Raphanus sativus) оказалась различной (табл. 3). Наиболее устойчивы к ним виды, выделенные из филлосферы, менее устойчивы виды, характерные для корневой микрофлоры, и быстро погибают от действия летучих фитонцидов неэпифитные микроорганизмы.

На основании этих наблюдений Я. П. Худяков и А. С. Рыжкова (1957) предложили метод для отделения корневых микроорганизмов, постоянно находящихся в контакте с растениями, от некоторых почвенных. Метод основан на различной устойчивости этих групп микроорганизмов к фитонцидам, содержащимся в чешуйках лука. Оказалось, что при выращивании микроорганизмов на среде с фитонцидами основное значение для их разделения имеют дозировки фитонцида, при кото-

Таблица 3

Влияние летучих фитонцидов Pinus silvestris на рост различных видов микроорганизмов

Микроорганизмы	Откуда выделены	Навеска источника фитонцидов						Контроль (без фитонцидов)	
		0,3 г		0,4 г		0,5 г			
		1-я повторность	2-я повторность	1-я повторность	2-я повторность	1-я повторность	2-я повторность	1-я повторность	2-я повторность
Bac. mycoides	Почва	—	—	—	—	—	—	+	+
Azotobacter	»	—	—	—	—	—	—	+	+
Bac. megaterium	»	—	—	—	—	—	—	+	+
Ps. herbicola	Филлосфера	+	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+	+	+
		+							
Ps. glycines	То же	+	+	+	+	+	+	+	+
Chr. chlorinum	»	+	+	+	+	—	—	+	+
		+	+	+	+	—	—	+	+
Rhodotorula	»	+	+	+	+	+	+	+	+
Cryptococcus	»	+	+	—	—	—	—	+	+
Sarc. lutea	»	+	+	+	+	+	+	+	+
Pullularia	»	+	+	+	+	+	+	+	+
Myc. citreum	Корни, отмытые от почвы	+	—	—	—	—	—	+	+
Myc. phlei	То же	+	+	—	—	—	—	+	+
Myc. convolutum	»	—	—	—	—	—	—	+	+
Myc. album	»	+	—	+	—	—	—	+	+
Chr. rheni	»	+	—	—	—	—	—	+	+

Обозначения. Знак «—» — отсутствие роста, знак «+» — рост культур.

рых останавливается рост почвенных микроорганизмов, но еще не угнетается рост эпифитных.

На поверхности зеленых частей растений микроорганизмы подвергаются действию повышенного количества летучих фитонцидов и воздействию прямых солнечных лучей. Кроме того, в течение вегетационного периода

они испытывают воздействие неравномерного увлажнения. Очевидно, в связи с этим в филлосфере преобладают слизеобразующие микроорганизмы (слизь предохраняет их от гибели), а также пигментные формы, более устойчивые к действию солнечного освещения.

Пигменты типа каротиноидов, находясь в клеточной оболочке или около нее, поглощают ультрафиолетовые лучи и этим защищают от них клетку (А. А. Имшенецкий, 1946). Микобактерии, постоянные обитатели филлосферы, особенно устойчивы к солнечному освещению и к высыханию (F. Haag, 1927; О. Г. Широков, 1959).

Эпифитные бактерии отличаются коренным образом от фитопатогенных бактерий тем, что последние проникают обычно внутрь тканей растений, вызывая их заболевания. И хотя многие из фитопатогенных бактерий встречаются и на поверхности, но отличительной чертой их является способность поражать растения. Правда, к эпифитным сапрофитам относятся и некоторые виды, которые заметно эволюционируют в сторону паразитизма, а в некоторых случаях переходят к паразитическому образу жизни (Л. П. Старыгина и У. Г. Оксентьян, 1956; М. В. Горленко, 1959). К таким видам принадлежат следующие представители эпифитной микрофлоры: Ps. fluorescens, Ps. herbicola, некоторые разновидности Bac. mesentericus. Это очень распространенные на различных растениях виды, но пока они живут эпифитно, т. е. на поверхности живых растений, у них нет ни способности проникать внутрь тканей, ни приспособленности к определенным видам растений, т. е. способности преодолевать факторы иммунитета и питаться живыми тканями.

Основными веществами, служащими пищей для микроорганизмов, обитающих на поверхности надземных частей растений, как уже было показано, являются аминокислоты, а также моно- и дисахариды.

Не все микроорганизмы в одинаковой степени способны развиваться на средах с низкой концентрацией питательных веществ, но для представителей эпифитной микрофлоры как раз это свойство является характерным. Аналогичная способность использовать элементы питания, имеющиеся в среде в очень малых количествах, ранее отмечалась и для представителей микрофлоры бедных подзолистых почв (Т. В. Аристовская, 1962).

Таким образом, несмотря на все разнообразие видового состава микроорганизмов филлосферы, у них в процессе эволюции выработался ряд особенностей, позволяющих им жить на поверхности здорового растения.

СОСТАВ МИКРООРГАНИЗМОВ НА НАДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ РАСТЕНИЙ

Состав микрофлоры на поверхности растений начали изучать в связи с возможностью ее попадания в молоко, а также исходя из влияния на качество силоса и на хранящееся зерно (Л. П. Старыгина, 1962; М. М. Макарова, 1962; Л. Ю. Медвинская и В. С. Рождественский, 1949 и др.).

Кроме того, чтобы установить роль микрофлоры в жизни растений, нужно знать, какие микроорганизмы входят в ее состав и каковы их физиологические свойства.

До последнего времени существовало мнение, что видовой состав микрофлоры надземных органов довольно однообразен. В связи с этим к ее изучению не проявлялось большого интереса. Принятые методы исследования позволяли в качестве преобладающих видов в большинстве случаев обнаруживать Ph. herbicola и Ps. fluorescens.

Первоначально для изучения состава эпифитной микрофлоры зеленых частей растений или зерна исследователи использовали в качестве питательной среды мясо-пептонный агар, который является оптимальной средой для указанных видов: скорость их роста на этой среде значительно больше, чем у многих микобактерий, микококков, дрожжей и пр. Кроме того, Ps. herbicola и Ps. fluorescens выделяют продукты обмена, которые, накапливаясь в питательной среде, тормозят развитие медленно растущих на мясо-пептонном агаре видов.

В настоящее время некоторые исследователи также придерживаются того мнения, что в группу постоянных обитателей надземных органов растения входит относительно небольшое количество бактериальных видов, адаптированных к этим условиям. Из них наиболее распространенными считают Ps. herbicola, Ps. fluorescens и Bact. coli-aerogenes. К случайно присутствующим на ра-

стениях относят кокки, сарцины, дифтероиды, споровые и дрожжи (Н. С. Новикова, 1963).

Начиная с 1953 г., для изучения видового состава эпифитной микрофлоры стали применять специальные среды растительного происхождения. Уже первые результаты, полученные Я. П. Худяковым (1953а) при использовании питательной среды, приготовленной на сенном отваре, показали, что видовой состав эпифитной микрофлоры семян злаков гораздо более разнообразен, чем это считалось. Так, им было обнаружено 20 видов различных микроорганизмов, из которых 8 беспигментных, 7 пигментных, 3 вида дрожжей и 2 вида грибов. Еще большее разнообразие — 39 видов — было получено Я. П. Худяковым и Ю. М. Возняковской (1956) на капустном агаре при выделении микроорганизмов с разных экземпляров пшеницы.

Таким образом, было установлено, что не во всех случаях на растениях преобладают Ps. herbicola и Ps. fluorescens, хотя эти виды микроорганизмов, несомненно, являются весьма распространенными на растениях и главным образом на цветках и семенах. Так, Ps. herbicola образует на семенах зооглеи и очень устойчива к высыханию, поэтому семена являются тем местом, где этот микроорганизм сохраняется в природе (Е. Маск, 1936).

Состав бактериальной флоры на растениях неоднороден (табл. 4). Большинство встречающихся микроорганизмов принадлежит к родам Pseudomonas и Chromobacterium. На древесных и кустарниковых породах преобладают дрожжи, микобактерии и псевдобактерии, на однолетних культурных растениях — псевдомонады, хромобактерии, микобактерии, мико- и микрококки, на дикорастущих — бактерии, дрожжи, хромобактерии и псевдомонады.

Для того чтобы выявить наибольшее разнообразие микроорганизмов из тех, которые могут обитать на растениях, необходимо исследовать большое количество образцов разных видов растений. Это объясняется тем, что на каждом растении единовременно присутствует сравнительно небольшое количество видов. Кроме того, на разных исследуемых образцах могут преобладать разные виды, поэтому чем больше сделано анализов, тем достовернее будут результаты. Так, вначале изучалась

Таблица 4

Соотношение разных родов бактерий на поверхности листьев * (в процентах от общего количества)

Листья	Pseudomonas	Bacterium	Chromobacterium	Pseudobacterium	Mycobacterium	Mycococcus и Micrococcus	Sarcina	Дрожжевые
Культурные растения								
Гречихи . . .	94	1,5	3,5	0	0		0	0
Пшеницы озимой	84,5	0	5	4	4	0	2,5	0
Кукурузы . .	2,5	0	27	1,5	65	0	0	4
Овса	46	0	0	0	8	46	0	0
Подсолнечника	1	20	1	11	6	24	37	0
Льна	73	6,5	5	2	3	3	7	0,5
Картофеля .	2,5	0	2,5	0	0	90	5	0
Свеклы . . .	6	0	82	6	0	6	0	0
Клевера . . .	92	2	3,5	0	0	2,5	0	0
Дикорастущие растения								
Мятлика . . .	3	73	16	3	0	0	0	5
Иван-чая . .	0	93	0	0	0	0	0	7
Папоротника	29	0	18	0	0	0	0	53
Лютика . . .	76	0	0	10	8	0	0	6
Крапивы . .	4	29	6	1	12	0	0	48
Хвоща . . .	1,5	95	1,5	0	0	0	1	1
Брусники . .	57	0	26	5	0	0	1	11
Щавеля . . .	39	0	35	0	0	0	0	26
Древесные и кустарниковые породы								
Яблони . . .	54	0	4	0	23	11	0	6
Дуба	1	0	0	5	8	5	4	77
Сосны	0	4	4	27	37	13	10	5
Черной смородины . .	34	0	15	38	13	0	0	0

микрофлора зеленых частей 18 видов растений (Ю. М. Возняковская, Я. П. Худяков, 1960); было установлено, что выделенные бактерии относятся к 46 различным видам. Часто встречались представители не основного вида, а какой-либо из входящих в него разновидностей или культуры, у которых некоторые свойства

* Данные относятся только к индивидуальным образцам растений. Они могут колебаться в значительных пределах, но характерные особенности состава микрофлоры на разных «группах» растений сохраняются.

отклонялись от описанных в определителе. По окраске колоний из 46 видов было обнаружено: 8 желтопигментных, 8 лимонного цвета, 13 оранжевых и красных, 5 белых, 2 бурых, 10 бесцветных.

При пополнении ассортимента исследуемых растений еще 35 видами список выделенных микроорганизмов расширился до 60 видов и 55 разновидностей этих видов. Перечень видов и их основных физиологических свойств приведен в сводной таблице (см. табл. 45).

Наблюдения за распространением разных видов микроорганизмов на растениях показывают, что один и тот же вид может встречаться на различных растениях. Следовательно, у представителей эпифитной микрофлоры нет строгой приспособленности к выделениям определенных видов растений. Это можно подтвердить экспериментально. Так, если взять культуры, выделенные с разных видов растений, и нанести их на простерилизованные семена какого-либо одного вида, например ржи, а затем прорастить эти семена в стерильном песке или стерильной почве (см. рис. 3), то нетрудно будет убедиться, что микроорганизмы, взятые с разных видов растений, перешли на проростки опытного растения и размножились на них.

Этот факт имеет определенный практический интерес, так как открывает перспективу для обогащения поверхности растений полезными микроорганизмами, например антагонистами фитопатогенных грибов (C. Leben, 1965 и др.).

Различия в составе микрофлоры на поверхности надземных органов растений объясняются рядом факторов: разными источниками этой микрофлоры, отчасти особенностями данного вида растения, степенью его фитонцидности и в большей степени условиями произрастания растений. Последнее подтверждается следующим фактом: при исследовании микрофлоры колосьев овса и листьев картофеля, взятых из разных мест произрастания (на опытной станции в Долгопрудном Московской области и в Юрьев-Польском районе Владимирской области), оказалось, что на овсе в одном месте преобладали Ps. herbicola, в другом — Mycobacterium, а на картофеле в одном случае — Micrococcus, в другом — Rhodotorula.

Приведенные факты не исключают того, что у ряда эпифитных микроорганизмов обнаруживается неодина-

ковая приспособленность к размножению на различных частях растения. Так, например, Chr. aurantiacum чаще и в больших количествах встречается на цветках, Ps. herbicola — на семенах, а дрожжи и грибы Pullularia — на листьях древесных пород.

Учитывая вышесказанное, следует иметь в виду, что растительное сырье как источник полезной микрофлоры весьма неоднородно. В связи с этим для получения стандартной продукции в ряде случаев его целесообразно обогащать полезной микрофлорой.

Способность эпифитных микроорганизмов жить на различных растениях не противоречит, однако, известным фактам специфической приспособленности эндофитов-симбионтов или эндофитов-паразитов к определенным растительным организмам. И те и другие отличаются тем, что живут не на поверхности растения, а проникают внутрь его тканей.

Групп микроорганизмов, симбиотически сожительствующих с растениями, не так много. В основном они представлены различными клубеньковыми бактериями и эндо- и эктотрофными микоризными грибами. Эти микроорганизмы хотя и внедряются в межклетники и клетки отдельных органов растения, но они не приспособлены питаться его живыми тканями. В процессе эволюции они приспособились к особенностям обмена веществ определенных видов растений и к усвоению в качестве источников питания веществ, выделяемых последними. Они, очевидно, адаптировались также к таким факторам пассивного иммунитета растений, как химический состав клеточного сока и наличие в нем специфических веществ. Правда, против микроорганизмов растение выработало ряд защитных реакций, так как иначе беспрепятственное размножение микроорганизмов внутри растения могло привести его к гибели. Например, клубеньковые бактерии локализуются в клубеньках, а гифы микоризных грибов подвергаются перевариванию в клетках первичной коры корня.

Кроме бактерий, на растениях встречается значительное количество дрожжеподобных организмов*. Их

---

* К дрожжеподобным организмам принято относить организмы, очень сходные с дрожжами, но не образующие спор. Для удобства изложения под термином «дрожжи» будут подразумеваться дрожжеподобные микроорганизмы.

обнаруживали на водорослях, ягодах, на зерне, листьях хлебных злаков, листьях луговых растений, на некоторых силосуемых растениях — кукурузе, клевере, люпине и на дикорастущих травах. Дрожжи присутствуют в составе эпифитной микрофлоры многих видов растений (F. Last, 1955; M. Menna, 1959; И. Ф. Щелокова, 1964 и др.). В некоторых случаях, особенно на листьях древесных и кустарниковых пород, их количество составляло 40% и более от общего количества микроорганизмов.

Представителей дрожжеподобных организмов, преобладающих на растениях, по внешнему виду колоний можно разделить на 3 группы: 1-я группа — колонии розовые и оранжево-красные, 2-я группа — беловатые или бежевые, 3-я группа — колонии с субстратным мицелием по краям, светлые или черные.

Согласно определителю Лоддер и Крегер ван Рий (1952) и руководству Н. М. Пидопличко (1953) культуры 1-й группы, т. е. имеющие розовые и красно-оранжевые колонии, относились к родам Rhodotorula и Sporobolomyces, 2-й — к роду Cryptococcus, 3-й — к роду Trichosporon и к дрожжеподобным организмам из несовершенных грибов порядка Hyphales. Последние были представлены родами Pullularia, Hormiscium и Oospora*. Всего на поверхности растений было обнаружено 17 видов дрожжеподобных микроорганизмов (см. табл. 45).

Среди этого разнообразия дрожжевых организмов винные дрожжи на растениях встречаются редко. Они попадают в сусло в основном на винодельческих заводах или переносятся насекомыми на созревающие плоды и ягоды.

Из мицелярных форм особенно распространен гриб Pullularia pullulans (Aureobasidium). Если рассматривать препараты этого гриба под микроскопом, то в поле зрения видно очень большое количество дрожжеподобных конидий и гифы псевдо- или истинного мицелия, разделенные перегородками (рис. 5, *а*). Благодаря такой микроскопической картине исследователи, ранее изучавшие микрофлору растений, называли мицелярные формы по-разному: «дикие дрожжи» (Л. П. Старыгина, 1926), «Mycotorula» (Н. А. Красильников, 1958), «мицелярные дрожжи» (Я. П. Худяков, 1953), «черные дрож-

---

* Идентификация мицелярных форм проведена Н. А. Заикиной.



Рис. 5. Мицелярные дрожжеподобные грибы с поверхности растений (увеличение 280×).
а — Pullularia, *б* — Hormiscium.

жи» (А. Г. Родина, 1950). P. pullulans очень нетребователен к питательным веществам и потому обитает не только на растениях, но и на насекомых, в почве, на пищевых продуктах, особенно на плодах и ягодах; его споры встречаются в воздухе (W. Cook, 1959).

На листьях древесных и кустарниковых растений часто обнаруживался гриб из рода Hormiscium. Колонии его на капустной и на картофельной средах — черного цвета, грубые, шероховатые. Мицелий имеет частые перегородки. От гиф отчленяются конидии (рис. 5, *б*).

Кроме дрожжеподобных грибов, на поверхности зеленых растений и их семенах находится большое коли-

чество плесневых грибов, относящихся к родам Cladosporium, Penicillium, Alternaria, Fusarium, Macrosporium, Aspergillus, Botrytis и др. (П. М. Штеренберг, 1959). Усиленное размножение грибов на поверхности растений является показателем ослабленного состояния последних.

Актиномицеты на надземных органах растений встречаются редко.

ЗНАЧЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ ЗЕЛЕНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРАКТИКИ

С углублением знаний об использовании микроорганизмов в различных отраслях хозяйственной деятельности человека — в виноделии, хлебопечении, получении кисломолочных продуктов и т. д. — эпифитные микроорганизмы также привлекли к себе внимание исследователей. Выявилась их несомненная роль в процессах, происходящих при силосовании зеленой массы и при хранении зерна, обнаружилось их влияние на качество молока при его загрязнении микрофлорой, попадающей с кормов; вызывало опасение присутствие бактерий — представителей кишечной группы — на зеленых частях растений, употребляемых в пищу в сыром виде (капуста, салат и проч.), а также присутствие в составе эпифитной микрофлоры условных паразитов растений. Кроме того, выявилась роль эпифитной микрофлоры в питании растений в связи с ее участием в формировании комплексов корневых микроорганизмов, а также их значение как продуцентов физиологически активных веществ и как антагонистов фитопатогенных бактерий и грибов. В связи с этим начались исследования, в которых с различных точек зрения начали изучать микроорганизмы или группы микроорганизмов, часто встречающиеся на растениях и известные благодаря своим полезным или, наоборот, вредным качествам (например, молочнокислые бактерии, кишечная палочка, флюоресцирующие бактерии, близкие к фитопатогенным, микобактерии и др.).

Молочнокислые бактерии довольно хорошо изучены, так как с давних пор используются человеком в его практической деятельности: при приготовлении

молочнокислых продуктов, при силосовании кормов, хлебопечении, квашении овощей и др. Подробные данные о месте молочнокислых бактерий в природе и их связи с растениями приводятся в монографии Е. И. Квасникова (1960), а также в работах С. С. Щелоковой (1961), А. А. Нестеренко (1964) и др. Оказывается, молочнокислых бактерий значительно больше на культурных растениях (и вблизи от жилья), чем на дикорастущих. Эти бактерии обнаружены на листьях, цветках, плодах и семенах. Количество их колеблется от единиц до десятков тысяч на 1 *г* зеленой массы. На растениях обнаружены 3 вида лактобактерий, 3 вида лейконосток, а также молочнокислые кокки.

Показано, что молочнокислые бактерии активно размножаются в прикорневой зоне и на надземных частях растений и обладают способностью переходить с семян на проростки растений. Поэтому их можно считать представителями эпифитной микрофлоры.

Содержание молочнокислых бактерий на растениях варьирует в зависимости от вида растения, фазы его развития и места произрастания. Колебания количества молочнокислых бактерий на растениях можно отчасти объяснить наличием их антагонистов. У некоторых штаммов молочнокислых бактерий обнаружено 7—69% антагонистов от общего числа микроорганизмов, выделенных с растения.

По предположению Е. И. Квасникова (1960), молочнокислые бактерии в некоторых случаях могут быть полезны для растений. Например, они как кислотообразователи способны переводить трехкальциевый фосфат в растворимую форму и этим благоприятствовать растению в усвоении фосфора. Соли образуемой ими молочной кислоты могут усваиваться другими ризосферными микроорганизмами.

Молочнокислые бактерии, присутствующие на растениях, имеют большое значение при заготовке силосной массы. При ее плотной укладке эти бактерии начинают усиленно размножаться, образуя при этом значительное количество органических кислот, главным образом молочной, которые консервируют сочный корм и создают условия для его длительного хранения.

Вначале при измельчении скошенной зеленой массы на отмирающих тканях и в выделяющемся из них соке

размножаются разнообразные эпифитные микроорганизмы, в числе которых преобладают аммонифицирующие, способные вызывать гнилостный распад белков. Из них особенно активны такие часто встречающиеся на растениях виды, как Ps. herbicola, Ps. fluorescens, Bact. coli-aerogenes. В процессе развития этих видов микроорганизмов среда обедняется кислородом, что особенно быстро происходит при плотной укладке массы; при этом преимущество получают молочнокислые бактерии, которые способны размножаться в условиях анаэробиоза, т. е. при затрудненном доступе воздуха. В этих условиях они накапливают молочную и уксусную кислоты, под действием которых отмирают гнилостные бактерии. В определенных концентрациях молочная кислота и снижение pH вредны и для самих молочнокислых бактерий, тогда их размножение прекращается и не происходит дальнейшего подкисления корма.

Значение молочнокислых бактерий для процессов, происходящих при силосовании кормов, в одинаковой степени относится к квашению и другого сырья.

В тех случаях, когда на растениях присутствует мало молочнокислых бактерий, например в засушливую погоду, можно искусственно обогащать ими силосуемую массу. Для этой цели во Всесоюзном научно-исследовательском институте сельскохозяйственной микробиологии разработана закваска из молочнокислых бактерий Lactobacterium plantarum.

Растения и почва являются источниками, из которых молочнокислые бактерии попадают в молоко. Из этих же источников молоко может загрязняться нежелательной микрофлорой и в первую очередь кишечной палочкой.

Кишечная палочка (Bact. coli) является постоянным обитателем растений. Например, в условиях Средней Азии ее количество на 1 *г* листьев составляло: у кукурузы — 3600, у люцерны — 230 тыс., у клевера — 52 тыс., у вики — 430, у лебеды — 36 тыс. и т. д. (Е. И. Квасников, 1960). В большом количестве кишечная палочка обнаруживалась на капусте, особенно на поливных участках.

В связи с тем, что Bact. coli является характерным представителем микрофлоры кишечного тракта и в ряде случаев способна проявлять патогенные свойства, вызы-

вая гнилостный распад белков и отравляя организм вредными продуктами, распространением этого микроорганизма в природе интересовались медицинские микробиологи. Они склонны считать, что кишечник является единственным источником, откуда этот микроорганизм попадает в почву, на растения, в молоко, в пищеварительный тракт холоднокровных животных и насекомых (И. Е. Минкевич, 1949). В природной обстановке кишечная палочка Bact. coli commune приспосабливается к окружающим условиям и дает варианты Bact. coli citrovorum и Bact. coli-aerogenes.

Некоторые исследователи группу Bact. coli делят на 4 подгруппы: 1) Escherichia coli, 2) промежуточная, 3) Aerobacter cloacae (levans), 4) Aerobacter aerogenes. При этом культура E. coli выделяется при 37°, т. е. при температуре тела теплокровных, а культура Aerobacter aerogenes — при 25°. О распространении этих подгрупп в почве и на растениях говорят следующие данные, полученные Фразер, Рейд и Малькольмом (M. Fraser, W. Reid, Y. Malcoim, 1956). Авторы исследовали 81 образец почвы и 1443 образца растений. При этом оказалось, что соотношение подгрупп на растениях и в почве было различным. Так, из всех выделенных культур на растениях обнаружено: E. coli — 5,5%, промежуточных — 8,6%, A. cloacae — 83,4%, A. aerogenes — 2,4%; в почве же соотношение было соответственно 48,8%, 31,1, 15,9 и 1,2%.

Интересно, что на разных растениях присутствие бактерий из группы Bact. coli (в большинстве A. cloacae) было различным. Так, из всех культур, выделенных с листьев деревьев и кустарников, Bact. coli составляла всего 3,5%, много ее было на садовых цветах — 32% (182 культуры из 574) и на зерне хлебных злаков — 33%, а также на сорняках; на траве с пастбищ значительно больше, чем на траве вне пастбищ (35 и 5% соответственно из 102 образцов). Предполагают, что A. cloacae заносят на растения насекомые, особенно при опылении цветков. Бактерии из группы coli aerogenes обнаруживаются на высушенном сене и на колосьях растущих злаков. В последнем случае они выделены из 73% исследованных образцов, вследствие чего было высказано предположение об эпифитности этих бактерий (S. Thomas, P. Hobson, 1955). Очевидно, и некоторые

другие микробы кишечного тракта животных могут приспосабливаться к эпифитному существованию. Так, установлено, что Streptococcus faecalis var. liquefaciens лучше приживается на растениях, чем, например, молочнокислые бактерии Lactobacterium plantarum или Streptococcus lactis. Первый вид стрептококка оказался способным переходить с семян на проростки и размножаться на них, что дало повод считать его потенциальным эпифитом (J. Mundt, J. Coggin, L. Johnson, 1962).

Микрофлора семян и хранящегося зерна может оказывать неблагоприятное влияние на их качество при неправильном хранении. Источником микрофлоры семян являются зеленые части растений, с которых она попадает на семена при их созревании или при обмолоте. Количество микроорганизмов на семенах колеблется в широких пределах и зависит в основном от влажности семян. В смыве с 1 *г* зерна пшеницы находили от 280 тыс. до 164 млн. клеток бактерий, от 6,2 тыс. до 64 тыс. клеток дрожжей и от 420 до 1870 клеток грибов (N. James, J. Wilson, E. Stark, 1946). Все исследователи, изучавшие микрофлору семян злаковых культур, в том числе и пленчатых, отмечают, что на них преобладает Ps. herbicola, количество которой в ряде случаев составляет 75—90% от общего числа бактерий и которая является показателем доброкачественности зерна (О. П. Подъяпольская и В. А. Мирзоева, 1955; Е. Н. Мишустин и Л. А. Трисвятский, 1963).

По нашим наблюдениям, кроме Ps. herbicola, обычными обитателями свежеубранных семян (в том числе зерна злаковых) являются следующие виды микроорганизмов: Ps. fluorescens, Chr. aurantiacum, Bact. coli, Psdb. lacticum, Myc. mucosum, некоторые микрококки, дрожжи Rhodotorula и Cryptococcus, дрожжеподобный грибок Pullularia pullulans, некоторые грибы. Все эти микроорганизмы благодаря низкой влажности находятся на семенах в покоящемся состоянии (анабиозе). С течением времени из-за отсутствия в этих условиях питательных веществ их количество постепенно снижается, при этом некоторые виды погибают быстрее, чем другие, в результате чего изменяется состав микрофлоры. Преобладающими, как наиболее устойчивые, становятся споровые формы. Если условия правильного хранения семян нарушаются, что в первую очередь относится к

повышению влажности, то создаются условия для усиления физиологических процессов в семенах, в результате чего происходит экзосмос (проникновение питательных веществ из семян во внешнюю среду) и размножение микроорганизмов. В этом случае последние играют резко отрицательную роль, так как начинается самонагревание семян, снижение всхожести и дальнейшая их порча.

Подробные сведения о влиянии влажности, температуры и аэрации на микрофлору зерна хлебных злаков при его хранении приводятся в монографиях Е. Н. Мишустина и Л. А. Трисвятского (1960, 1963). В них сообщается, что влажность зерна зависит от влажности окружающего воздуха, и в тот момент, когда она превышает критическую влажность, при которой в зерне появляется вода в свободном состоянии, начинается активное размножение микроорганизмов.

Первыми развиваются грибы, как наименее требовательные к условиям влажности. Граница критической влажности при температуре 15—20° для разных семян следующая (в процентах): пшеница, рожь, ячмень — 14,5—15,5, кукуруза — 13—14, просо — 12—13, кормовые травы — 11—13, масличные — 10—11. Такая влажность семян наблюдается уже при 70% относительной влажности воздуха.

Во время резких изменений температуры может происходить отпотевание зерна, т. е. появление влаги на его поверхности. Размножающиеся на влажном зерне микроорганизмы являются главным фактором, вызывающим явление самосогревания зерна. Кроме них, тепловую энергию выделяют также пробуждающиеся семена. Эта энергия при плохой теплопроводности зерна и слабой аэрации приводит к значительному повышению температуры. Возникновение этого процесса можно наблюдать не только в зерновой массе, но и в копнах травы, сена и пр.

Среди эпифитной микрофлоры на поверхности растений могут находиться и условные паразиты. К ним относится один из наиболее распространенных на растениях микроорганизмов Ps. fluorescens. Он встречается на разных органах растений — листьях, цветках и корнях. Во многих случаях Ps. fluorescens на листьях преобладают над другими видами, а иногда присутствуют

почти в чистой культуре. Этот вид выделяет разнообразные ферменты, хорошо развивается на разных источниках азота и углерода, устойчив к антибиотикам и фитонцидам, а также обладает сильными антагонистическими свойствами. Благодаря этим свойствам Ps. fluorescens быстро размножается и вытесняет другие виды.

У микроорганизма Ps. fluorescens наблюдается совмещение двух физиологических функций — денитрификации и аммонификации. Он способен использовать органические и минеральные формы азота, что является одной из причин его широкого распространения.

Установлено, что Ps. fluorescens обладает антибиотическими свойствами к ряду бактерий (Л. П. Старыгина, 1956; K. Kling, 1959). Показано также, что он имеет филогенетическое родство с патогенной синегнойной палочкой. Так, иногда наблюдается отщепление от типичных культур синегнойной палочки вариантов, близких к Ps. fluorescens.

Сапрофитные формы Ps. fluorescens могут приобретать фитопатогенные свойства. Например, наблюдали, что при культивировании кок-сагыза в новых районах произрастания (когда растения еще не приспособились к новым условиям и имели пониженную сопротивляемость) начиналось загнивание корней, или сосудистый бактериоз корней. Это заболевание вызывалось бактериями Ps. fluorescens, причем к концу вегетации растений количество бактерий этого вида, обладающих фитопатогенными свойствами, возрастало.

По-видимому, Ps. fluorescens является не единственным микроорганизмом из числа эпифитов, способных наносить вред ослабленному растению. Например, дрожжи Cryptococcus, часто встречающиеся на листьях, обладают способностью разрушать кутин эпидермальных клеток листа. При этом накапливаются жирные кислоты, которые используются микроорганизмами. Клеточные стенки становятся более проницаемыми, вследствие чего усиливаются экзосмос и размножение других бактерий (J. Ruinen, 1966).

Pullularia pullulans (черные дрожжи), по некоторым данным, является слабопатогенным микроорганизмом. Он встречается в сообществах, вызывающих бурую пятнистость листьев винограда и побурение стеблей льна, особенно в сырую погоду. Оказалось, что он способен

разлагать пектин и поэтому ускоряет порчу винограда, клубники, сливы. В ряде случаев P. pullulans был причиной снижения всхожести семян трав (W. Cooke, 1959).

Bac. macerans, Granulobacter pectinovorum, Clostridium felsineum, а также описанный О. К. Куликовской (1968) психротолерантный вид Clostridium pskovianum — эпифитные пектинразлагающие микроорганизмы. Эти микроорганизмы выделяют комплекс пектолитических ферментов — протопектиназу, пектиназу и пектазы, которые разрушают пектиновые вещества, связывающие пучки лубяных волокон с клетками коровой паренхимы стебля. Такие свойства микроорганизмов используют для получения волокна из лубяных растений.

Во время мочки растений пектинразлагающие микроорганизмы попадают в мочильную жидкость вместе с другими эпифитными микроорганизмами с поверхности обрабатываемых растений и при благоприятных условиях водно-воздушного и температурного режимов размножаются в тканях коровой паренхимы растений. Пектиновые вещества служат для этой группы микроорганизмов источником углеродного питания, потребность в азотистых и других элементах пищи они удовлетворяют за счет экстрактивных веществ, имеющихся в мочильной жидкости.

Процесс мочки начинается с погружения стеблей в воду и создания оптимальных условий аэрации и температуры, необходимых для активирования деятельности микроорганизмов. В зависимости от этих условий все биологические способы получения волокна делятся на анаэробные, в том числе тепловые и холодноводные, и аэробные. К последним относятся мочка в реке и расстил. При расстиле на поверхности стеблей обильно размножаются различные микроорганизмы, но ведущей пектинразлагающей микрофлорой в этих условиях являются грибы, в частности эпифит Clostridium herbarum, а также Alternaria и др.

Видовой состав сопутствующей микрофлоры при тепловой анаэробной мочке почти не изучен. Не полностью установлено также и значение этих микроорганизмов для протекания основного процесса мочки. Известно, однако, что через 2—4 часа после замачивания соломы за счет экстрагирующихся из нее легкорастворимых питательных веществ начинается бурное развитие некото-

рых групп эпифитных микроорганизмов, которые в дальнейшем используют для своего питания также и продукты разложения пектина.

Сопутствующая микрофлора представлена в основном группами гнилостных бактерий, молочнокислых, маслянокислых и кишечной палочки. Особенно обильно размножаются молочнокислые бактерии, количество которых к концу мочки достигает десятков миллионов клеток в 1 *мл* жидкости. Вся эта микрофлора при своем развитии поглощает из среды кислород и накапливает в ней продукты своего синтеза, в частности физиологически активные вещества. Это создает более благоприятные условия для активного размножения пектинразрушающих микроорганизмов. В то же время в процессе жизнедеятельности микрофлоры мочильная жидкость сильно подкисляется. Поэтому рекомендуют иногда снижать вредную кислотность путем добавления нейтрализующих веществ — соды, мела, углекислого аммония, аммиака (А. Л. Бычковская, Л. П. Крутикова, 1962) или применять для этой цели аэробную регенерацию технологической жидкости (А. Л. Пескин, 1956).

При погружении соломы в воду, кроме питательных веществ, из нее экстрагируются токсические вещества типа дубильных, окрашивающих мочильную жидкость в коричневатый цвет. Эпифитная микрофлора приспособлена выносить повышенные концентрации фитонцидов, к которым по своей природе относятся и вышеуказанные экстрактивные вещества. Особенно высокие концентрации этих веществ накапливаются при вымачивании так называемой трудновымокаемой соломы. Они повышают кислотность жидкости, поэтому в практике часто рекомендуют частично сменять мочильную жидкость. При этом условия мочки резко улучшаются.

Не всегда в составе эпифитной микрофлоры льна и других волокнистых растений присутствуют в достаточном количестве активные виды пектинразлагающих бактерий. В связи с этим целесообразно, особенно после слива экстрактивных веществ, обогащать мочильную жидкость активными пектинразлагающими микроорганизмами, ускоряющими процесс мочки и повышающими выход и качество волокна.

КОРНЕВАЯ МИКРОФЛОРА И ЕЕ РОЛЬ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ

ХАРАКТЕР ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ РАСТЕНИЯМИ И КОРНЕВОЙ МИКРОФЛОРОЙ

В природе все растения находятся в тесном контакте с микрофлорой, населяющей поверхность их корней и размножающейся в прикорневом слое почвы. Сейчас накоплен большой фактический материал, который доказывает разнообразное значение этой микрофлоры в жизни растений.

Можно перечислить следующие основные стороны деятельности корневых микроорганизмов, влияющих на жизнь растений.

1. Превращение нерастворимых соединений азота и фосфора в формы, доступные для питания растений.

2. Потребление и разрушение корневых выделений вегетирующих растений, что положительно влияет на процесс корневого питания.

3. Аккумуляция в микробных клетках питательных веществ, что, с одной стороны, предохраняет эти вещества от вымывания из почвы, а с другой — приводит к временному переводу растворимых веществ в недоступные для питания растений соединения.

4. Передвижение питательных веществ по гифам грибов и по цепочкам бактериальных клеток из почвы к корню.

5. Связывание газообразного азота атмосферы и улучшение за счет него азотного питания растений.

6. Синтез различных стимулирующих веществ (витаминов, ауксинов, гиббереллинов и пр.) и накопление их в зоне ризосферы, что имеет большое значение для активирования биохимических процессов в растениях.

7. Тесный симбиоз с растениями (проникновение в ткани) некоторых микроорганизмов (клубеньковые бактерии, эндо- и эктомикоризные грибы).

8. Выделение различных антибиотических веществ, которые защищают растения от паразитарных форм.

9. Конкуренция с растениями за питательные вещества в том случае, когда имеется их недостаток в почве.

10. Восстановление нитратов до газообразного азота, приводящее к потере его из почвы.

11. Накопление вредных продуктов обмена, вызывающих разные виды токсичности почв.

12. Паразитизм на растениях фитопатогенных видов.

Корневые и прикорневые микроорганизмы соприкасаются с растениями на протяжении всего периода их роста.

Корневые выделения растения, содержащие органические вещества, привлекают микроорганизмы, которые, размножаясь за их счет, оказывают в свою очередь влияние на растение.

Развитие микроскопической техники позволило в настоящее время рассматривать корневые и ризосферные микроорганизмы непосредственно на разрезах, сделанных через почву.

На рис. 6, *б* дано схематическое изображение корневого волоска пшеницы по фотографии, сделанной с натуры Д. Г. Звягинцевым (1967) с помощью флюоресцентного микроскопа (рис. 6, *а*). Видно большое количество неспоровых бактерий, находящихся непосредственно на поверхности корневого волоска. «Растение, вызывая размножение микроорганизмов около своих корней, обеспечивает себе мощный дополнительный фактор воздействия на почву, в результате чего образуются доступные питательные вещества, накапливаются различные физиологически активные и стимулирующие вещества, что улучшает условия питания растений» (Е. И. Ратнер, 1955).

Впервые в 1904 г. Хильтнер (L. Hiltner) обратил внимание на то, что микрофлора в почве, на которой произрастают растения, распределена неравномерно и что численность микроорганизмов в слое почвы, непосредственно прилегающем к корням, значительно выше, чем в почве, свободной от корней. Этот факт привлек внимание исследователей. Было установлено, что так называемый ризосферный эффект (Rhizosphere effect) выражается не только в значительном увеличении количества микроорганизмов в прикорневой почве, но также и в

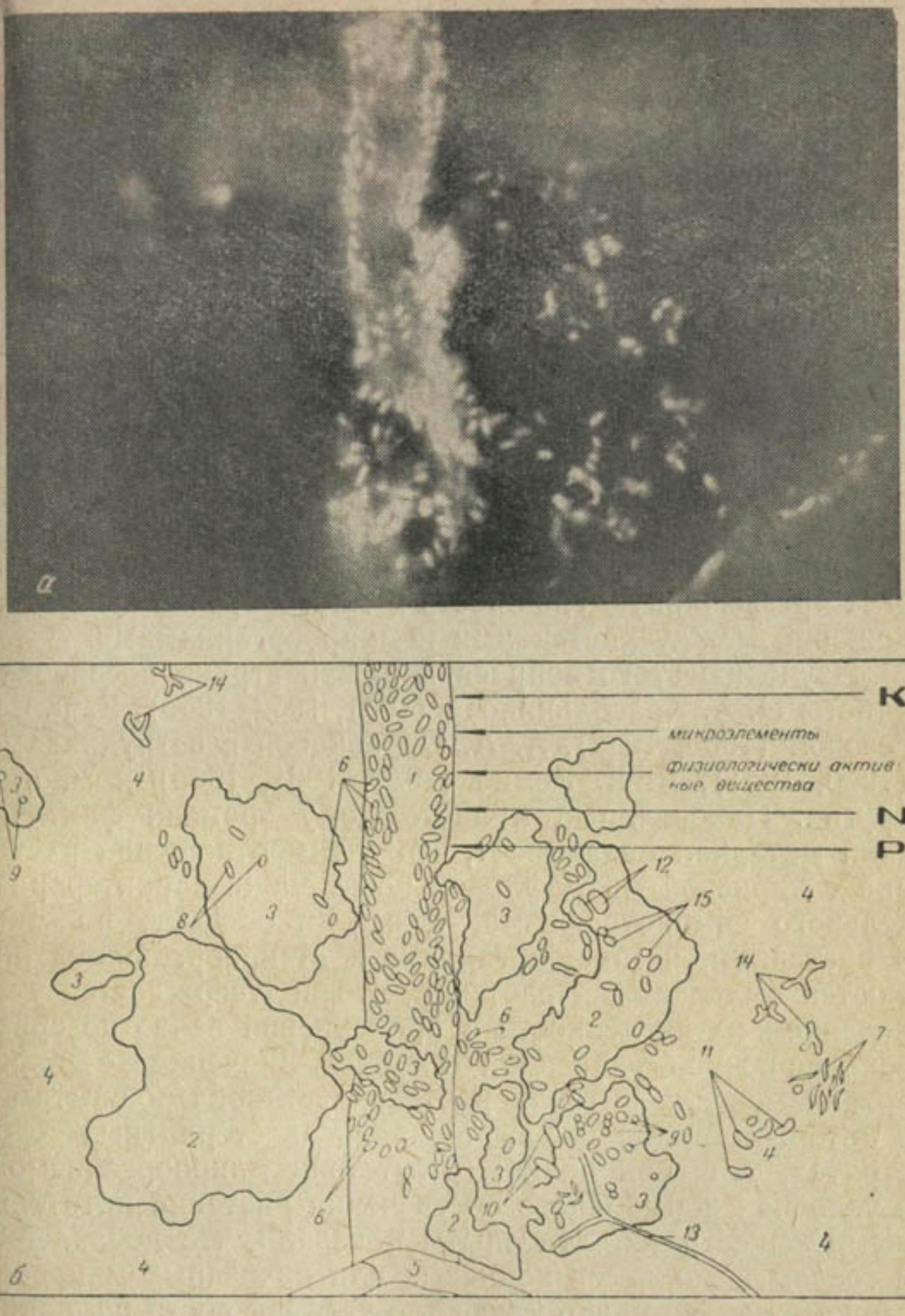


Рис. 6. Микроорганизмы на поверхности корневого волоска (по Д. Г. Звягинцеву).

а — фотография; *б* — схема; *1* — корневой волосок, *2* — минеральные частицы почвы, *3* — органические частицы почвы, *4* — разлагающиеся растительные остатки; *5* — почвенные грибы, *6* — неспороносные бактерии, *7* — миксобактерии, *8* — микобактерии, *9* — микококки, *10* — споровые бактерии, *11* — вибрионы, *12* — дрожжи, *13* — актиномицеты, *14* — проактиномицеты, *15* — азотобактер.

изменении их качественного состава — около корней и на их поверхности концентрируются неспоровые бактерии (H. Katznelson, 1946 и др.). По подсчетам Кауната (H. Kaunat, 1963), количество бактерий в ризосфере разных видов растений, находящихся в абсолютно тождественных условиях, было больше, чем в почве: у овса — в 229 раз, у кукурузы — в 88, у пшеницы — в 22, льна — 532, у люпина — в 79, подсолнечника — в 43, у томата — в 32, шпината — в 22, у лука — в 84, мака — в 63 раза и т. п.

В корневой зоне наблюдается скопление микроорганизмов, обладающих самыми разнообразными свойствами и входящих в состав сообществ в различных соотношениях. Они выделяют различные продукты обмена. Кроме того, их деятельность проявляется в разных условиях почвенной среды неодинаково. Все это обусловливает чрезвычайную сложность и многообразие взаимоотношений между растениями и микроорганизмами.

Изучению этого вопроса в нашей стране посвящены работы Н. А. Красильникова (1951, 1952, 1958), Е. Ф. Березовой (1950, 1956), А. А. Образцовой с сотрудниками (1960, 1961), Е. Х. Ремпе (1959, 1961, 1965) и многих других. Накопленный к настоящему времени фактический материал показывает, что взаимоотношения растений с корневой микрофлорой носят чаще характер раздельного симбиотрофизма, т. е. они обоюдно полезны и растениям, и микроорганизмам. Микроорганизмы питаются выделениями растений, что подтверждается увеличением их численности в прикорневой почве по сравнению с почвой, удаленной от корней. Значение же микроорганизмов для питания растений установлено опытами, в которых растения выращивали в стерильных субстратах, т. е. при полном отсутствии микроорганизмов, в условиях нормального обеспечения растений питательными веществами. Эти опыты показали, что добавление в сосуды комплексов корневых или почвенных микроорганизмов значительно улучшало условия роста растений. Так, в опытах Л. М. Доросинского (1951) урожай одного растения овса, росшего в стерильных условиях, составил всего 0,15 *г*, а при добавлении комплекса почвенных микроорганизмов — 1,25 *г*. По данным Е. Х. Ремпе (1959), вес зерна проса из одного сосуда в варианте со стерильной почвой был 1,56 *г*, а в варианте с бактериза-

цией — 2,38 *г*. По С. Ф. Лазареву и С. А. Каплун (1960), высота хлопчатника в стерильном сосуде была 6,5 *см*, а в нестерильном — 14,5 *см*. В опытах В. А. Пронина (1965) содержание сухого вещества в одном растении овса, росшего без микроорганизмов, составило 2,35 *г*, а в присутствии корневой микрофлоры — 3,22 *г*.

Сущность полезного влияния микроорганизмов на растения будет рассмотрена ниже.

КОЛИЧЕСТВО И СОСТАВ МИКРООРГАНИЗМОВ НА КОРНЯХ РАСТЕНИЙ

Изучение состава комплексов микроорганизмов на корнях, в прикорневой почве и ризосфере растений обычно проводилось методом группового анализа, т. е. путем учета различных физиологических групп микроорганизмов на элективных питательных средах. Выяснилось, что на корнях растений находят условия для своего размножения микроорганизмы с различными физиологическими свойствами, при этом на корнях не развиваются такие типичные представители почвенной микрофлоры, как целлюлозоразлагающие и нитрифицирующие бактерии. Размножение споровых и азотобактера также очень ограничено (В. Н. Былинкина, 1958 и др.).

Иллюстрацией сказанного могут служить данные, полученные Ж. Г. Ибрагимовой (1966) при учете некоторых групп микрофлоры в корневой зоне томатов и огурцов в период плодоношения (табл. 5).

Из данных табл. 5 видно, что на корнях растений насчитывается меньше микроорганизмов, чем в прикорневой почве, прилегающей к корням на расстоянии 1—2 *мм*. Это объясняется тем, что, кроме питательных веществ, в корневых выделениях растений присутствуют и антибактериальные вещества типа фитонцидов, концентрация которых на корнях выше, чем в прикорневой почве. Их действие на микроорганизмы подробно рассматривалось выше (см. стр. 15). Выделение фитонцидов — это защитная реакция растений, благодаря которой регулируется размножение микрофлоры на их поверхности.

Канадские микробиологи Лочхед, Текстон, Чейз, Роуатт, Кук, Уоллес в период с 1938 по 1957 г. изучали

Таблица 5

Количество (в тыс. на 1 г почвы) микроорганизмов в корневой зоне томатов и огурцов
(по Ж. Г. Ибрагимовой)

Растения	Объект исследования	Группы микроорганизмов						
		аммонификаторы (на пептонной воде)	растворяющие $Ca_3(PO_4)_2$	денитрификаторы, восстанавливающие NO_3 до N_2	разлагающие пектин (маслянокислые)	целлюлозоразлагающие	нитрифицирующие	фиксирующие азот (Clostridium pasteurianum)
Томаты	Отмытые корни	25 000	9 620	200	25	0	0	1
	Прикорневая почва	1 041 000	427 000	10 400	25 000	6 000	29	10
Огурцы	Отмытые корни	140 000	40 900	1 100	2 500	0	0	11
	Прикорневая почва	1 666 500	358 500	59 500	14 700	1 880	37	262

ризосферные и прикорневые микроорганизмы в зависимости от их потребностей в питательных веществах. Производилось массовое выделение культур (сотни и даже тысячи штаммов), которые затем выращивались на средах различного состава. Всего было использовано 7 сред с добавлением разного сочетания аминокислот, витаминов, дрожжевого и почвенного экстрактов. Авторы установили, что в каждую «группу питания» входит значительное разнообразие микробных видов.

Группировка бактерий на основе их требований к питательным веществам дала возможность установить ряд интересных фактов. Было показано, что в удобренной почве увеличивается количество бактерий с более сложными требованиями к пище (A. Lochhead, F. Chase, 1943), в ризосфере растений во много раз увеличивается количество бактерий, нуждающихся в аминокислотах (A. Lochhead, R. Thexton, 1947). Однако отзывчивость бактерий на присутствие разных аминокислот неодинакова; это говорит о специализации функций отдельных

микроорганизмов (R. Wallace, A. Lochhead, 1950). Сравнительное изучение 4347 культур, выделенных из почвы, и 2460 культур — из ризосферы, показало, что влияние живых растений на микрофлору значительно сильнее, чем влияние разлагающихся растительных остатков этих же видов растений (J. Rouatt, A. Lochhead, 1955). Относительное количество микроорганизмов, требующих для своего развития витамины, в ризосфере ниже, чем в почве (F. Cook, A. Lochhead, 1959).

Для более глубокого понимания разносторонней роли корневой микрофлоры в жизни растений не только изучали ее групповой состав, но также устанавливали, какие виды микроорганизмов и с какими свойствами размножаются на корнях растений, как влияют вносимые удобрения и другие условия выращивания растений на состав корневой микрофлоры и как это отражается на росте растений, действительно ли разным видам растений свойственна определенная, характерная только для них корневая микрофлора. Детальное изучение свойств отдельных видов микроорганизмов, входящих в состав корневых комплексов, позволило выяснить их потенциальные свойства и проявление тех или иных свойств в различных условиях выращивания растений.

Вначале, при изучении видового состава микрофлоры поверхности корней, большинство исследователей группировали бактерии по внешнему виду колоний. Было показано, что в зоне ризосферы и на корнях обильно размножаются такие неспоровые бактерии, как флюоресцирующие, типа радиобактера и микобактерии (G. Gräf, 1930; Е. Ф. Березова и Е. Х. Ремпе, 1950). Начиная с 1953 г., стали уделять больше внимания более детальной идентификации микроорганизмов, выделяемых с корней.

Подробные исследования корневой микрофлоры разных видов растений были проведены Ю. М. Возняковской и Г. К. Жильцовой (1958). Материалом для работы служили свежие корни отдельных экземпляров растений, которые тщательно отмывали от почвы, слегка растирали в ступке и энергично встряхивали в колбах с водой. Высев делали из 10-тысячного разведения на поверхность агаровой капустной среды (№ 19), разлитой в чашки Петри.

Исследовали корневую микрофлору следующих растений: кукурузы, пшеницы, овса, гречихи, подсолнечника,

табака, свеклы, огурцов, яблони, сливы, вишни, крыжовника. Кукурузу и крыжовник изучали более подробно. С этих растений были выделены культуры из всех колоний, выросших на чашках. Методика проверки культур на чистоту и их идентификация были такие же, как и для микроорганизмов филлосферы (см. стр. 175—179). Для того чтобы выявить наибольшее разнообразие корневых микроорганизмов, корни кукурузы брали дополнительно с поля по разным фонам удобрений, а также на участках с хорошо окультуренной почвой и с супесчаной, удобренной смесью NPK+навоз (вегетационные опыты). Корни брали в Научно-исследовательском зональном институте садоводства нечерноземной полосы под Москвой на посадках яблони 9-летнего, а крыжовника, сливы и вишни — 4-летнего возраста. Корни остальных растений взяты со специально посеянных делянок: кукурузы — в период образования метелки, все остальные растения — в период цветения. Всего с корней различных растений выделены, подробно изучены и идентифицированы 434 культуры.

Полученные данные показали, что среди микроорганизмов, которые преобладают на корнях и из которых могут состоять бактериальные комплексы корневой микрофлоры разных растений, насчитывается 66 видов. Кроме того, выделены 62 разновидности этих видов. По родам они распределялись следующим образом: Pseudomonas — 21, Bacterium — 6, Chromobacterium — 7, Mycobacterium — 12, Micrococcus — 2, Micrococcus — 4, Pseudobacterium — 4, Sarcina — 2, Promyxobacterium — 2, Azotomonas — 1, Lactobacterium — 1, Bacillus — 2 и дрожжеподобные — 2. Совершенно очевидно, что не все виды микроорганизмов, которые могут жить на корнях, единовременно на них присутствуют *.

Оказалось, что один и тот же вид микроорганизма может быть обнаружен на корнях самых различных растений. Так, например, Ps. fluorescens обнаруживали на корнях овса, пшеницы, кукурузы, гречихи, подсолнечника, вишни, яблони, сливы, крыжовника, Ps. chrysea — на корнях овса, пшеницы, гречихи, яблони, сливы, вишни, Bact. agile — на корнях овса, кукурузы, гречихи, огур-

* Подробное описание всех свойств, а также культуральных и морфологических особенностей выделенных с корней микроорганизмов приведено в табл. 45.

цов, яблони, крыжовника, Chr. chlorinum — на корнях пшеницы, кукурузы, подсолнечника, свеклы, огурцов, вишни, Myc. album — на корнях пшеницы, кукурузы, свеклы, табака, вишни, сливы, Myc. rubrum — на корнях пшеницы, кукурузы, яблони, вишни и т. д. Можно с уверенностью сказать, что если проанализировать корневую систему не 12 видов, а гораздо большего числа видов растений, то те же самые микроорганизмы были бы найдены и на других растениях. Это подтверждается находками тех же видов микроорганизмов на корнях фасоли, лядвенца, тимофеевки, гороха, а также древесных растений — дуба, сосны и лавра благородного.

Судя по литературным данным, те же самые микроорганизмы найдены другими исследователями на корнях тех же видов растений, но взятых в других условиях, а также на корнях картофеля, сои, кок-сагыза, клевера, хлопчатника (М. В. Федоров и В. Ф. Непомилуев, 1954; Т. Е. Попова, 1957; М. Б. Петренко, 1958 и др.).

В настоящее время можно считать доказанным, что разные виды микроорганизмов присутствуют на корнях растений (так же как и в филлосфере) в различных количественных соотношениях, причем эти соотношения зависят не только от вида растений, но и от источников микрофлоры (семена, почва) и почвенных условий, в которых произрастает данное растение.

Количество микроорганизмов и соотношение видов на корнях одного и того же растения непостоянно и меняется в течение вегетационного периода по фазам развития растений, а также зависит от влажности почвы, вносимых удобрений, освещенности растений и т. п. Последнее объясняется тем, что состав корневых выделений, которыми питаются микроорганизмы и за счет которых они размножаются на корнях, непостоянен у одного и того же вида растения как в разные фазы его развития, так и при различных условиях культивирования. Особенности почвы, удобрение, температура, освещение и прочее — все эти факторы влияют на характер обмена веществ растения, а следовательно, и на состав его корневых выделений.

Между тем на основании результатов, полученных ранее при изучении корневой микрофлоры в опытах с водными или песчаными культурами, долгое время считалось, что у каждого вида растения на корнях форми-

руется специфический для него комплекс микроорганизмов. Исходя из этих данных, появилась теория, основанная на том, что каждый вид растения или группа видов связаны с соответствующей им специфической микрофлорой и без такой взаимосвязи растения не могут нормально усваивать питательные вещества из почвы. На этом основании была предложена система удобрения, одинаковая для всех растений и для всех почв нечерноземной полосы, так как главной задачей считалось создание оптимальных условий для размножения специфических ризосферных микроорганизмов. Однако до сего времени остался неподтвержденным факт, что каждому виду растений были присущи какие-либо особые виды микроорганизмов. Вероятнее, что в разных условиях на корнях отбираются виды из присутствовавших в почве или на семенах и что особенности почвы и удобрений оказывают на этот отбор существенное влияние (Я. П. Худяков, 1954; Л. М. Доросинский, 1954; Е. Н. Мишустин, 1957).

Действительно, было доказано, что при внесении удобрений изменяется состав и соотношение преобладающих видов корневых микроорганизмов. Очень тщательно проведенные с методической точки зрения опыты Кауната (H. Kaunat, 1963) по этому вопросу привели его к выводу, что на формирование микробных корневых комплексов в каждом конкретном случае оказывает влияние целый ряд факторов, зависящих от условий выращивания растений. Оказалось, что удобрения влияют на микрофлору как непосредственно, так и через посредство растения, т. е. через его корневые выделения (С. А. Самцевич и В. Н. Борисова, 1961).

В литературе имеются некоторые сведения об изменениях в составе корневых выделений в зависимости от условий выращивания растений и от их возраста. Например, установлено, что выделение корнями кальция зависит от кислотности наружного почвенного раствора, а также от концентрации в нем ионов Са (О. Ф. Гуева, 1926). Выделение корнями аммиака может происходить при избытке азотистой пищи, например если создается ненормальное соотношение между использованием аммиака на синтетические процессы, протекающие в корнях, и его образованием при редукции в них нитратов (Д. Н. Прянишников, 1938). Исключение из питательного раствора фосфора, калия и микроэлемента бора при-

водит к значительному понижению выделения корнями органических соединений. Предполагается, что это происходит потому, что минеральные элементы пищи влияют на коллоидно-химические свойства плазмы и процессы синтеза и перемещения органических соединений из листьев в другие органы (И. А. Геллер, 1955).

Ровира (A. Rovira, 1956) изучал состав аминокислот и сахаров в корневых выделениях овса различного возраста. Было обнаружено на 10-й день 7 аминокислот, причем преобладали лизин, серин и глицин, на 21-й день — 12 аминокислот и преобладали аспарагин и лейцин. Количество сахаров с возрастом растения, наоборот, снижалось. Например, количество глюкозы уменьшилось с 20 до 5 *мг*, фруктозы — с 15 до 5 *мг* на одно растение. У многолетних трав с возрастом наблюдается снижение количества корневых выделений, причем уменьшается содержание углеводов и органических кислот. Количество кислорода в почве, интенсивность освещения растений и температура воздуха влияют на состав корневых выделений растений следующим образом. При недостатке кислорода количество аминокислот в корнях подсолнечника уменьшается, а в корневых выделениях начинают преобладать глютамин, валин и лейцин.

При недостатке освещения в корневых выделениях начинают преобладать аспарагиновая и глютаминовая кислоты и аспарагин. В корневых выделениях клевера при слабом освещении содержится мало глютаминовой кислоты, серина и α-аланина, а в выделениях томатов уменьшается содержание аспарагиновой и глютаминовой кислот, фенил-аланина и лейцина и увеличивается количество серина и аспарагина. При высокой температуре количество аминокислот в выделениях обоих растений повышается (F. Burkhard, 1957; A. Rovira, 1959).

Состав корневых выделений в разные фазы развития растений зависит от протекающих в эти фазы синтетических процессов. Например, до цветения в растении ячменя происходит усиленный синтез белков, при этом увеличивается расход сахаров. В связи с этим количество сахаров в корнях растения снижается с 8,7 до 1,25%, количество же органических кислот несколько увеличивается — с 47,6 до 77,1%. В период формирования репродуктивных органов углеводов меньше, чем до цвете-

ния, расходуется на синтез белков и количество сахаров в корнях опять несколько возрастает — с 1,25 до 3,75% (И. В. Мосолов, Е. Х. Ремпе, В. А. Александровская, 1959).

Наблюдали также, что при наличии в среде витамина B_6 изменяется азотный обмен растения, в частности усиливается процесс синтеза белковых веществ в корневой системе. Это в свою очередь неминуемо отражается на составе корневых выделений (Ю. В. Круглов, 1960). Уровень азотного питания растений также влияет на синтетическую деятельность корней; причем при высоком уровне в пасоке (соке, поступающем из корней в стебель) преобладают амиды и основные аминокислоты, а при низком — γ-аминомасляная кислота и аланин (И. В. Мосолов и А. Н. Лапшина, 1964).

Приведенные данные подтверждают изменение состава корневых выделений у растений в зависимости от условий, в которых они выращиваются, а также от возраста растений. На этом основании можно утверждать, что состав корневой микрофлоры, для которой эти выделения служат источником питания, не может оставаться постоянным.

Данные исследований подтверждают непостоянство состава корневых и ризосферных комплексов микроорганизмов у одного и того же вида растения, а также изменения микрофлоры в связи с возрастом растений и стадиями их развития. Например, в ризосфере ячменя у молодого растения обнаруживалось 20,2% бактерий, требующих для своего питания аминокислот, а у старого — только 1,2%; бактерий, требующих дрожжевого и почвенного экстрактов, в ризосфере молодого растения было 2,7%, а у старого — 8,9% (R. Wallace, H. King, 1954). Или например: на корнях тимофеевки в период отрастания преобладали флюоресцирующие и денитрифицирующие бактерии, а в фазу метелки преобладающими были микобактерии (М. В. Федоров, В. Ф. Непомилуев, 1954); на корнях ржи в молодом возрасте преобладали бактерии из группы псевдомонас, затем их сменили микобактерии, а во время цветения и созревания — кокковые формы; на корнях яровой пшеницы в начальный период обнаруживалось преобладание псевдомонас и ахромобактер, а позднее было больше хромобактерий (А. Н. Фирсанова, 1956). Изменение в составе

корневой микрофлоры наблюдалось на корнях хлопчатника, гречихи, льна и других культур.

Если рассматривать растение, почву и корневую микрофлору в их взаимосвязи, то становится понятным, что микробные комплексы на корнях складываются в зависимости от влияния внешних условий, в число которых входит и воздействие растения.

Огромное скопление разнообразных микроорганизмов на корнях растений при нормальных условиях выращивания, как увидим дальше, не только не вредит растениям, а, наоборот, является для них необходимым условием нормального роста и развития.

НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРНЫЕ ЧЕРТЫ КОРНЕВОЙ МИКРОФЛОРЫ

Скорость размножения и биохимическая активность корневых микроорганизмов. Развитие в зоне корней растений микрофлоры, отличающейся по качественному составу от почвенной, подтверждено многочисленными данными. Как уже упоминалось, в процессе эволюции растительного мира часть почвенных микроорганизмов приспособилась к жизни в зоне корней и использованию для своего питания корневых выделений растений. Для них стали оптимальными те условия, которые складываются в почве и на корнях под влиянием развивающегося растения. При массовом скоплении микроорганизмов в прикорневой почве и на корнях возникает конкуренция, в которой особенно проявляется преимущество видов, более приспособленных к питанию отдельными веществами корневых выделений, в частности аминокислотами, а также видов, быстрее размножающихся в этих условиях.

Проводилось сравнительное изучение скорости размножения и активности микрофлоры почвы и корневой системы. В условиях, исключающих конкуренцию почвенных видов, наблюдалась следующая скорость размножения микроорганизмов на растущих корешках томата при исходном количестве микроорганизмов на набухшем семени 42,7 тыс.: через 6 часов на корешках длиной 2—3 *мм* насчитывалось уже 850 тыс., а через 12 часов при длине корней 6—10 *мм* — 1300 тыс. (A. Rovira, 1956).

Сравнивали выделенные из почвы (100 культур) и из ризосферы (100 культур) микроорганизмы по росту их на разных средах. Было обнаружено, что на среде с аминокислотами, которые являются характерной составной частью корневых выделений всех растений, обильно росло 24% культур, выделенных из почвы, и 69% культур — из ризосферы гороха. При этом на корнях растений преобладал вид Ps. fluorescens, что можно объяснить способностью этого микроорганизма быстро размножаться, образовывать кислые продукты обмена в присутствии углеводов и выделять флюоресцирующий пигмент, угнетающий другие организмы.

Использовался также ряд показателей для определения физиологической активности культур из ризосферы злаков и из удаленной от растений почвы. Было показано, что из 100 культур, выделенных из почвы, метиленовую синь восстанавливали 20%, а из ризосферы — 68%; образовали кислоту из глюкозы соответственно 2 и 9%, были аммонификаторами 17 и 40%. При пересчете этой относительной разницы на абсолютную различия были очень большие, так как в 1 *г* почвы насчитывалось 64 млн. клеток, а в 1 *г* ризосферной почвы — 2124 млн. (J. Rouatt u. H. Katznelson, 1957). Кроме того, активность культур, выделенных из ризосферы пшеницы и из почвы, удаленной от растения, сравнивали по активности их дыхания при росте на средах с различными сахарами и аминокислотами. Максимальное поглощение кислорода, определяемое на аппарате Варбурга, наблюдалось при выращивании ризосферных бактерий на глюкозе и аланине, т. е. на тех веществах, которые характерны для корневых выделений. Так, поглощение кислорода на глюкозе было у ризосферных бактерий 164,3 μ/*л* в час в расчете на 1 *мг* сухих клеток, у почвенных — 139,3, на аланине у ризосферных — 138, у почвенных — 68,5 μ/*л* в час. В другом случае на среде с глюкозой у культур, выделенных из почвы, через 2 часа было поглощено 113 μ/*л* кислорода, у культур, выделенных из ризосферы,— 198, выделенных с корней — 234; на среде с аланином поглощение кислорода составило соответственно — 141, 247 и 306 μ/*л* в час (A. Zagallo, H. Katznelson, 1957).

Данные показывают, что в результате отбора на корнях остаются и развиваются физиологически более

активные микроорганизмы. Тот факт, что на среде с аланином активность оказалась выше, чем на среде с глюкозой, указывает на бóльшую приспособленность корневой микрофлоры к питанию аминокислотами. Уже в первые дни роста пшеницы на корнях начинают преобладать виды с более сильной ростовой активностью. Например, микроорганизмы, перешедшие вначале на корни с поверхности семян, вытесняются различными быстрорастущими видами, попадающими из почвы (J. Macura, 1958; K. Vágnerová, J. Macura, V. Čatska. 1960).

Корни находятся в тесном контакте с почвой, поэтому все время имеется возможность для поселения на них разнообразной микрофлоры. Однако для дальнейшего размножения на корнях получают преимущество только те виды, которые приспособились к жизни в этих условиях, являющихся для них оптимальными. Тардье с соавторами (P. Tardieux et al., 1961) установили, что растение влияет своими корневыми выделениями на размножение и состав корневой и ризосферной микрофлоры не только непосредственно, но и косвенно. Этот вторичный эффект объясняется тем, что в результате размножения эпифитных микроорганизмов выделяются продукты их жизнедеятельности, содержащие ростовые вещества. Благодаря этому создаются условия для размножения ряда почвенных видов, обладающих более низкой синтетической активностью.

Во время заселения молодых, растущих корешков микроорганизмами большое значение имеет характер взаимоотношений между последними. Виды, обладающие антагонистическими свойствами, могут занять преобладающее место в комплексе и этим определить состав корневой микрофлоры.

Имеются данные, которые подтверждают, что образуемые некоторыми почвенными микроорганизмами антибиотические вещества действуют угнетающе на другие. Так, например, на некоторых почвах наблюдалось отсутствие клубеньков на корнях клевера. Причиной этого оказалось наличие в ризосфере большого количества бактерий-антагонистов. Н. А. Красильников (1951) объясняет факт преобладания в ризосфере сравнительно небольшого количества видов при очень большой численности микроорганизмов выделением антибиотических веществ преобладающими видами.

Чтобы выяснить значение антагонизма при заселении микроорганизмами отдельных частей растений, а также установить влияние антагонизма на формирование и состав микробных комплексов корней, был проведен эксперимент с искусственно нанесенными на семена бактериями, обладающими разными свойствами (Ю. М. Возняковская, 1964). Цель состояла в том, чтобы проследить, какие микроорганизмы перейдут с семян на поверхность корней и листьев, какие виды и с какими свойствами «преградят путь» внесенным бактериям для заселения поверхности растений. Семена ржи бактеризовали одним из следующих видов бактерий: 1) Ps. fluorescens — штамм 188, выделенный с корней лядвенца, довольно сильный антагонист ряда культур; 2) Myc. phlei — штамм 171, выделенный с листа проростков ржи, медленно растущий и не обладающий антагонистическими свойствами; 3) Chr. rheni harrisonii — штамм 84, выделенный с корней озимой пшеницы, слабый антагонист.

Затем эти семена высевали в сосуды с почвой в двух повторностях для каждого варианта. Анализировали 12-суточные растения — их надземную часть и корни, отмытые от почвы. В ряде случаев вместо внесенных на семена бактерий на растениях заняли место другие микроорганизмы. При анализе корней обнаруженные культуры (31 вид) были проверены на их взаимоотношения с внесенными видами. Характер заселения разных частей проростков (корней и зеленых частей) представлен на рис. 7.

Оказалось, что в том случае, когда семена бактеризовали культурой 188, обладающей антагонистическими свойствами, она полностью заселила поверхность листьев и в довольно значительном количестве перешла на корни, где она составила около 30% от общего количества микроорганизмов, выросших на чашках при высеве смыва с корней. Наряду с культурой 188 на корни перешли еще 4 вида, из которых 3 оказались ее антагонистами. Они составляли около 50% от общего количества микроорганизмов. Культура 171 хотя и перешла на листья, но в сравнительно небольшом количестве — 12%. Из 7 культур, перешедших на листья вместе с культурой 171, 3 оказались антагонистами. На корнях культура 171 не была обнаружена, а из заселивших корни микроорганизмов 45% оказались ее антагонистами. Культура 84

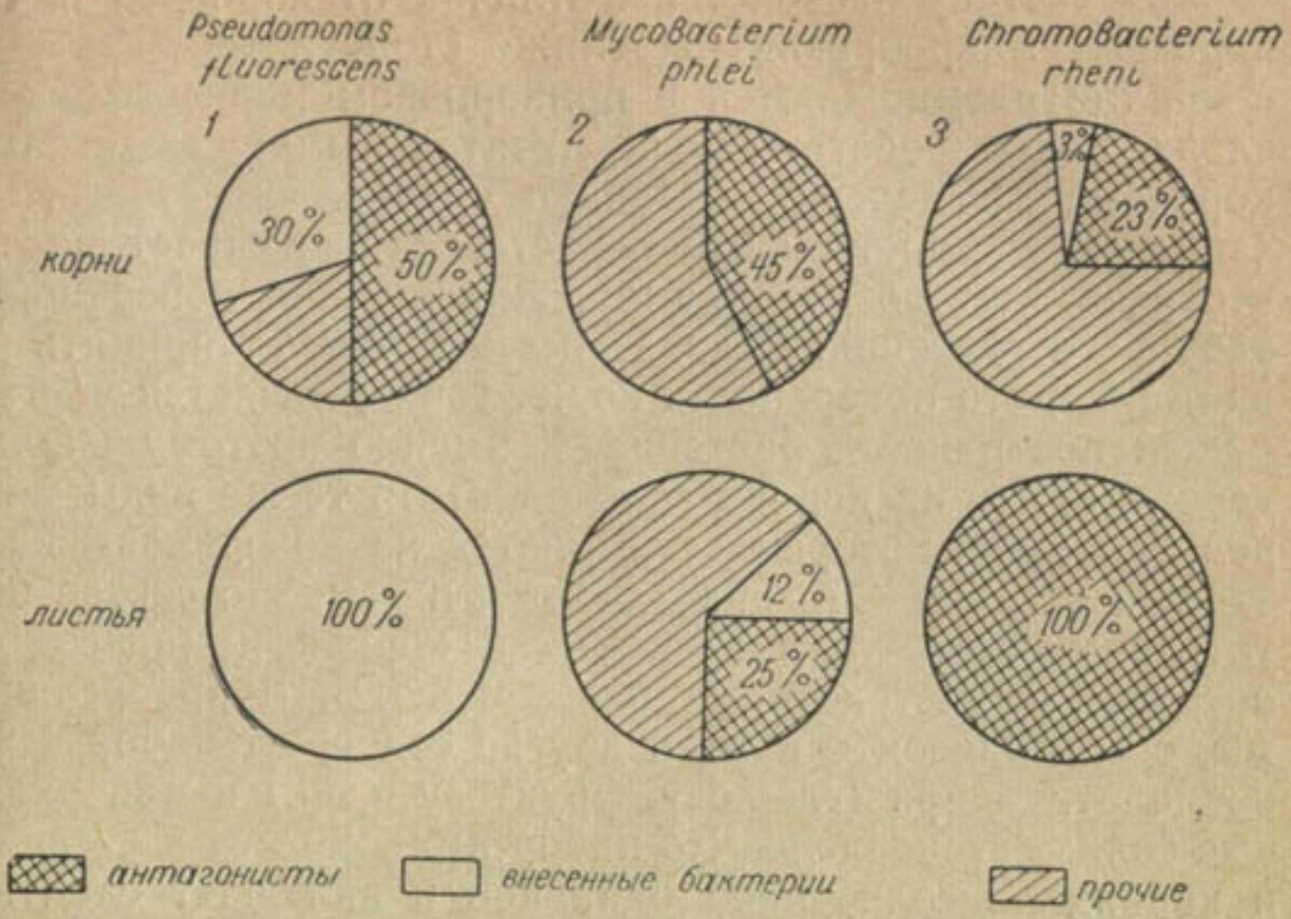


Рис. 7. Схема перехода микроорганизмов с семян на растения в зависимости от свойств и присутствия антагонистов.

1 — № 188, выделена с корней лядвенца, антагонист ряда культур, *2* — № 171, выделена с листа ржи, не обладает антагонистическими свойствами, *3* — № 84, выделена с корней пшеницы, очень слабый антагонист.

была обнаружена на корнях в очень небольшом количестве — 3%. Из 9 выделенных с корней культур 3 вида были антагонистами, они составляли 23% от общего количества видов, выросших на чашках бактерий.

Сравнивая данные по способности разных микроорганизмов переходить с семян на листья и корни проростков, можно отметить, что заселение ими поверхности растения зависит как от свойств культуры, так и от присутствия других микробов-конкурентов. Таким образом, наличие микробов-антагонистов в почве или на семенах при их прорастании является существенным фактором, влияющим на состав популяций корневой микрофлоры.

Общность и различия в составе микрофлоры корней и надземных органов растений. По новым представлениям корневые микроорганизмы являются эпифитами.

До последнего времени под термином «эпифитные микроорганизмы» подразумевались только те, которые населяют надземные части растений, т. е. филлосферу. Считалось, что группа эпифитных микроорганизмов по

своему составу и свойствам отлична от корневой и что корневые микроорганизмы ближе стоят к тем, которые в обилии размножаются в прикорневом и ризосферном слоях почвы, обогащенных питательными веществами корневых выделений. Однако название «эпифиты» (эпи — поверхность, фито — растение) указывает на то, что речь идет об организмах, живущих на поверхности здорового растения. В связи с этим следует принять во внимание, что поверхность корня также является частью общей поверхности растения, и именно поэтому вполне вероятно, что на корнях могут обитать те же виды микроорганизмов, которые встречаются на поверхности надземных органов. Это определяется и тем, что состав питательных веществ в выделениях корней и надземных органов, за счет которых размножаются микроорганизмы, очень близок — и те, и другие содержат набор аминокислот, сахара (глюкозу, фруктозу и др.) и минеральные соли. Установлено, что набор аминокислот в стеблях и корнях подсолнечника одинаков и включает следующие из них: оксипролин, лизин, гистидин, аргинин, аспарагиновую кислоту, серин, треонин, аланин, пролин, в меньших количествах — валин, метионин, фенилаланин и лейцин. Из сахаров как в стеблях, так и в корнях подсолнечника обнаружены глюкозы, фруктоза и сахароза. В прорастающих семенах его — набор из 16 аминокислот.

Болгарские ученые К. Д. Стоев, П. Т. Мамаров и И. В. Бенчев (1959), применяя хроматографический метод исследования, изучили состав углеводов и аминокислот в разных органах виноградной лозы у различных сортов винограда. В результате изучения состава пасоки никакой специфичности в аминокислотном наборе для отдельных органов виноградной лозы авторам установить не удалось. Общими для всех частей виноградной лозы были аминокислоты: гистидин, аспарагиновая и глютаминовая, изолейцин, норвалин, тирозин, аланин, треонин и α-аминомасляная. У разных сортов винограда набор аминокислот был одинаков. Некоторые изменения наблюдались в разные периоды вегетации, но такие аминокислоты, как аспарагиновая и глютаминовая, валин, изолейцин и лизин, обнаруживались в течение всего вегетационного периода.

Кроме состава питательных веществ, на размножение микроорганизмов на поверхности корней влияют выделяе-

мые корнями растений фитонциды. Эпифитные микроорганизмы более устойчивы к фитонцидам, чем многие почвенные, поэтому наличие в зоне корней бактерицидных веществ не препятствует их размножению.

Говоря об общности условий для развития микроорганизмов на разных частях растений, нельзя забывать и о различиях, которые определяются тем, что корни растут в почве, а надземные органы — в атмосфере. Корневая система очень тесно соприкасается с почвой. В ней содержатся различные органические и неорганические вещества, токсические соединения, продукты обмена других живых существ — многочисленных микро- и макроорганизмов (бактерий, грибов, водорослей, простейших, червей, насекомых и др.) и, кроме того, почва обычно имеет довольно высокую влажность. Надземные органы растений в природной обстановке находятся совсем в иных условиях, чем корни: они больше подвержены влиянию климатических факторов, а также действию солнечной радиации. Именно это обстоятельство главным образом и послужило основанием для утверждения, что корневая микрофлора и микрофлора филлосферы не могут иметь между собой ничего общего.

Подробное изучение видового состава микрофлоры корней и филлосферы позволило сравнить ее между собой. Культуры для идентификации выделяли с разных видов и частей растений (подземных и надземных органов) того же растения. Оказалось, что 50 видов микроорганизмов часто обнаруживаются как на корнях, так и на надземных органах. Вместе с тем более детальное рассмотрение этого вопроса показало, что одни виды чаще обнаруживаются на корнях, другие — на листьях.

Изучение приспособленности микроорганизмов жить и размножаться на тех или иных органах растений показало, что каждый из 50 видов, общих для корней и филлосферы, независимо от части растения, с которой он выделен, был способен переходить с семян на корни и листья двухнедельных проростков ржи и размножаться на них в условиях микровегетационного опыта.

У микроорганизмов, обнаруженных только на корнях или только в филлосфере, в большинстве случаев наблюдалась большая приспособленность к существованию соответственно либо на корнях, либо на листьях (табл. 6).

Таблица 6

Способность некоторых микроорганизмов, выделенных с корней, переходить на листья, а выделенных с листьев — на корни
(анализ 10-суточных проростков кукурузы)

Микроорганизмы, внесенные на семена	Откуда выделены культуры	Переход внесенных культур		Количество внесенных микроорганизмов, обнаруженных в смыве (в тыс.)	
		на листья (отпечатки на агаре)	на корни (обрастание кусочков на агаре)	с надземной части одного растения	с корней одного растения
Chr. aurantiacum	Колос пшеницы .	++	++	1	15 200
Pullularia pullulans	Лист крыжовника	++	—	95	0
Bact. agile	Корни овса . . .	+	++	1200	20 500
Ps. fluorescens	Корни крыжовника	++	++	145	72 000
Myc. oligonitrophilum	Корни лавра . . .	—	++	0	1 000
Promyxobacterium	Корни кукурузы .	—	+	0	240
Ps. aurantiaca	Корни кукурузы .	+	++	14	72 000

Обозначения. «++» — перешло большое количество, «+» — перешло мало, «—» — не обнаружено.

Несмотря на то, что большинство видов эпифитных микроорганизмов являются общими для подземных и надземных органов растений, между микробным населением корней и филлосферы имеются некоторые различия. В первую очередь обращает на себя внимание значительная разница в количестве микроорганизмов на разных частях растения. Эта разница становится заметной уже с самого начала роста растения, причем количество микроорганизмов на корнях всегда превышает их количество на надземных органах. При анализе проростков ячменя на корнях нами обнаружено 2 940 тыс. бактерий, а на надземных частях — 925 тыс. в 1 *г* сырой массы. Аналогичные данные получены Д. Я. Креслинь (1964). Сравнительное определение количества микроорганизмов на разных частях растений ржи, проведенное на среде № 19, показало, что их соотношение на корнях, листьях, цветках и семенах составляет примерно 1500 : 14 : 9 : 1.

При учете численности микроорганизмов, входящих в разные физиологические группы, на корнях и листьях пшеницы и черной смородины были также выявлены значительные количественные различия (табл. 7).

Таблица 7

Количество микроорганизмов различных физиологических групп на корнях и листьях пшеницы и черной смородины в период выколашивания и образования завязи

(в тыс. на 1 *г* веса сырой массы)

Растение	Что анализировали	Количество микроорганизмов					
		аммонификаторы (на пептонной воде)	денитрификаторы (на среде Гильтая)	маслянокислые (на картофельной среде)	Clostridium pasteurianum (на среде Виноградского)	целлюлозоразлагающие (на среде Гутчинсона)	актиномицеты (на крахмально-аммиачной среде)
Пшеница	Корни . .	25 000	250	6,0	0,25	1,3	10
	Листья . .	2 500	2,5	0,006	0,013	0	0
Черная смородина	Корни . .	25 000	600	2,5	6,0	6,0	40
	Листья . .	600	25	0,025	0,06	0,013	0,2

Приведенные результаты показывают, что количество микроорганизмов на корнях значительно больше, чем на надземных органах. Если на корнях они исчисляются миллионами, то на надземных органах — тысячами. Эта разница, так же как и общее количество микроорганизмов, колеблется в значительных пределах в зависимости от вида растения и условий внешней среды. Поэтому естественно, что цифры, приведенные в табл. 7, можно рассматривать только как примерные, относящиеся к индивидуальным анализам, хотя и отражающим общую закономерность.

Различаются комплексы микрофлоры корней и филлосферы не только количественным, но и качественным составом видов. Качественный состав характеризуется как присутствием различных видов микроорганизмов, так и их соотношением. На корнях могут преобладать одни виды, а на надземных органах — другие. Видовой состав корневой микрофлоры гораздо разнообразнее микрофлоры филлосферы.

ВЛИЯНИЕ КОРНЕВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ПОСТУПЛЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯ

О механизме поглощения питательных веществ корневой системой. В основе процесса корневого питания растений лежит поглощение элементов пищи из почвы. Поступление веществ в корни — это очень сложный процесс, который слагается из комплекса одновременно протекающих механизмов поглощения. Р. К. Саляев (1965) перечисляет следующие из них: 1) пассивное поглощение путем диффузии молекул в «свободное пространство» клетки; 2) физико-химическая адсорбция на пектоцеллюлозных мембранах клеточной оболочки; 3) поглощение путем включения в метаболизм, т. е. в обмен веществ клетки; 4) поглощение при помощи молекул-переносчиков; 5) перенос ионов с поверхности корня в его клетки при помощи специфических ферментов «пермеаз»; 6) поглощение при активном движении цитоплазматической мембраны; 7) поглощение путем пиноцитоза, т. е. «захватывание» отдельными участками оболочки капель внешнего раствора при ее впячивании (количество микропиноцитозных вакуолей в клетке может достигать нескольких тысяч).

Согласно представлениям Д. Ф. Сатклиффа (1964) на определенном этапе поглощения между поглощенным ионом и органическим веществом, входящим в состав цитоплазмы, образуется специфический комплекс. При этом перенос ионов из раствора в клетки корня может осуществляться с участием так называемых переносчиков, в качестве которых могут функционировать цитоплазматические белки. Цитоплазма находится в состоянии непрерывного движения, поэтому составляющие ее белки периодически передвигаются с поверхности в толщу, перенося с собой связанные ионы.

При частичном распаде и при обновлении белков ионы освобождаются и, притягивая воду, образуют мелкие капельки, которые затем могут сливаться с центральной вакуолью.

Поглощение ионов клетками корня является двусторонним процессом. Установлено, что оно происходит при обменной адсорбции, когда ионы, выделяемые корнями, обмениваются с ионами, находящимися в почвенном ра-

створе. Этот факт был подтвержден Бройером (T. Broyer, 1950), который использовал в своих опытах меченые атомы калия. «Обменный фонд» растений составляют катионы H^+ и анионы HCO_3^-, освобождающиеся при растворении и диссоциации выделяющейся из корней при их дыхании угольной кислоты, а также ионы корневых выделений.

Корень не только поглощает вещества, в нем протекают и синтетические процессы. Установлено путем хроматографического анализа пасоки, что поступившие в корни минеральные формы азота быстро превращаются в аминокислоты, в синтезе которых участвуют продукты фотосинтеза — органические кислоты. Кроме аминокислот, в корнях происходит вторичный синтез других органических соединений — амидов, липоидов и нуклеопротеидов. В результате процессов синтеза, протекающих в корнях, все время нарушается равновесие между компонентами клеточного сока и почвенного раствора, что способствует поглощению веществ, а также приводит к избирательному поглощению ионов. Поглощение питательных веществ является активным физиологическим процессом, связанным не только с жизнедеятельностью корневой системы, но и с жизнедеятельностью надземных органов, т. е. с обменом веществ всего растения (И. И. Колосов, 1962; Д. И. Сабинин, 1955 и др.).

Из сказанного вытекает, что процесс поглощения солей корнями нельзя изучать в отрыве от физиологии растения и без учета условий окружающей его среды. Поступление веществ в корни зависит не только от процессов, происходящих в самом растении, но и от таких факторов, как влажность почвы, концентрация веществ в почвенном растворе, реакция среды, температура, освещение и пр. Большая роль и особое значение принадлежат в этом процессе и микроорганизмам, окружающим корневую систему. Именно здесь с особой ясностью выступает симбиотический характер взаимоотношений между растением и микроорганизмами.

Потребление микроорганизмами корневых выделений. Как ранее уже отмечалось, микроорганизмы питаются корневыми выделениями и, размножаясь на корнях, оказывают разностороннее влияние на питание растений, в том числе и на поступление веществ в корни. Возможно,

что микроорганизмы, потребляя для своего питания корневые выделения, нарушают равновесие между концентрацией веществ в наружном растворе и в клетках корня и этим вызывают усиление обмена между корнем и средой. Кроме того, при потреблении корневых выделений с поверхности корней удаляются органические соединения, которые в процессе диффузии из корня частично адсорбируются на его поверхности и этим затрудняют поступление в корни катионов и анионов. Изучение корневых выделений до сих пор проводилось в значительной мере односторонне. Это выражается в том, что в настоящее время установлены состав и количество выделений корней, а природа этого процесса осталась неисследованной. Процесс поглощения минеральных солей корнями до сих пор изучался в отрыве от процесса их выделения. В ряде трудов, посвященных поглотительной деятельности корневых систем и корневому питанию растений, детально рассматриваются механизм обменной адсорбции ионов, связь процесса поглощения с общим обменом веществ растения, причины избирательного поглощения веществ и т. д., но вместе с тем игнорируется факт наличия выделительной функции корней.

Присущий растениям процесс выделения веществ корнями является, как и процесс их поглощения, неотъемлемым звеном общего хода обмена веществ растений и поэтому заслуживает большего внимания со стороны физиологов растений и биохимиков. Познание этого явления позволит яснее представить и роль микроорганизмов, потребляющих выделения корней. Имеются наблюдения, что у некоторых растений корневые выделения обладают значительной вязкостью и часто скапливаются на кончике корня, образуя нечто вроде чехла (С. А. Самцевич, 1965).

Удаление слоя органических соединений с поверхности корня может облегчить доступ катионов и анионов к клеткам корня и усилить обменные процессы между поверхностью корневой системы и внешней средой. Так, в опыте с кукурузой в бессменном растворе выделялось 7 *мг* углерода на 1 $м^2$ поверхности корней, а в сменяемых растворах — 15,4 *мг*, в опыте с горохом — соответственно 8,6 и 20,13 *мг* (Н. В. Мешков, 1950). Этот опыт показывает, что удаление выделений с поверхности корней усиливает образование выделений растением, т. е.

вызывает интенсификацию обмена веществ в корневой системе. Последнее в свою очередь связано с увеличением поглощения питательных веществ растением. Условия питания растений в стерильных условиях ухудшаются не потому, что при этом накапливаются вредные продукты обмена или растение не приспособлено питаться минеральными соединениями, а отчасти потому, что корневые выделения скапливаются около корней и концентрация веществ в слое, прилегающем к корням, в клетках выравнивается. Поэтому затормаживается как выделение, так и связанное с ним поглощение веществ. При удалении органических соединений с корней путем их обработки перманганатом калия наблюдалось резкое (в 4 раза) увеличение поступления фосфора (P^{32}) в ткани корня (И. А. Геллер и Д. А. Табеницкий, 1957).

Одной из особенностей микроорганизмов, размножающихся на поверхности растений, является потребность большинства из них в органических источниках азота, в частности в аминокислотах. Обнаружено, например, что из 64 видов микроорганизмов, выделенных с корней разных растений, 42,2% оказались неспособны развиваться за счет минерального азота нитратов и аммонийных солей. Многие из этих микроорганизмов обладали ярко выраженной аминогетеротрофностью. Установлено, что в ризосфере кормовой свеклы бактерий в 14 раз (из них нуждающихся в аминокислотах — в 52 раза) больше, чем в почве (A. Lochhead a. R. Thexton, 1947). Процент бактерий, требующих для своего развития аминокислот, в почве составил 16,6—26,2%, в ризосфере ячменя — 53,1, в ризосфере гороха — 63,9, в ризосфере пшеницы — 60,7% (J. Rouatt, H. Katznelson, 1957). По данным Роуата (J. Rouatt, 1959), количество бактерий, требующих аминокислоты, увеличивается в ризосфере через 3 дня после прорастания семян с 16 до 43%. Аналогичные данные получены на хлопчатнике.

Наличие в составе корневых выделений аминокислот было обнаружено еще в 1933 г. Виртаненом (A. Virtanen) и др. Он установил, что горох, выращенный совместно со злаковыми, выделил за 2 месяца 126,4 *мг* азотистых соединений, из которых около 77% составляли аминокислоты. Данные о присутствии в корневых выделениях аминокислот имеются также в работах Д. А. Сабинина (1940) и др.

Применение в последние годы хроматографического метода исследования позволило более детально изучить аминокислотный состав корневых выделений. Из перерезанных корней кукурузы выделялись следующие аминокислоты: аспарагиновая, глютаминовая, аланин, аспарагин, серин, валин, лейцин и глютамин (O. Kandler, 1951). После выращивания томатов, сои, ячменя и овса в песке с минеральным раствором и последующего подсушивания песка в нем были обнаружены глютаминовая и аспарагиновая аминокислоты, лейцин, аланин, цистин, лизин, фенилаланин и пролин, а также глюкоза (H. Katznelson, J. Rouatt, T. Rayane, 1954). При выращивании проростков овса в стерильном песке, пропитанном минеральными солями, были обнаружены цистин, глицин, аланин и аспарагиновая кислота (D. Parkinson, 1955). Ровира (A. Rovira, 1956) нашел в выделениях овса 14 аминокислот: аспарагиновую, серин, глютамин, аланин, метионин, валин, лейцин, фенилаланин, лизин, триптофан, тирозин, треонин, глицин и одну неидентифицированную. В выделениях гороха присутствовало 22 аминокислоты. Буркхард (F. Burkhard, 1957) нашел в корневых выделениях подсолнечника следующие аминокислоты: аспарагиновую и глютаминовую, аспарагин, треонин, тирозин или глицин, глютамин, валин, лейцин, фенилаланин, серин. В вытяжках из корней им были обнаружены те же вещества.

Кроме аминокислот и некоторых сахаров, из корней выделяются минеральные вещества, органические кислоты и другие соединения.

О составе корневых выделений имеется много литературных данных. Обзоры литературы по выделению корнями минеральных веществ составлены А. И. Ахромейко (1936), по выделению корнями органических соединений — Боннером (J. Bonner, 1950), Ровира (A. Rovira, 1956), Буркхардом (F. Burkhard, 1957). Обстоятельные обзоры литературы по этому вопросу имеются в книгах Н. А. Красильникова (1958) и А. М. Гродзинского (1965). Авторы приводят данные различных исследователей, показывающие, что в выделениях корней присутствуют минеральные вещества, органические соединения, ферменты, углекислота.

Благодаря использованию микроорганизмами в качестве источников питания большинства этих веществ сни-

жается их концентрация на поверхности корней, что изменяет условия корневого питания растений.

Прикорневая микрофлора как дополнительный источник витаминов для растений. Интенсивность поглощения питательных веществ корневой системой растений в большой степени зависит от активности протекающих в ней процессов синтеза органических соединений. Большое влияние на эти процессы могут оказывать некоторые продукты обмена микроорганизмов, в частности витамины, которые усваиваются растением. Действительно, Е. И. Ратнер и И. И. Колосов (1954), исследуя методом хроматографии пасоку кукурузы как в стерильных условиях, так и в присутствии микроорганизмов, установили, что в варианте с микроорганизмами заметно усилились некоторые звенья аминокислотного обмена в корнях растений. Особенно заметно увеличилось содержание аланина и глютаминовой кислоты.

При размножении на корнях пшеницы Ps. fluorescens melochlora синтезированный этим микроорганизмом пиридоксин стимулировал накопление аспарагина в корневой системе (Ю. В. Круглов, 1960).

Известно, что в ряде случаев растение, особенно в молодом возрасте, не в состоянии полностью обеспечить свою потребность в витаминах за счет собственного синтеза и потому положительно отзывается на снабжение ими извне (Е. И. Ратнер и И. Н. Доброхотова, 1956; К. Е. Овчаров, 1958 и др.).

Вместе с тем установлено, что витамины, синтезируемые ризосферными микроорганизмами, накапливаются в почве и могут служить дополнительным источником для растений. Методом радиоактивных изотопов было доказано, что тиамин, меченный S^{35}, выделяется из микробных клеток в субстрат, а оттуда поступает в растения (Г. М. Шавловский, 1954; Н. М. Дацюк, 1965). При обогащении почвы азотобактером, способным синтезировать витамины, было обнаружено, что количество витаминов в почве возрастало в 5 раз, оно также увеличивалось в проростках овса, выращенного на этой почве (А. Г. Гебгардт, И. С. Ковальчук, 1958). Кроме этого, имеются наблюдения, которые показывают, что растворы витаминов, внесенные в почву, ассимилируются корневой системой хлопчатника. На этом основании высказано предположение, что микрофлора, обогащающая почву

витаминами, может оказывать существенное влияние на рост растений (Л. А. Полянская, А. К. Носов, К. Е. Овчаров, 1963).

Таким образом, в настоящее время подтверждено, что наличие витаминов в почве положительно влияет на рост и развитие растений и, кроме того, микроорганизмы являются одним из основных источников этих веществ в прикорневой зоне. Установлено также, что количество микробов — продуцентов витаминов — в ризосфере растений значительно больше, чем в почве, удаленной от корней (F. Cook, A. Lochhead, 1959 и др.). Кроме того, на их размножение влияют вносимые удобрения. Органические удобрения — навоз, компосты — не только сами содержат биологически активные вещества, но и активизируют жизнедеятельность почвенной и ризосферной микрофлоры, которая в свою очередь становится источником накопления витаминов в почве и в ризосфере растений.

Влияние удобрений на размножение микробов — продуцентов витаминов — в зоне корней пшеницы изучалось в специально поставленном для этой цели вегетационном опыте (Ю. М. Возняковская, Н. П. Аврова, 1967). Яровую пшеницу сорта Диамант высеяли 31 мая в вегетационные сосуды емкостью 8 *кг*. Почву брали легкосуглинистую, дерново-подзолистую, средне окультуренную, с pH солевой вытяжки 5,4. Удобрения вносили в каждый сосуд по весу и тщательно перемешивали с почвой. В опыт включили следующие варианты: почва без удобрений (контроль); минеральные удобрения NPK; органическое удобрение (навоз); смесь навоза с минеральными удобрениями.

Для микробиологического анализа брали прикорневую почву, почву из сосуда в фазы кущения и цветения растений; затем делали высев на относительно полноценную по витаминному и аминокислотному составу среду. Для выявления микроорганизмов, синтезирующих тот или иной витамин, проводили исследования методом отпечатков (по J. Lederberg u. E. Lederberg, 1952). Отпечатки делали с полноценной питательной среды на так называемые минимальные среды, которые готовили из полноценной среды путем исключения из нее одного из витаминов или всего их комплекса. На этих средах могли появиться только те отпечатки колоний, которые со-

стояли из микроорганизмов, способных синтезировать витамин, отсутствующий в данной среде. Для уточнения производили дополнительно пересев колоний, выросших на минимальных средах, на такие же среды и учитывали те, которые давали рост при пассажах.

Общее количество микроорганизмов в ризосферной почве, обнаруживаемое на полноценной питательной среде, в вариантах с внесением удобрений было значительно больше, чем в контроле. Особенно заметное увеличение их численности наблюдалось в ризосфере молодых растений по фону органических удобрений, где оно возросло в 5—6 раз по сравнению с вариантом без внесения удобрений.

Абсолютное число бактерий, синтезирующих витамины группы В, в условиях данного опыта возросло в ризосфере молодых растений приблизительно в 1,5—2,0 раза по фону NPK и в 4—5 раз по фонам навоза и смеси удобрений по сравнению с контролем (табл. 8). У взрослых растений эта закономерность также сохранилась, хотя общее количество микроорганизмов было меньше, чем у молодых растений. Последнее, по-видимому, определялось более активным выделением фитонцидов крупными растениями.

Удобрения стимулировали размножение микроорганизмов — продуцентов витаминов — и в почве, вне ризосферы, как в фазу кущения, так и в фазу цветения растений. Однако абсолютное число микроорганизмов было значительно ниже, чем в ризосферной почве.

Основные результаты, полученные в условиях вегетационного опыта, подтвердились при исследовании микрофлоры прикорневой почвы пшеницы и почвы междурядий на Мироновской селекционно-опытной станции (рис. 8, табл. 9). Опыт заложен в 1929 г. Пшеницу сорта Мироновская 808 размещали в трех полях 10-польного севооборота с многолетними травами. Исследовали следующие фоны удобрений: без удобрений (контроль); с внесением навоза (20 *т* на 1 *га*) при перепашке занятых паров под озимую пшеницу; с внесением минеральных удобрений ($N_{30}P_{40}K_{40}$) ежегодно под все культуры с изменением нормы в зависимости от высеваемой культуры. Содержание гумуса в пахотном горизонте составляло 3,85—4,0%. Урожай, по данным С. В. Сухобруса и А. Я. Степаненко, в 1966 г. (год, предшествовавший про-

ведению анализов) был: в контроле — 25,1 *ц* с 1 *га*, в варианте с навозным удобрением — 33,5, в варианте с минеральным удобрением — 31,8 *ц* с 1 *га*.

Можно предполагать, что усиленное накопление вблизи корней удобренных растений витаминов — продуктов биосинтеза микроорганизмов — приводит к тому, что в этих условиях питание растений становится не только обильнее, но и полноценнее. Это особенно важно при использовании минеральных удобрений, которые не содержат в своем составе физиологически активных веществ.

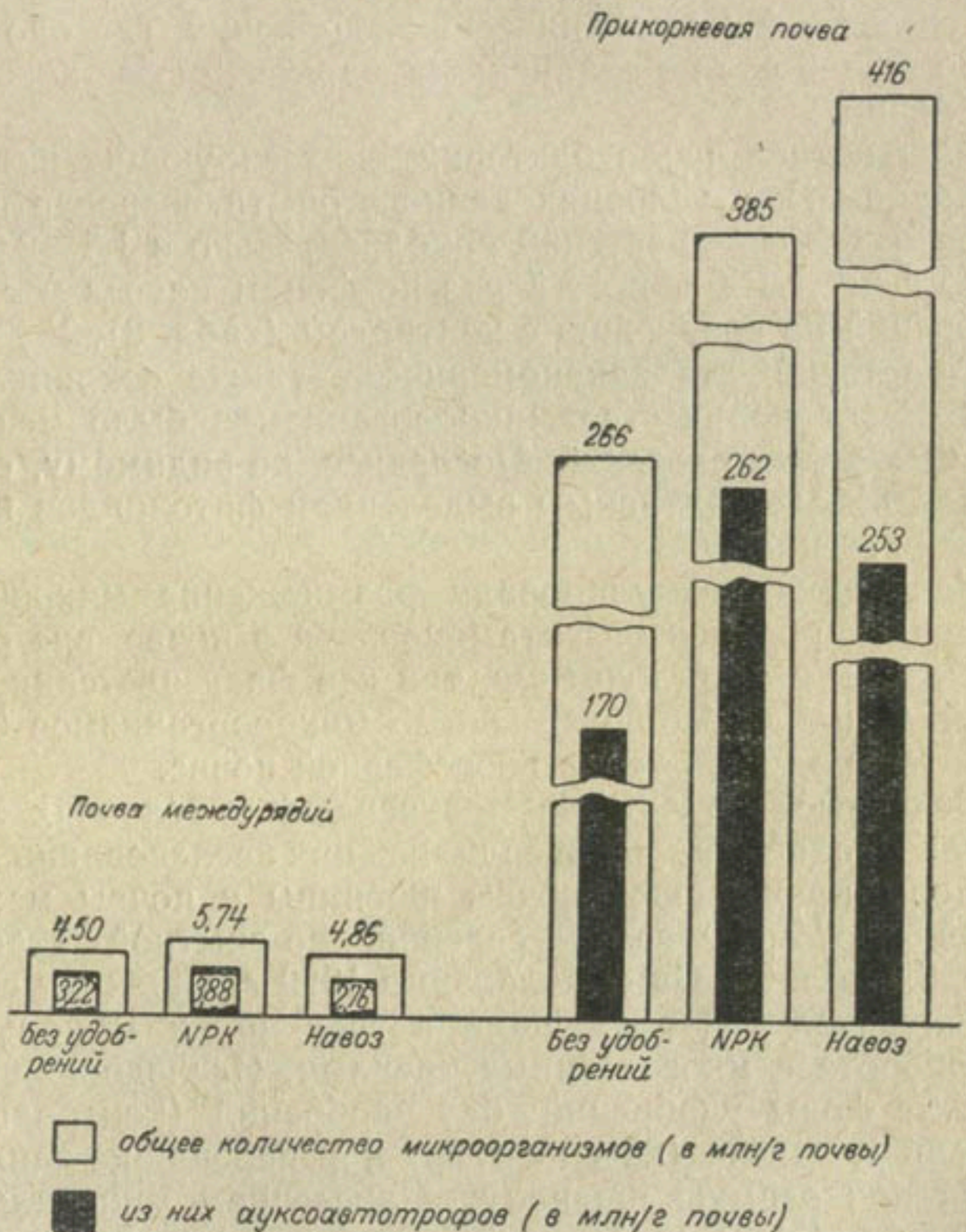


Рис. 8. Влияние удобрений на размножение микробов — продуцентов витаминов в почве на посевах пшеницы, размещенной в севообороте (Мироновская селекционно-опытная станция).

Таблица 8

Влияние удобрений на количество микроорганизмов — продуцентов витаминов — в ризосфере пшеницы и почве в фазу кущения
(вегетационный опыт)

Вариант опыта	Количество микроорганизмов – продуцентов витаминов — на питательной среде											
	полноценной		безвитаминной		без B_1		без B_3		без PP		без B_6	
	млн.	%	млн.	%	млн.	%	млн.	%	млн.	%	млн.	%
Почва из ризосферы												
Без удобрений (контроль)	190	100	82	100	123	100	128	100	103	100	103	100
NPK	287	151	147	180	180	147	207	162	207	201	173	161
Навоз	1236	651	393	480	522	525	510	399	430	418	480	445
NPK+навоз	1071	564	375	458	465	378	530	414	471	458	484	448
Почва из сосуда												
Без удобрений (контроль)	3,27	100	0,60	100	1,00	100	0,91	100	0,96	100	1,06	100
NPK	5,70	170	0,90	150	2,10	210	1,82	200	1,82	190	1,88	180
Навоз	3,83	117	1,01	170	2,11	211	1,98	218	1,76	184	1,83	173
NPK+навоз	3,88	119	0,68	114	1,18	118	1,12	123	0,91	95	1,03	98

Таблица 9

Количество микроорганизмов — продуцентов витаминов — в прикорневой почве пшеницы в условиях полевого опыта с многолетним применением удобрений (Мироновская селекционно-опытная станция)

Вариант опыта	Количество микроорганизмов — продуцентов витаминов — на питательной среде											
	полноценной		безвитаминной		без B_1		без B_3		без РР		без B_6	
	млн.	%	млн.	%	млн.	%	млн.	%	млн.	%	млн.	%
Без удобрений (контроль)	266	100	170	100	191	100	187	100	191	100	187	100
$N_{30}P_{40}K_{40}$	385	145	262	154	314	164	280	150	280	146	292	156
Навоз (20 *т*)	416	156	253	149	327	171	286	153	306	160	327	175

Участие микроорганизмов в передвижении веществ к корню. Существует мнение, что к корням как месту наибольшего потребления веществ питательные вещества могут передвигаться из внеризосферной почвы по гифам грибов и по цепочкам бактериальных клеток. По подсчетам Я. П. Худякова (1953), объем ризосферной почвы пшеницы при урожае 30 *ц* с 1 *га* составляет всего 6,35% от общего объема почвы пахотного слоя. Питательные вещества в почве находятся в рассеянном состоянии и чаще всего адсорбированы на твердых почвенных частицах, благодаря чему они не диффундируют свободно с током воды. Поэтому, если бы не было посредников между почвой и растением в виде почвенных микроорганизмов, то, несмотря на огромную общую длину корневой системы, бóльшая часть веществ, находящихся за пределами ризосферы, не поступала бы в растение. Возможность передачи веществ на расстояние была доказана Я. П. Худяковым в следующем лабораторном опыте. Бактерии или грибы высевали в длинные трубки на голодную питательную среду. Питательные вещества вносили с одного конца трубки. Нормальный рост микроорганизмов получали по всей длине трубки. Это с очевидностью доказывало, что все необходимые для роста

бактерий вещества передавались по гифам или по цепочкам клеток. Такая передача возможна только в том случае, если цепочки были непрерывны и состояли из живых клеток.

Значение микрофлоры почвы в передвижении фосфора бактериями к растению при его очаговом внесении было установлено с помощью радиоавтографов. Оказалось, что зона распространения P^{32} от очага его внесения в нестерильной почве была значительно больше по сравнению со стерильной (В. В. Котелев, 1955). Аналогичные результаты были получены в опытах Люкаса (R. Lucas, 1960) с грибами Phycomyces nitens, Absidia glauca и Cheatomium. В чашки Петри наливали агаризованную синтетическую питательную среду и после застывания разделяли по диаметру канавкой шириной 0,5 *см* на 2 части. На одной половине в сделанный пробочным сверлом колодец закапывали раствор KH_2PO_4, содержащий радиоактивный изотоп фосфора, и засевали гриб. Затем следили за распространением P^{32} по гифам гриба. Оказалось, что P^{32} обнаруживается в гифах, разросшихся через канавку на вторую половину чашки. Можно предполагать, что механизм этой передачи такой же, как и при передвижении веществ в самом растении. Как установлено работами А. Л. Курсанова и других, вещества передвигаются по плазме клеток и по скорости намного превышают диффузию, достигая 2—4 *м* в час. Явление передачи веществ на расстояние, несомненно, играет важную роль в обеспечении непрерывного поступления их из почвы, находящейся вне ризосферы, для удовлетворения потребностей нормально развивающегося растения.

Превращение нерастворимых питательных веществ почвы и удобрений в доступное для растений состояние. Скопление микроорганизмов на корнях и в ризосфере не приводит к обеднению прикорневого слоя почвы питательными веществами. Наоборот, несмотря на потребление их и микроорганизмами и растениями здесь обычно содержится больше элементов минерального питания, чем за пределами ризосферы (Е. Ф. Березова с сотр., 1958; Е. А. Белов, 1959; табл. 10).

Этот факт отчасти может быть объяснен приведенными выше наблюдениями о способности микроорганизмов передавать вещества на расстояние в направлении

Таблица 10

Накопление растворимых питательных веществ (в *мг* на 1 *кг* почвы) в междурядьях и в зоне корневой системы огурцов
(по Е. А. Белову)

Почва	NO_3	P_2O_5
Междурядий	11,9	3,2
Ризосферы	15,4	3,1
Прикорневого слоя	42,4	9,6

их наибольшего потребления, однако основное объяснение этот факт находит в том, что в зоне корней интенсивно протекают процессы минерализации веществ.

Так, в результате жизнедеятельности аммонифицирующих микроорганизмов может улучшаться снабжение растений азотом за счет разложения органических азотистых соединений почвы и удобрений, таких, как растительные остатки, гумус, клетки отмирающих микроорганизмов и почвенной фауны и др.

Аммонифицирующей способностью обладают те микроорганизмы, которые образуют соответствующий комплекс протеолитических ферментов и в первую очередь эктопротеаз. К активным аммонификаторам, обитающим в почве и разлагающим в ней белковые вещества, относится ряд споровых бактерий (Bac. mycoides, Bac. megaterium, Bac. subtilis, Bac. putrefaciens, Bac. mesentericus), некоторые неспоровые бактерии, грибы и актиномицеты. Бóльшая часть корневых неспоровых микроорганизмов также обладает аммонифицирующей способностью. Лабораторными исследованиями установлено, что почти все из них способны использовать пептон в качестве источника азотного и углеродного питания и накапливать в среде аммиак. Кроме того, многие разлагают белок молока — казеин — или разжижают желатину.

Широкое распространение неспоровых бактерий в зоне корневой системы и их способность использовать разнообразные азотистые соединения позволяют признать их большое значение в превращении азотистых веществ в ризосфере растений, в том числе минерализации органических соединений, биологическом закреплении мине-

ральных соединений азота и т. п. В. В. Михалевой и Н. Б. Лупановой (1964) было показано, что способностью к аммонификации обладают многие представители обширной группы денитрифицирующих бактерий, которые распространены главным образом у корневых систем. Некоторые виды, имеющие соответствующие ферменты, могут вызывать сопряженное течение процессов аммонификации и денитрификации в почвах, содержащих нитраты и богатых органическим веществом. Такие свойства были обнаружены у видов Ps. aurantiaca, Ps. fluorescens, Ps. denitrificans, Ps. radiobacter, Ps. desmolyticum, Bact. agile, Chr. denitrificans, встречающихся в больших количествах на корнях и в ризосфере растений.

Вышесказанное подтверждается и опытом, проведенным Ю. В. Кругловым (1958) с кукурузой. При выращивании этого растения на среде Прянишникова, к которой в качестве единственного источника азота был добавлен пептон, кукуруза не могла развиваться. Когда в эту среду добавили один из широко распространенных на корнях видов денитрифицирующих бактерий Ps. fluorescens, то условия азотного питания кукурузы улучшились. Воздушно-сухой вес растения в варианте без бактерий был 0,45 *г*, а в присутствии бактерий — 1,33 *г*.

Наряду с азотом фосфор является одним из важнейших элементов, необходимых для питания растений. Он входит в состав белков нуклеопротеидов клеточных ядер, в состав фитина и лецитина. Фосфорной кислоте принадлежит особо важная роль, так как она участвует в реакциях фосфорилирования, которые заключаются в том, что фосфорная кислота присоединяется к углеводам и промежуточным веществам, образующимся в процессе фотосинтеза, в результате образуются вещества, очень богатые энергией. Распад этих веществ, сопровождающийся выделением энергии, обеспечивает протекание ряда окислительных и синтетических процессов в растениях.

Бóльшая часть фосфора находится в почве в не усвояемых высшими растениями соединениях: это органические соединения фосфора, количество которых доходит до 50% и более от общего его запаса в некоторых почвах, и различные плохо растворимые неорганические соединения, которые в кислых почвах представлены

фосфатами алюминия и железа, а в остальных почвах — фосфатами кальция. Фосфор ряда органических и минеральных удобрений (фосфорит, апатит) также недоступен растениям. Некоторая часть содержащихся в этих удобрениях трехкальциевых фосфатов может переходить в растворимое состояние под влиянием кислой реакции почвенного раствора или корневых выделений, однако основная их масса вовлекается в круговорот веществ только в результате деятельности почвенных, ризосферных, прикорневых и корневых микроорганизмов.

До недавнего времени считалось, что энергичная минерализация органофосфатов и растворение трехкальциевого фосфата свойственны немногим видам микроорганизмов. Однако последующие работы показали, что эта способность микроорганизмов распространена довольно широко. Например, наряду с выделенными Р. А. Менкиной в 1935 г. (1950) споровыми бактериями (разновидность Bac. megaterium), которые энергично освобождали P_2O_5 из нуклеиновых кислот и лецитина, было выявлено несколько активных культур других видов, в частности Ps. radiobacter (К. П. Тулайкова, 1958), Ps. fluorescens, Ps. liquefaciens, Ps. desmolyticum, Ps. herbicola (А. Н. Наумова, 1961), Bac. mucilaginosus (К. И. Сурман, 1960) и другие виды, выделенные Р. И. Пиковской (1948), Б. Д. Тулабаевым (1961).

То же самое можно сказать и относительно бактерий, растворяющих фосфаты кальция. После того как в начале столетия Стоклазой (J. Stoklasa, 1900) были обнаружены бактерии, способные переводить в раствор нерастворимые соединения фосфора с кальцием, было установлено, что эта способность свойственна многим почвенным бактериям (F. Gerretsen, 1948; Р. И. Пиковская, 1948; Г. С. Муромцев, 1955).

Оказалось, что растения, слабо использовавшие трехкальциевый фосфат в стерильных условиях, активно его потребляют в присутствии корневой микрофлоры. Потребление фосфора овсом и подсолнечником в последнем случае увеличивалось в 2 раза (F. Gerretsen, 1948). Ячмень, росший в нестерильных условиях, усваивал фосфора (P^{32}) из органического соединения лецитина (меченного по фосфору) в 3 раза больше, чем в стерильных, а в том случае, когда корневую систему ячменя искусственно обогащали бактериями — минерализаторами ор-

ганофосфатов, усвоение фосфора растениями повышалось в 8 раз (В. В. Котелев, В. И. Сабельникова, 1955).

Было установлено, что бактерии, растворяющие фосфаты кальция и минерализующие органофосфаты, в больших количествах встречаются в ризосфере и на корнях растений: в 1 *г* ризосферной почвы обнаруживаются десятки тысяч таких бактерий, составляющих 2—3% от общего количества микроорганизмов. На корнях их значительно больше — десятки миллионов: от 60 (на корнях горчицы) до 90% (на корнях эспарцета) от общего числа микроорганизмов (В. П. Подъяпольская, 1959).

Сравнение распространенности бактерий, растворяющих трехкальциевый фосфат, на корнях, в ризосфере и в почве, удаленной от корней, показало, что на 1 *г* сухих корней их приходится 640 млн., на 1 *г* ризосферной почвы — 187, а на 1 *г* почвы, удаленной от корней, — 33,7 млн., т. е. их соотношение составляет 16 : 6 : 1 (H. Katznelson, B. Bose, 1959). Количество микроорганизмов, способных минерализовать органофосфаты, составляло на корнях пшеницы, росшей на дерново-подзолистой почве, 14% от общего их количества. Среди них были такие виды, как Ps. radiobacter, Ps. desmolyticum, Ps. fluorescens, Myc. globiforme, Bact. nitrificans и некоторые другие (Я. П. Худяков, Ю. М. Возняковская, 1956). Количество бактерий, растворяющих фосфаты кальция на корнях кукурузы, росшей в полевых условиях, составило 450 тыс. на 1 *г* корней. Их видовой состав представлен в табл. 11. При более широком обследовании список видов был дополнен Bact. agile, Bact. liquefaciens, Bact. nitrificans, Myc. globiforme, Myc. lacticolum, Chr. plymouthensis. Эти данные показывают, что способность растворять трехкальциевый фосфат присуща многим обычным корневым микроорганизмам.

Искусственное обогащение корневой зоны растений «фосфорными» бактериями может оказаться в некоторых условиях полезным для улучшения фосфорного питания растений.

Так, при нанесении на семена перед посевом Ps. fluorescens и некоторых хромобактерий А. Н. Наумова (1961) получила повышение урожая ячменя и пшеницы на 17 и 22%.

При бактеризации семян культурами корневых бактерий № 143 и № 373 урожай овса на фоне фосфоритной

муки (8 *ц* на 1 *га*) повысился в полевом опыте на 4,0—5,3 *ц* с 1 *га* по сравнению с контролем, где он составил 34 *ц* с 1 *га* (Я. П. Худяков, Г. С. Муромцев, 1958).

Таблица 11

Количество и состав бактерий, растворяющих трехкальциевый фосфат, из 140 колоний, обнаруженных на 1 *г* корней кукурузы
(по числу колоний в разведении 1 : 10 тыс.)

Микроорганизмы, растворяющие фосфат	Всего	В процентах к общему числу колоний
Myc. album	8	5,71
Chr. rheni	5	3,57
Sarc. flava	7	5,00
Bact. album	20	14,28
Ps. radiobacter	5	3,57
Итого . . .	45	32,13

Для практического использования фосфорных бактерий некоторые заводы биопрепаратов выпускают сухой препарат, содержащий споры Bac. megaterium (разновидность phosphaticum), так называемый фосфоробактерин. При внесении его в почву вместе с семенами споры бактерий прорастают и прикорневой слой почвы молодых растений обогащается полезными бактериями и продуктами их жизнедеятельности.

Эффективность этого препарата широко испытывалась на опытных станциях и показала, что в определенных условиях, на почвах, богатых органикой, или при внесении органических удобрений и при нормальной влажности почвы усиливается мобилизация фосфатов из недоступного для растений состояния и урожай повышается (табл. 12).

Распространение бесспоровых микроорганизмов, обладающих способностью разлагать органические и неорганические вещества и обитающих на поверхности корневой системы, а также в непосредственной близости от нее, дает основание думать, что эти бактерии играют важную роль в снабжении растений доступными для них питательными веществами. В результате жизнедеятельности этих микроорганизмов нерастворимые органиче-

Таблица 12

Эффективность применения фосфоробактерина под кукурузу
(по данным Сумской областной государственной сельскохозяйственной опытной станции)

Год проведения опыта	Урожай зерна (*ц* с 1 *га*)		Прибавка урожая		Достоверность	
	контроль (без внесения фосфоробактерина)	фосфоробактерин	*ц* с 1 *га*	%	*P* (%)	*E* (*ц* с 1 *га*)
1961	50,2	56,7	6,5	13	2,5	1,3
1962	43,0	49,3	6,3	15	2,9	0,9
1963	45,1	49,9	4,8	10	1,7	0,8
1964	52,3	57,9	5,6	10	1,4	0,75
Среднее	44,8	50,0	5,2	11	—	—

Примечание. Опыт точен, если $P<5\%$; прибавка достоверна при трех E, меньших разницы между вариантами.

ские и неорганические соединения, имеющиеся в почве или вносимые в нее в виде удобрений, минерализуются, т. е. превращаются в пищу для растений.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ НА ВЗАИМООТНОШЕНИЯ РАСТЕНИЙ С КОРНЕВОЙ МИКРОФЛОРОЙ

Выше приводились данные, подтверждающие, что между растениями и корневыми и прикорневыми микроорганизмами в определенных, благоприятных условиях наблюдаются взаимоотношения раздельного симбиотрофизма, т. е. они обоюдополезны и растениям и микроорганизмам. Однако такие отношения непостоянны, они изменяются в зависимости от условий выращивания растений. Это объясняется тем, что в основе существования каждого вида (в данном случае растений и микроорганизмов) и его взаимоотношений с другими видами, родами, семействами лежит борьба за существование. В связи с этим в неблагоприятных для растений условиях, например при недостатке питательных веществ, ослаблении процесса фотосинтеза, засухе и т. д., взаимо-

отношения между организмами могут нарушаться и в некоторых случаях принимать односторонний, патологический характер.

Большая роль микроорганизмов в жизни растений вызвала необходимость изучить условия, которые влияют на их взаимосвязи. Цель этих исследований заключалась в том, чтобы выявить условия максимального проявления полезной деятельности микрофлоры.

Влияние удобрений на микрофлору почвы. Ранее отмечалось, что корневые и прикорневые микроорганизмы находятся под воздействием не только растений, но и почвенной среды. Изменение условий в почве внесением удобрений — наиболее доступный и действенный прием влияния на микрофлору. При этом удобрения являются не только источником питательных веществ для растений, но и средством изменения физических свойств почвы, ее кислотности и, кроме того, служат источником пищи и для микроорганизмов.

Имеются многочисленные данные, подтверждающие, что под влиянием различных воздействий на почву (известкование, внесение органических и минеральных удобрений, механические воздействия при обработке и др.) происходят изменения в составе и количестве микроорганизмов в почве и в ризосфере растений.

Так, при известковании почв обычно уменьшается количество плесневых грибов, увеличивается количество целлюлозоразлагающих бактерий, усиливается процесс нитрификации (В. Упитис, 1957 и др.). Длительное применение минеральных удобрений на некоторых почвах действует на микрофлору угнетающе (Е. Н. Мишустин и В. Н. Прокошев, 1949). На почвах, богатых органическим веществом, применение минеральных удобрений интенсифицирует микробиологические процессы. Минеральные и органические удобрения неодинаково влияют на развитие разных групп микроорганизмов; кроме того, оказывает влияние и тип почвы, в которую вносят удобрения (J. Dommergnes, 1954). Навоз особенно стимулирует размножение аммонифицирующих бактерий, грибов, микобактерий, термофильных и маслянокислых бактерий (табл. 13). Вокруг гранул суперфосфата стимулируется размножение азотфиксирующих бактерий.

В опытах Е. И. Ратнер и другие (1953) сочетали бактеризацию семян люцерны и житняка клубеньковыми

Таблица 13

Влияние удобрений на размножение разных групп микроорганизмов в прикорневой почве яблони в период плодоношения
(в тыс. на 1 *г* почвы)

Вариант опыта	Аммонификаторы	Грибы	Маслянокислые бактерии	Целлюлозоразлагающие бактерии	Денитрификаторы	Азотобактер	Нитрификационная способность почвы (*мг* NO_3 на 100 *г*)
Без удобрений (контроль)	2 500	43	12	0,1	10	2	62
NPK+Ca	6 000	51	25	0,6	100	3	244
Навоз+NPK+Ca . .	60 000	61	250	0,6	250	8	397

бактериями и азотобактером с внесением гранулированного, нейтрализованного суперфосфата и с добавлением к гранулам микроэлементов — молибдена и бора. Урожай трав при этом в условиях Каменной Степи (Научно-исследовательский институт сельского хозяйства центральной черноземной полосы им. В. В. Докучаева) составил (в *ц* с 1 *га*): без удобрений — 68,1, при внесении гранулированного суперфосфата — 80,7, при бактеризации семян — 76,5, при комплексном применении бактериальных и гранулированных удобрений — 90,0.

Таким образом, для того чтобы обеспечить проявление многочисленных полезных функций микроорганизмов, необходимо влиять на условия среды, в которой складываются взаимоотношения растений с микроорганизмами. Эти условия должны быть благоприятны как для растений, так и для микроорганизмов. В первую очередь — это оптимальное соотношение питательных веществ, аэрация, влага, pH.

Условия, вызывающие отрицательное влияние микрофлоры на растения. Отрицательное влияние корневой, прикорневой и ризосферной микрофлоры на растения может сказаться в следующем: 1) конкуренция за питательные вещества; 2) биологическое закрепление питательных веществ, т. е. временное включение их в состав бактериальных клеток; 3) восстановление нитрат-

ного азота, приводящее к его потере, в процессе денитрификации; 4) накопление токсических продуктов обмена в зоне корневых систем и размножение фитопатогенных бактерий и грибов.

Конкуренция микроорганизмов с растениями за питательные вещества. Ризосферным микроорганизмам, так же как и растениям, необходимы элементы минерального питания, источники энергии, влага, определенная температура и проч. Существенным различием в их потребностях является то, что растения получают энергию за счет солнечного света в процессе фотосинтеза, а бактерии черпают ее из разных форм органического вещества, синтезированного растениями. Используя в качестве источника энергии органическое вещество в виде корневых выделений и растительных остатков, запаханных в почву перед посевом или накапливающихся в виде отмирающих корешков вегетирующего растения, микроорганизмы начинают усиленно размножаться и потреблять азот, фосфор и другие элементы минерального питания.

Если минеральные соли в почве имеются в небольшом количестве, то может возникнуть конкуренция между растениями и микроорганизмами за необходимые тем и другим элементы питания. Особенно резко это проявляется при попадании в почву органического вещества, богатого клетчаткой, например соломы. Разложение клетчатки микроорганизмами — это один из важнейших процессов, протекающих в почве. Этот процесс всегда сопровождается потреблением азота целлюлозоразлагающими бактериями или грибами. В среднем на 30 *г* разложенной клетчатки они усваивают 1 *г* растворимого азота. Этот азот микроорганизмы используют как из запасов, имеющихся в почве, так и из вносимых удобрений.

При избыточном количестве в почве элементов минерального питания многие микроорганизмы могут добывать себе энергию, разрушая перегной самой почвы. В результате начинает разрушаться даже прочная структура и снижается плодородие почвы. Установлено, что в разложении перегнойных веществ, в частности гуматов кальция, участвуют микроорганизмы, широко распространенные в ризосфере и на корнях растений: бактерии — Bact. album, Bact. agile, Bact. candicans, Bact. nitrificans, микобактерии — Myc. globiforme, Myc. fimi,

Myc. tumescens, хромобактерии — Chr. aurantiacum, псевдобактерии — Psdb. cocciformis и Psdb. tenellum (Н. А. Мовчан, 1956).

Имеются наблюдения, что в некоторых случаях при ухудшении условий жизни растений корневые бактерии могут переходить к паразитическому существованию, при этом обычные сапрофитные микроорганизмы начинают разлагать ткани корневой системы. Особенно большое значение в нарушении нормальных взаимоотношений между растениями и микроорганизмами имеют резкие изменения количественных соотношений питательных веществ в почве, необходимых и для растений и для корневой микрофлоры, — в основном источников углеродистых и азотистых соединений. Так, С. А. Самцевич (1961) наблюдал у дубков, зимовавших в сосудах с почвой, в которую был добавлен азот в легкоусвояемой форме (в виде аммиачной селитры — 2 *г* на 1 *кг* почвы), обильное размножение на корнях бактерий, которые использовали соединения углерода корневой ткани. В результате этого все мелкие корешки мацерировались и сгнили. Аналогичное явление зафиксировано в питомнике дендропарка в Кировоградской области. Во время холодной и затяжной весны на участке, где почва хорошо обрабатывалась и в ней содержалось значительное количество азотнокислых солей, у 1—2-летних сеянцев древесных пород корни подгнили и бóльшая часть сеянцев погибла. На непаханом участке гибели сеянцев не наблюдалось.

Этим же автором был проведен опыт с кукурузой. В почву добавляли различное количество С (сахароза) и N (азот), создавая разные соотношения С и N. Оказалось, что чем больше это соотношение отклонялось от нормы, тем сильнее подавлялся рост корней. Так, при внесении одной нормы азота (по смеси Прянишникова) вес корней составлял 0,88 *г*, а количество микроорганизмов — 1 025 тыс. на 1 *г* корней; при добавлении к этой норме азота 1% сахарозы вес корней уменьшился до 0,15 *г*, а количество микроорганизмов увеличилось до 3 090 тыс. на 1 *г*.

Снижение фотосинтеза при недостаточной освещенности может привести к ослаблению растений, а при их выращивании еще на почве, бедной органическим веществом, — к паразитизму микроорганизмов на их корнях. Это говорит о том, что если микроорганизмам недостает

питания, то они становятся паразитами ослабленного растения. Учитывая наблюдавшееся в практике земледелия «перехватывание» микрофлорой при определенных условиях запасов минерального азота в почве, В. Р. Вильямс (1947) рекомендовал вносить минеральные удобрения одновременно с навозом. Он считал, что в этом случае создадутся благоприятные условия для питания растений, так как органическое вещество удобрений используется микроорганизмами как источник энергии и пищи, бóльшая же часть вносимых минеральных удобрений останется в распоряжении растений.

Действительно, установлено, что совместное применение органических и минеральных удобрений значительно повышает эффективность последних. Следует, однако, отметить, что положительное влияние органических удобрений сказывается также и в том, что они являются источником дополнительных факторов роста для растений — микроэлементов, витаминов, ауксинов и др. Кроме того, при внесении органических удобрений улучшаются физические свойства почвы, регулируется ее pH.

Микроорганизмы могут быть конкурентами растений не только за азот, но также и за фосфор, если этого элемента в почве недостаточно. Это было доказано А. А. Образцовой (1949) следующим образом. Выращивали овес в вегетационных сосудах на подзолистой почве по низкому и высокому фосфорному фону (P_2O_5 — 0,43 и 0,7 *г* на 1 *кг* почвы). В сосуды вносили азотобактер — микроорганизм, который не является конкурентом растения за азотную пищу, так как использует молекулярный азот воздуха. Азотобактер добавляли в сосуды в разных количествах. В результате установили, что с увеличением количества азотобактера на фоне низкой дозы фосфора количество P_2O_5 в почве сосудов уменьшалось и урожай снижался. На богатом фосфорном фоне растения не страдали от недостатка фосфора, и в присутствии азотобактера урожай увеличивался, что происходило за счет улучшения азотного и витаминного питания растений в присутствии этого микроорганизма (табл. 14).

Биологическое закрепление питательных веществ микроорганизмами. При поглощении бактериями питательных элементов из почвы последние расходуются на синтез составных частей клетки. Такие элементы закрепляются в виде нерастворимых в воде органических со-

Таблица 14

Урожай овса в зависимости от количества внесенного в сосуды азотобактера и содержащегося в почве фосфора
(по А. А. Образцовой)

Количество клеток азотобактера, внесенных в почву	Урожай овса на фоне P_2O_5				P_2O_5 в почве сосуда в конце опыта (*мг* на 100 *г* почвы)
	0,43 *г* на 1 *кг* почвы		0,70 *г* на 1 *кг* почвы		
	г	%	*г*	%	
0	13,8	100	11,45	100	13,5
20 млн.	14,3	102	12,71	111	10,5
200 млн.	12,7	91	12,96	113	—
2 млрд.	11,6	83	14,39	125,6	9,0

единений живой плазмы и таким образом не вымываются из почвы. В то же время, находясь в поглощенном состоянии, они становятся недоступными для растений ввиду их нерастворимости. Однако это состояние питательных веществ является временным, так как часть микроорганизмов в почве все время отмирает, отмершие клетки подвергаются минерализации, а заключающиеся в них элементы питания вновь освобождаются во внешнюю среду.

Наличие такого круговорота, т. е. поглощение веществ клетками с последующим их освобождением и поступлением в растения, было подтверждено при его изучении методом радиоактивных изотопов. Например, были получены клетки корневого микроорганизма Ps. aurantiaca, содержащего белки, меченные по сере (S^{35}); при нанесении на каждое семя гречихи по 700 млн. клеток было обнаружено в 4-дневных растениях 0,16% S^{35}, содержащейся ранее в бактериальных клетках; при нанесении более густой суспензии поступало до 1% S^{35} (Г. М. Шавловский, 1954).

Поступление P^{32} в растения кукурузы из клеток почвенных сапрофитов или из азотобактера было интенсивнее в том случае, если клетки предварительно были убиты (П. А. Власюк и В. Д. Манзон, 1955). По данным В. А. Шестаковой (1961), поглощенные почвенными дрожжами фосфор (P^{32}) и сера (S^{35}) уже через 10—15 дней становились доступными для растений (сеянцев дуба, клена и ясеня), выращиваемых в песке в вегетационных сосудах, и в значительных количествах усваи-

вались. Если же песок обогащали бактериями, то поступление фосфора и серы снижалось. Это свидетельствовало о том, что освобожденные из дрожжевых клеток элементы питания потреблялись не только растениями, но и почвенной микрофлорой.

Потери азота в процессе денитрификации. Денитрификация — это процесс восстановления нитратов до нитритов, аммиака или молекулярного азота, вызываемый жизнедеятельностью денитрифицирующих бактерий.

Эти микроорганизмы широко распространены в почве и в ризосфере растений и относятся к неспоровым бактериям, в основном к родам Pseudomonas и Bacterium.

При восстановлении нитратов до газообразного азота (истинная денитрификация) происходят потери азота из почвы и условия питания растений ухудшаются, в результате чего снижается урожай.

Давно замечено, что в почве происходят потери азота, однако более детально этот вопрос был изучен только в последнее время в опытах с применением азотных удобрений, меченных стабильным изотопом азота N^{15}. При наблюдении за превращениями вносимых в почву удобрений — сернокислого аммония или калийной селитры — было обнаружено, что азот удобрений используется растениями не полностью. В зависимости от особенностей почвы и от вида удобрения в растения поступает 45—70% внесенного азота, а остальной частично остается в почве — 20—40%, частично теряется в процессе денитрификации — 10—25%, а иногда и больше (В. Б. Замятина, Д. А. Кореньков и др., 1963; S. L. Jansson, 1963; Е. А. Андреева и Г. М. Щеглова, 1966).

Характерным для денитрифицирующих бактерий является то, что их способность восстанавливать нитраты проявляется не всегда. Это объясняется тем, что в разных условиях среды их ферментативная деятельность осуществляется по-разному. Так, в условиях нормальной аэрации эти микробы ведут себя как аммонификаторы, т. е. используют азот и углерод из сложных азотистых органических соединений, а энергию получают в процессе аэробного дыхания благодаря наличию системы дыхательных ферментов (Ю. В. Круглов, 1960; В. В. Михалева и Н. Б. Лупанова, 1964).

В условиях недостаточной аэрации денитрификаторы могут черпать необходимую им энергию, используя кис-

лород нитратов для окисления органического вещества, служащего донатором водорода. Для этого они имеют вторую систему ферментов, активирующих кислород нитратов. Поэтому количество восстановленных нитратов и количество окисленных органических соединений находится в определенном соотношении — на 100 *мг* окисленной глюкозы восстанавливается 300 *мг* KNO_3.

Из сказанного вытекает, что процессу денитрификации, а следовательно, и потерям азота способствуют плохая аэрация почвы, наличие большого количества нитратов и доступных для разложения органических веществ. В связи с этим внесение в почву различных удобрений неодинаково отражается на деятельности и количестве денитрифицирующих бактерий. Так, по данным О. Г. Елкиной (1950), добавление минерального азота в почву, обедненную растворимым органическим веществом, не увеличивает количество денитрификаторов, а добавление его по фону разлагающихся растительных остатков, особенно в начальной стадии их разложения, вызывает исключительно интенсивное нарастание денитрификаторов.

Особенно обильно денитрифицирующие бактерии размножаются в ризосфере и на корнях растений, где они используют для своего питания корневые выделения. При нормальных условиях агротехники они играют здесь положительную для растений роль, так как многие из них являются продуцентами ростовых веществ, а некоторые образуют противогрибковые антибиотики (В. В. Михалева, 1965). Кроме того, денитрификаторы одновременно входят в группировку аммонифицирующих бактерий и поэтому могут способствовать превращению нерастворимых азотистых веществ почвы в доступное для питания растений состояние.

Несомненная связь денитрифицирующих бактерий с живыми корнями была наглядно показана сравнением микрофлоры, развивающейся вблизи живых и мертвых корней (Ю. М. Возняковская, 1948). Корни для исследования брали на посевах озимой пшеницы сорта Степь, высеянной по стерне в условиях Омской области. Почва — типичный прииртышский чернозем. При таком способе посева (по невспаханному жнивью) наряду с корневой системой развивающейся пшеницы сохраняется и мертвая корневая система пшеницы предыдущего посе-

ва. Образцы корней анализировали 4 раза в течение вегетационного периода: в фазы кущения, выхода в трубку, колошения и созревания. Корни брали вместе со слоем плотно прилегающих к ним почвенных частиц, не отделяющихся при стряхивании. Таким образом, при смыве учитывалась смесь корневой и прикорневой микрофлоры. Пересчет производился на 1 *г* воздушно-сухой почвы. Пробы брали с двух полей в течение двух лет. Во всех случаях получались совпадающие результаты. Данные количественного учета микроорганизмов представлены в виде кривых, изображенных на рис. 9.

Полученные результаты подтвердили, что на поверхности живых, здоровых корней имеются благоприятные условия для размножения определенных видов микроорганизмов. Из всех учтенных физиологических групп наибольшее влияние корневые выделения оказали на аммонифицирующие, денитрифицирующие, радиобактер (многие штаммы которого тоже являются денитрификаторами) и маслянокислые бактерии. Присутствие мертвых корней не отразилось столь заметно на размножении вблизи них этих групп микроорганизмов. Здесь благоприятные условия сложились для таких групп организмов, как целлюлозоразлагающие бактерии и грибы, которые используют клетчатку мертвых тканей. На корнях вегетирующих растений количество микроорганизмов этих групп значительно увеличивалось к концу вегетационного периода, когда со старением корневой системы часть ее начинала отмирать.

Преимущественное развитие тех же групп микроорганизмов, т. е. аммонифицирующих, денитрифицирующих и маслянокислых, на отмытых от почвы корнях других видов растений подтвердилось во многих исследованиях. В качестве примера можно привести анализы корней кукурузы и овса, взятых в фазу выметывания метелки и колошения (табл. 15).

Групповой состав микрофлоры на корнях непостоянен, он зависит как от вносимых удобрений, так и от почвенно-климатических условий выращивания растений. Группа денитрифицирующих бактерий особенно активизируется при обильном снабжении растений нитратным азотом, затрудненной аэрации (например, при несвоевременном рыхлении почвы), переувлажнении почвы, глубокой заделке удобрений.

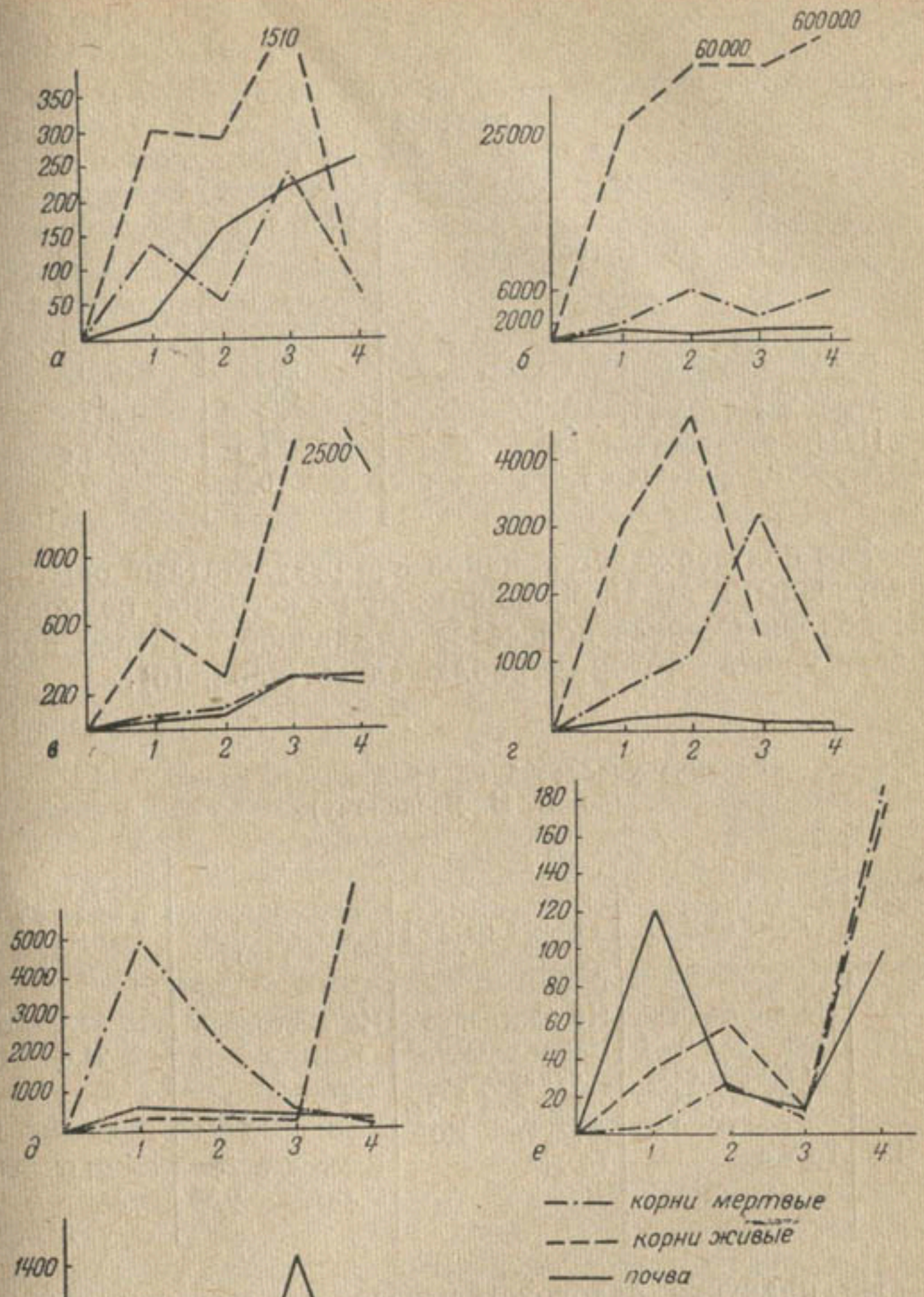


Рис. 9. Количество микроорганизмов в почве, на живых корнях и на мертвых корнях пшеницы.

а — аммонифицирующие, *б* — денитрифицирующие, *в* — маслянокислые, *г* — радиобактер, *д* — целлюлозоразлагающие, *е* — грибы, *ж* — актиномицеты; *1* — фаза кущения пшеницы, *2* — фаза выхода в трубку, *3* — фаза колошения, *4* — фаза созревания; на оси ординат количество микроорганизмов (в случае *а* — в млн., в случаях *б* — *ж* — в тыс.).

Таблица 15

Количество микроорганизмов на отмытых от почвы корнях растений
(в тыс. на 1 *г* корней)

Группа микроорганизмов	Количество микроорганизмов на корнях	
	кукурузы	овса
Аммонифицирующие	25 000	60 000
Денитрифицирующие	600	60
Маслянокислые	25	250
Целлюлозоразлагающие	1,2	1,2
Аэробный фиксатор азота	0,6	2,5

Это подтверждается, например, результатами опытов, полученными М. Н. Язвицким: при ежегодной подкормке яблони Осеннее полосатое аммиачной селитрой прибавки урожая яблок не наблюдалось (табл. 16).

Таблица 16

Влияние удобрений на урожайность яблонь
(по М. Н. Язвицкому)

№ варианта	Внесение удобрений (*кг*)			Средний урожай яблок за 3 последних года (*кг* с 1 дерева)
	в яму (1947 г.)	очаговое (1952 г.)	в приствольные круги (1947—1956 гг.)	
I	Не вносились	Не вносились	Не вносились	7,6
II	Навоз — 8,0, суперфосфат — 0,85, известь — 1,93	Навоз — 60,0, суперфосфат — 1,5, известь — 2,0	» »	21,6
III	То же	То же	Ежегодно селитра — 0,35	21,9

Из практики садоводства известно, что подкормка яблонь азотом в большинстве случаев приводит к повышению урожая, однако в опыте М. Н. Язвицкого почвенно-микробиологические условия сложились таким образом, что положительного эффекта от дополнительного внесения азотистых удобрений получено не было.

Причина такого явления заключалась в том, что в варианте с ежегодным внесением аммиачной селитры

усилился процесс денитрификации. Это подтвердили микробиологические анализы, которые показали, что денитрифицирующих бактерий в варианте с ежегодным внесением аммиачной селитры было значительно больше, чем в варианте без нее.

Количество денитрификаторов, способных восстанавливать нитраты до свободного газообразного состояния, учитывали в 2 срока — в период цветения яблони в июне и в период ее плодоношения в октябре. Эти сроки соответствуют наиболее интенсивному росту корневых систем яблонь в условиях Подмосковья. Было обнаружено, что количество денитрифицирующих бактерий в варианте II, без дополнительного внесения селитры, составляло 0,6—1,0 тыс. на 1 *г* прикорневой почвы, взятой на глубине 15—20 *см,* в то время как в варианте III, при ежегодной подкормке яблонь азотом, их количество возросло до 120—250 тыс. в 1 *г*. Возможно, что аммиачный азот селитры также не полностью использовался растением потому, что в связи с общим ходом биологических процессов в ризосфере он окислялся нитрифицирующими бактериями до нитратов, которые затем могли также частично восстанавливаться. Действительно, было установлено, что способность почвы к нитратонакоплению, определенная по Ваксману (добавление 1 *мг* сернокислого аммония на каждый грамм почвы и выдерживание в течение двух недель в условиях оптимальной влажности и температуры), была значительно выше в варианте III, в котором вносилась аммиачная селитра (397 *мг* против 62 *мг* на 100 *г* почвы в контроле).

Зная условия, при которых денитрифицирующие бактерии восстанавливают нитраты до газообразного азота особенно активно, можно в какой-то степени влиять на их жизнедеятельность.

Накопление в ризосфере вредных микроорганизмов. Это явление чаще всего происходит при длительных бессменных посевах одного вида растения (монокультуре). При этом в одних случаях наступает так называемое почвоутомление, а в других — концентрирование фитопатогенных видов, приспособленных к паразитированию на определенных растениях.

Почвоутомление может вызываться разными причинами: односторонним выносом питательных веществ, накоплением ионов алюминия, железа и других, но одной

из основных причин считается накопление токсических веществ, выделяемых некоторыми микробами-ингибиторами. В ряде случаев при почвоутомлении наблюдается угнетение не только роста растений, но и размножения полезных микроорганизмов. Например, на клевероутомленной почве снижается численность клубеньковых бактерий.

Восстановление плодородия «утомленной» почвы достигается введением плодосмена, внесением удобрений, известкованием почвы. Все эти мероприятия изменяют течение микробиологических процессов, и плодородие повышается.

Многие виды фитопатогенных грибов и бактерий являются облигатными паразитами, т. е. приспособлены к жизни на строго определенных видах растений и не могут существовать за счет не свойственных им растений.

В связи с этим при монокультуре патогены постепенно накапливаются в почве, попадая в нее с растительными остатками или размножаясь в корневой системе. Большое значение в борьбе с этим явлением и, следовательно, с распространением инфекции имеет, так же как и при почвоутомлении, введение севооборотов и внесение удобрений. Отсутствие растения-хозяина и соответствующих растительных остатков при смене культур, а также размножение почвенных антагонистов при внесении удобрений приводит к снижению численности патогенов и оздоровлению полей.

БАКТЕРИИ-СИМБИОНТЫ В КОРНЯХ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Некоторые микроорганизмы в ходе эволюции приобрели способность размножаться не только на поверхности корней, но и проникать внутрь их тканей. Для сельского хозяйства наибольший практический интерес представляют бактерии, относящиеся к роду Rhizobium. Эти бактерии проникают в корни бобовых растений и способны в симбиозе с ними связывать газообразный азот воздуха в таких количествах, которые полностью обеспечивают потребности растения в этом элементе. Бактерии вызывают в месте своего проникновения усиленное деление клеток корня, в результате чего образуются неболь-

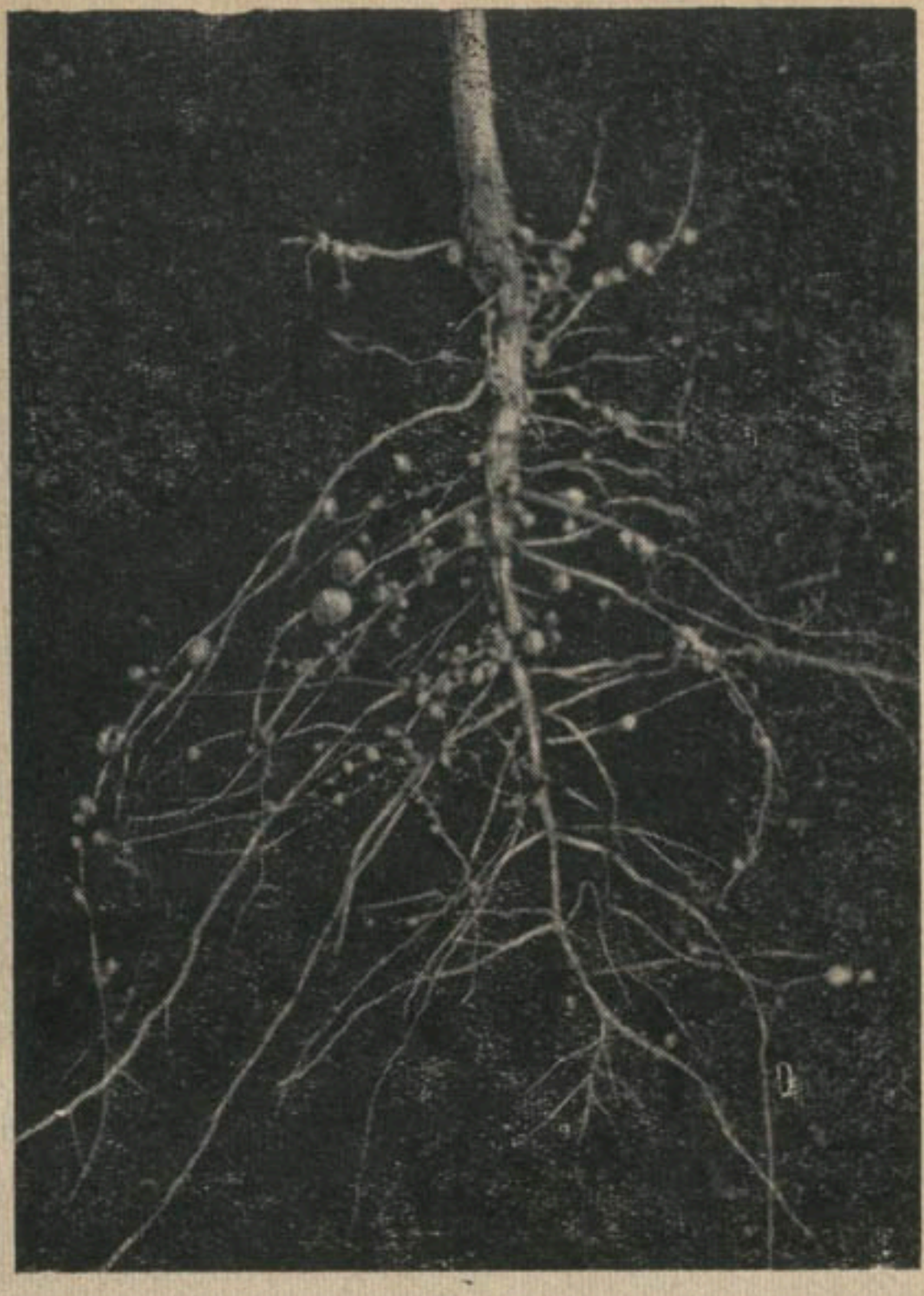


Рис. 10. Клубеньки на корнях сои (фото В. Куркаева).

шие наросты, или так называемые клубеньки, которые являются местом скопления клубеньковых бактерий и в которых протекает жизнедеятельность последних в течение вегетационного периода растений (рис. 10).

Еще в прошлом столетии замечено, что растения семейства бобовых (горох, фасоль, соя, клевер, люцерна и др.) отличаются от растений других семейств тем, что дают хорошие урожаи без внесения азотных удобрений. В 1886 г. Гельригель и Вильфарт в опытах с горохом и овсом доказали, что горох хорошо растет на песке без

азота, в то время как овес в этих условиях не развивается. В вариантах с добавлением разных доз азота овес растет тем лучше, чем больше внесено азота, горох же почти не отзывается на наличие азота в песке. В результате этих исследований был сделан вывод, что бобовые растения могут использовать для своего питания азот из атмосферы благодаря наличию симбиоза с бактериями, находящимися в клубеньках.

В последующее время бактерии из клубеньков были выделены в чистую культуру и подробно изучены. В многочисленных статьях, а также монографиях описываются их физиологические свойства, распространение в почвах, развитие в клубеньках, взаимоотношения с растениями, влияние на урожай и т. д. (В. П. Израильский, 1933; Л. М. Доросинский, 1965; Е. Н. Мишустин и В. К. Шильникова, 1968 и др.).

Д. Н. Прянишников в своей книге «Азот в жизни растений и в земледелии СССР» (1945) приводит данные, показывающие, что при хорошем урожае многолетние травы (клевер, люцерна) могут накопить в корнях и в надземной массе до 150—300 *кг* азота на 1 *га* ежегодно за счет атмосферы, а однолетние бобовые — до 100 *кг*. В почве после многолетних бобовых из этого азота остается около 80 *кг*, а после однолетних — 10—20 *кг*. Д. Н. Прянишников считает, что даже при высокоразвитой азотно-туковой промышленности «биологический» азот никогда не потеряет своего значения. Этот азот является бесплатным. Он не только обеспечивает повышение урожая бобовых, но оказывает и последействие на урожай последующих небобовых культур; в результате под них требуется вносить меньшее количество минеральных удобрений.

Клубеньковые бактерии проникают в корни растений из почвы, где они могут существовать длительное время как сапрофиты, подобно корневым и ризосферным бактериям. Доказано также, что клубеньковые бактерии способны размножаться, питаясь корневыми выделениями небобовых растений. Так, клубеньковые бактерии клевера активно размножались на корнях тимофеевки, райграса, овсяницы, выращенных в условиях водной монобактериальной культуры. Их количество увеличивалось с 7-го по 14-й день в 10 раз. Оказалось, что часть бактерий связана с корнями очень тесно и учитывается

только после растирания последних (В. А. Межраупе, 1963).

По многим признакам клубеньковые бактерии сходны с широко распространенными в ризосфере и на корнях бактериями из группы Ps. radiobacter. Радиобактер часто выделяется вместе с ними из почвы и даже из клубеньков растений, и его бывает трудно отличить от клубеньковых бактерий по внешнему виду колоний на бобовом агаре под микроскопом и даже по физиологическим свойствам, проявляющимся при росте на разных питательных средах. В связи с этим можно предполагать наличие филогенетического родства между клубеньковыми бактериями и корневыми бактериями из группы радиобактер.

Т. П. Черник (1955) подробно изучила морфологические, культуральные и физиологические свойства 39 культур радиобактера, выделенных с корней льна и пшеницы. В результате этого изучения все культуры были разделены на 4 группы по их отношению к источникам углерода, азота и по степени восстановления нитратов. Часть штаммов восстанавливала нитраты до нитритов, часть восстанавливала их до газообразных продуктов, а остальные вовсе их не восстанавливали или ассимилировали (потребляли) без промежуточной стадии нитритов. По морфологическим и другим свойствам бактерии первой и третьей подгрупп стояли близко к фитопатогенным бактериям Ps. tumefaciens, вызывающим заболевание томатов, хотя они и не обладали способностью вызывать образование опухолей. Бактерии второй и четвертой подгрупп обладали рядом признаков, общих с клубеньковыми бактериями, но клубеньков не образовывали. Клубеньковые бактерии отличались от радиобактера по виду колоний на агаре (по чувствительности к наличию в среде фитонцидов). Например, при добавлении к бобовому агару 200 *мг* танина на 1 *л* среды клубеньковые бактерии не растут, в то время как радиобактер в этих условиях прекрасно развивается.

Клубеньковые бактерии представляют собой неоднородную группу. Во-первых, они различаются по способности вступать в симбиотические отношения с различными бобовыми растениями. Так, определенный штамм бактерий образует клубеньки и активно фиксирует азот только с определенным видом или группой видов бобо-

вых растений, на других же видах образует более мелкие клубеньки, в которых не происходит заметного накопления азота.

Эта специфичность клубеньковых бактерий не распространяется на отдельные сорта одного и того же вида растения. Например, Т. А. Мелкумова (1957) испытала 138 штаммов бактерий на 20 сортах люцерны и показала, что активный штамм проявляет свое свойство независимо от сорта, из которого он выделен. Кроме того, клубеньковые бактерии обладают разной способностью проникать в корни бобовых растений и образовывать на них клубеньки. Это свойство бактерий называется вирулентностью. Замечено, что высоковирулентные бактерии иногда являются малоактивными, т. е. они быстро проникают в корни, образуют большое количество мелких клубеньков, которые остаются бесполезными для растений. Такие бактерии ведут паразитический образ жизни. Н. М. Лазарева (1958) в опытах с горохом, люпином и арахисом установила, что если неактивные бактерии быстрее активных проникнут в растение и вызовут образование клубеньков, то, несмотря на наличие в почве активных бактерий, растения будут развиваться плохо.

Малоактивные клубеньковые бактерии довольно широко распространены в почвах. Так, в легких почвах Латвии обнаружено до 56% неактивных бактерий клевера, а в глинистых и суглинистых — до 20% от общего количества.

После посева бобовых растений количество клубеньковых бактерий в почве обычно возрастает. В нейтральных дерново-карбонатных и окультуренных дерново-подзолистых почвах количество клубеньковых бактерий клевера достигает сотен тысяч и миллионов клеток в 1 *г*. Гораздо меньше их в сильноподзолистых, дерново-глеевых и торфяных почвах (А. Д. Калниньш, 1958).

Чтобы обеспечить образование активных клубеньков на корнях бобовых растений, семена перед посевом обрабатывают такими специально отобранными и проверенными по их влиянию на урожай культурами клубеньковых бактерий, которые хорошо приживаются в корневой зоне растений и быстро внедряются в корни, отличаются высокой активностью симбиотической фиксации азота. Доказано, что только эти культуры обеспечивают прибавки урожая (табл. 17).

Таблица 17

Влияние на урожай люпина бактеризации семян активными и неактивными клубеньковыми бактериями (средние данные на сосуд из 5 повторностей)
(по Л. М. Доросинскому)

Вариант опыта	Сырой вес зеленой массы (*г*)	Урожай бобов		Вес клубеньков (*г*)
		количество	*г*	
Без бактеризации	44	5	3,5	—
Неактивные бактерии . . .	44	6	5,7	3,0
Активные бактерии	215	37	101,0	2,9
Азот (полная норма)	207	23	48,0	—

Данные, приведенные в табл. 17, показывают, что при заражении растений активными и неактивными бактериями вес клубеньков был одинаков, однако в варианте с неактивными бактериями прибавки урожая не получено и наблюдалось азотное голодание растений. Активные культуры полностью обеспечили растения азотом, в результате чего урожай повысился почти в 5 раз и превзошел урожай, полученный при внесении полной нормы азота.

Для использования клубеньковых бактерий в практике сельского хозяйства бактерии обычно выделяют из крупных клубеньков, взятых с корней хорошо развитых растений в период бутонизации или начала цветения. Доказано, что в это время бактерии в клубеньках обладают наибольшей активностью. Активные культуры используют для приготовления препарата нитрагина, который представляет собой расфасованную в бутылки стерильную почву с клубеньковыми бактериями. Нитрагин готовят с разными видами клубеньковых бактерий, предназначенными для определенных перекрестно заражающихся бобовых растений.

Согласно существующей классификации все клубеньковые бактерии делятся на 11 групп по видам растений, с которыми они вступают в симбиотические отношения: I — горох, вика, кормовые бобы, чечевица, чина, II — фасоль, III — соя, IV — люпин и сераделла, V — вигна, маш, арахис, VI — нут, VII — клевер, VIII — люцерна,

донник, триганелла, IX — эспарцет, X — лядвенец, XI — желтая акация.

Производством нитрагина занимаются специальные лаборатории или заводы бактериальных препаратов. В настоящее время разрабатывается промышленная технология изготовления сухого нитрагина, который более транспортабелен и удобен для использования в хозяйствах.

Установлено, что в среднем прибавки урожая бобовых культур от применения нитрагина составляют 15—25%, а при посеве новых культур, которые в данном районе не возделывались,— значительно больше.

Нитрагин вносят вместе с высеваемыми семенами, поэтому содержащиеся в нем активные расы бактерий размножаются в зоне растущей корневой системы в массовом количестве и внедряются в корни ранее имеющихся в почве менее активных клубеньковых бактерий.

НЕКОТОРЫЕ ПОЛЕЗНЫЕ СВОЙСТВА ЭПИФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ПУТИ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

МИКРООРГАНИЗМЫ КАК ПРОДУЦЕНТЫ ВИТАМИНОВ И ГЕТЕРОАУКСИНА

Эффективность дополнительного снабжения растений витаминами и ауксинами. Большое значение для обмена веществ у растений имеют витамины, а для ростовых процессов — ауксины. Несмотря на то, что и те и другие синтезируются самими растениями, добавочное снабжение растений этими веществами улучшает их рост и развитие. Объясняется это тем, что при некоторых условиях в растениях накапливается недостаточное количество витаминов и ауксинов. По данным К. Е. Овчарова (1958), на синтез витаминов в растениях большое влияние оказывают факторы внешней среды: климатические условия, удобрения, наличие микроэлементов, кислотность почвы и др. Очевидно, в ряде случаев могут складываться такие условия, когда растения, особенно в молодом возрасте, будут испытывать недостаток в витаминах, в результате чего урожай не достигнет того уровня, какого он мог бы достигнуть при оптимальных условиях развития.

Действительно, Ю. В. Ракитин и К. Е. Овчаров (1948), применив трехкратное опрыскивание хлопчатника 0,01%-ным раствором никотиновой кислоты, получили увеличение урожая в условиях совхоза в Таджикской ССР на 15—20%. При замачивании семян кукурузы в растворе тиамина урожай початков увеличивался на 9,6 *ц* с 1 *га* (П. А. Власюк, П. З. Лисовал, 1951).

Обработка семян некоторых овощных и бобовых растений экстрактом из почек липы, богатым разными витаминами, также приводила к повышению урожая бобов на 44%, моркови — на 31, свеклы — на 30% (П. И. Блузманас, 1951). Замачивание семян салата в 0,01%-ном растворе никотиновой кислоты увеличивало

его урожай с 8,03 до 18,23 *кг* на делянку 4 $м^2$, а замачивание семян редиса в растворах никотиновой кислоты, тиамина и рибофлавина, взятых в концентрации 0,01%, повышало урожай корнеплодов в полевом опыте на 35—44% (Л. А. Люкова, 1958, 1965).

Согласно наблюдениям Л. А. Полянской, А. К. Носова и К. Е. Овчарова (1963) витамины B_1 и PP, внесенные в почву, ассимилировались растениями хлопчатника, в результате чего увеличивалась длина корней. Заметное влияние на урожай оказало предпосевное замачивание семян в растворах витаминов совместо с фосфором и азотом (KH_2PO_4 и NH_4NO_3) в концентрации по 100 *мг* на 1 *л*. Так, вес сухой массы хлопчатника сорта 2ИЗ составил (в *г* на сосуд): в контроле — 41,18, при замачивании в растворе витамина B_1 — 45,5, в смеси витамина $B_1 + KH_2PO_4$ — 48,36, в растворе витамина PP — 47,32, в смеси витамина $PP + NH_4NO_3$ — 65,47.

Опрыскивание рассады цветов — петунии, глоксинии, азалии и цинерарии — раствором тиамина в концентрации 10—20 *мг* на 1 *л* воды стимулировало образование новых листьев и бутонов и привело к более обильному цветению (П. И. Блузманас, П. М. Урбетите, 1965).

Многочисленные данные о значении витаминов в жизни растений приводятся в книгах К. Е. Овчарова (1958, 1964).

Гетероауксин, или β-индолилуксусная кислота, образуется в растениях и в микроорганизмах окислительным дезаминированием триптофана (индол-3-аланина) при ферментативном отщеплении от него групп COOH и NH_2 и последующем окислении остаточного продукта.

В нашей стране испытание на растениях действия гетероауксина началось с 1937 г., когда Н. Г. Холодный проводил опыты по обработке семян овса гетероауксином и наблюдал повышение урожая. Р. Х. Турецкая (1948, 1961) получила хороший эффект по укоренению черенков многолетних растений, а также повышение урожая некоторых овощных культур при обработке корней рассады гетероауксином. Такой же результат наблюдался и в опытах И. А. Волкова (1948), при замачивании корней рассады томатов в гетероауксине он установил, что в полевом опыте урожай плодов увеличился на

49%. Повышение урожая сахарной свеклы в полевых условиях при предпосевном намачивании семян в гетероауксине было получено Т. А. Даниловой (1950) и др.

После выделения гетероауксина, образующегося в некоторых животных и растительных тканях, начались поиски других веществ, способных при применении их в определенных концентрациях стимулировать физиологические процессы у растений. В книге под редакцией Тукея (1958) перечисляются 34 различных химических соединения, обладающих такой способностью; к ним относятся производные индолилуксусной и нафталиновой кислот, соединения фенола, производные 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и др. В этой книге обобщается опыт США по использованию в сельском хозяйстве стимуляторов для различных целей: ускорения корнеобразования, управления процессами цветения и плодообразования, предупреждения предуборочного опадения плодов, для задержки прорастания картофеля и корнеплодов, а также в соответствующих концентрациях как средства борьбы с сорняками. Л. В. Метлицкий (1965) приводит примеры использования физиологически активных веществ — метилового эфира β-нафтилуксусной кислоты и гидразида малеиновой кислоты для предупреждения прорастания картофеля и овощей при хранении.

В природной обстановке естественным дополнительным источником витаминов и ауксинов для растений являются почва и микрофлора, обитающая на поверхности корней и надземных органов растений. В почве витамины и ауксины накапливаются благодаря попадающим в нее растительным и животным остаткам, а также в результате жизнедеятельности почвенной микрофлоры. В серой лесной почве Львовской области обнаружено (в *мкг* на 1 *кг* почвы): биотина — 0,7, рибофлавина — 4, никотиновой кислоты — 230 (Г. М. Шавловский, 1954). По данным разных исследователей, приведенным Н. А. Красильниковым (1958), содержится (в *мкг* на 1 *кг* почвы): тиамина — 0,29—1,93, рибофлавина — 900—980, биотина — 23—62, витамина B_{12} — 0,2—1,5.

Кроме витаминов, в почве обнаружены ауксины. Содержание их, так же как и витаминов, весьма различно и зависит от типа почвы, удобрений и других условий. Оно может колебаться от десятых долей микрограмма до сотен микрограммов на 1 *кг* почвы (J. Hubert, 1946).

Сущность действия стимулирующих веществ на растения. Природа действия стимулирующих веществ на растения пока еще недостаточно изучена, хотя имеется ряд работ, специально посвященных выяснению этого вопроса.

Многие зарубежные ученые разделяют все вещества, необходимые для растений, на 2 принципиально различные группы: питательные и регулирующие. Однако Ю. В. Ракитин (1953) считает, что нет оснований для такого деления, так как ни витамины, ни ауксины не являются специфическими веществами роста, поскольку они наряду с другими веществами участвуют в биохимических реакциях, которые происходят в клетках. Они так же необходимы для нормальной жизнедеятельности организма, как углеводы, белки и другие вещества, используемые в больших концентрациях. Тем не менее присутствие витаминов или ауксинов в тканях в ничтожных концентрациях указывает на каталитический характер их действия. Поэтому действие стимуляторов можно рассматривать как интенсификацию нормально идущих в растениях процессов обмена веществ, так как активирование биохимических превращений веществ происходит в тех участках, которые обогащаются стимуляторами.

Изучая сущность действия гетероауксина на растения, исследователи обратили внимание на то, что клетки, обогащенные этим веществом, становятся как бы центрами притяжения воды и питательных веществ из других частей растения, а если обработаны целиком отрезки растений или семена, то поступление веществ усиливается и из внешней среды. При обработке гетероауксином нижних частей черенков фасоли наблюдался приток к ним питательных веществ из верхних частей (Stuart, 1938). Используя это наблюдение, Р. Х. Турецкая (1947) разработала метод определения наличия гетероауксина в растворе по усилению корнеобразования у черенков фасоли.

Перераспределение питательных веществ внутри растения под влиянием обработки отдельных его частей стимуляторами было подтверждено работами ряда исследователей. Так, при опрыскивании плодовых веток томатов 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (10 *мг* на 1 *л* воды) наблюдалось увеличение веса плодов с 37 до

63 *г* и наряду с этим снижался вес листьев с 48 до 27 *г*; кроме того, в листьях уменьшалось содержание золы, P_2O_5 и азота (Н. И. Якушкина, 1949). При обработке нижних концов черенков ряда древесных пород стимуляторами также было обнаружено передвижение питательных веществ к обработанным участкам, при этом происходил отток сахаров из листьев и уменьшение в них хлорофилла, а также усиление роста корешков на обработанных участках (Р. Х. Турецкая, 1955). В процессе укоренения черенков вишни, обработанных гетероауксином, происходит отток азотистых соединений из листьев и верхних междоузлий к нижним междоузлиям. Содержание азота в листьях уменьшается и составляет (в процентах к сухому веществу) в контроле 2,48, с гетероауксином — 2,05. В нижних междоузлиях, наоборот, оно возрастает с 1,32% в контроле до 1,53% с гетероауксином. То же наблюдается с зольными элементами и фосфорными соединениями, которые передвигаются из верхних частей черенков к их нижним междоузлиям, обработанным гетероауксином (Н. И. Якушкина и Г. С. Эрдели, 1956).

Передвижение веществ в растениях при обработке их стимуляторами роста определяется теми же причинами, которые установлены при изучении передвижения пластических веществ по стеблю, т. е. установлена метаболитическая природа этого явления и его связь с метаболизмом проводящих и потребляющих тканей.

В работах А. Л. Курсанова и М. Н. Запрометова (1951) показано, что вещества движутся по растению не с транспирационным током воды, а по протоплазме клеток. Это движение идет в ту сторону, где расположены ткани с усиленной способностью адсорбировать или поглощать молекулы вещества. Так, например, при погружении отрезков стеблей пшеницы с колосом (длиной 33 *см*) в 0,5%-ный раствор аспарагина оказалось, что уже через 30 минут 84% аспарагина сосредоточивалось в семенах и только 0,3% оставалось в нижней части стебля. Скорость передвижения аспарагина составляла 170 *см* в час, что значительно превышало возможную скорость передвижения воды при данном сечении ситовидных трубок.

При применении C^{14} для изучения транспортировки пластических веществ было установлено, что на пути пе-

редвижения веществ (сахаров и аминокислот) реакции синтеза сведены к минимуму. Транспортировка молекул осуществляется в непосредственном контакте с вытянутыми в продольном направлении цитоплазматическими тяжами, которые проникают через поры из клетки в клетку. Продукты первичного синтеза азотистых веществ в корнях — аминокислоты и амиды — движутся в восходящем направлении, в основном по ксилеме (А. Л. Курсанов, 1967).

Таким образом, в настоящее время доказано, что движение веществ связано с активной функцией протоплазмы. А если это так, то оно должно быть связано и с дыханием клеток. Действительно, способность растительных тканей адсорбировать органические вещества заметно ослабевает при недостатке кислорода. Оказалось, что при проникновении различных органических веществ в клетки возбуждается дополнительное дыхание, которое становится источником энергии, необходимой клеткам для адсорбции веществ (А. Л. Курсанов, Н. Крюкова и Д. Седенко, 1948). С этой точки зрения интересны эксперименты, которыми было установлено заметное увеличение интенсивности дыхания клеток на участках растения, обработанных стимулирующими веществами.

Сравнивалась интенсивность дыхания (в *мг* CO_2) и накопление гликокола (в *мг* N) у обработанных гетероауксином и необработанных отрезков этиолированных стеблей гороха. Оказалось, что у обычных (необработанных) стеблей интенсивность дыхания в верхней части выше по сравнению с нижней (0,8 *мг* против 0,3 *мг*); этому соответствует и накопление гликокола — 5,6 *мг* вверху и 2,0 *мг* внизу. В том случае, когда нижние части отрезков стебля были предварительно выдержаны в растворе гетероауксина, накопление гликокола происходило в этих обработанных участках и составляло 7,8 *мг*.

Наиболее вероятно влияние стимуляторов на дыхание через ферментативный аппарат и, в частности, через повышение активности фосфорилирующих ферментов, что доказывается накоплением P_2O_5 в опрыснутых гетероауксином частях растения (Н. И. Якушкина, 1951). В работе В. Ф. Верзилова и Л. В. Рунковой (1959) приводятся данные, подтверждающие влияние гетероауксина на повышение интенсивности дыхания клеток. Так,

интенсивность дыхания в нижних частях стеблей черенков фасоли (в *мг* CO_2 на 100 *г* сухого вещества за час) была: через 1 день у необработанных — 94, у обработанных гетероауксином — 145, через 3 дня — соответственно 151 и 209, через 5 дней — 149 и 278. Авторы делают вывод, что в результате повышения интенсивности дыхания освобождается значительное количество энергии, благодаря чему усиливаются синтетические процессы, приводящие у обработанных стимулятором черенков к интенсивному корнеобразованию.

Замачивание семян сахарной свеклы в гетероауксине привело к повышению урожая в полевых условиях на 19%. При этом наблюдалось повышение фотосинтеза и интенсивности дыхания у листьев растений, выросших из семян, обработанных гетероауксином. Например, за 3 часа прирост листовой поверхности (в *мг* на 1 $м^2$) составлял: 28 июня в контроле — 7,63, в опыте — 11,54, 8 июля — соответственно 6,10 и 10,68. Под влиянием раствора гетероауксина в семенах свеклы повышалась активность фермента аскорбиноксидазы в том случае, если она была ослаблена из-за недостатка меди. Известно, что этот фермент играет большую роль в процессах дыхания растений, так как катализирует окислительно-восстановительные превращения аскорбиновой кислоты (Р. А. Андреева и М. И. Щетинина, 1956).

На основании приведенных выше данных можно считать в настоящее время установленным, что действие гетероауксина сводится к усилению процессов обмена в результате усиления дыхания и поглощения веществ клетками.

Значение витаминов в жизнедеятельности всякого живого организма, в том числе и растений, чрезвычайно велико, несмотря на то, что требуются они в незначительных количествах. Без витаминов невозможен нормальный обмен веществ. Химизм процессов, протекающих с участием витаминов в растениях, подробно рассмотрен в монографии В. Д. Кретовича (1964), а их роль в жизни растений освещена в книгах К. Е. Овчарова (1958, 1964). Витамины входят в состав ферментов, которые катализируют жизненно важные процессы, происходящие в растительном организме: синтез ряда веществ и усвоение их из окружающей среды, образование и превращение аминокислот, окислительно-восстано-

вительные процессы, лежащие в основе процесса дыхания, фотосинтез, процесс оплодотворения растений.

Так, например, участие витаминов B_6, PP, C и биотина в поглощении и превращении азота состоит в том, что они входят в состав ферментов, катализирующих процессы, происходящие в корневой системе при биосинтезе аминокислот из кетокислот и аммонийного азота. Эти витамины играют важную роль в ряде процессов обмена азотистых веществ, а также в накоплении их в семенах. Никотиновая кислота (PP) участвует в восстановительном аминировании, т. е. образовании аминокислот присоединением аммиака к кетокислотам, пиридоксин же (B_6) в виде его производного фосфопиридоксина — в реакциях расщепления аминокислот и в реакциях переаминирования, определяющих процессы образования и превращения аминокислот и усвоения азота. Отсюда следует, что недостаток витаминов в корнях может привести к задержке процесса усвоения растением соединений азота и их дальнейших превращений в белковые вещества.

Витамины B_1 и B_2 участвуют в реакциях, при которых образуются фосфорные соединения, богатые энергией, например ацетилфосфат, получающийся присоединением ацетальдегида к неорганическому фосфату. В опытах К. Е. Овчарова (1965) получено заметное влияние витаминов на усвоение фосфора растениями.

Изучение превращений поглощенной растениями углекислоты привело исследователей к выводу, что восстановление углекислоты до углеводов и различных промежуточных продуктов происходит при участии коэнзимов и богатых энергией фосфорных соединений. В частности, важная роль принадлежит β-карбоксилазе, в состав которой входит витамин B_1, а также кодегидразе, в реакциях с которой участвует никотиновая кислота. В хлоропластах в значительном количестве обнаружены тиамин, никотиновая кислота, рибофлавин, витамин С.

По данным К. Е. Овчарова, подкормка растений витаминами B_1 и PP повышала содержание хлорофилла в листьях и усиливала интенсивность фотосинтеза. При прорастании семян хлопчатника, обработанных 0,01%-ными растворами тиамина и никотиновой кислоты, в них повышалась активность ряда ферментов. Так, на 3—5-й день она составляла (в относительных единицах):

каталазы в контроле — 6,8, с витаминами — 8,1—9,1, полифенолоксидазы соответственно — 1,3 и 1,6—1,8, пероксидазы — 21,3 и 21,7—21,9, протеазы — 7,0 и 16,3—17,5 (Л. А. Полянская, А. К. Носов, К. Е. Овчаров, 1963).

Таким образом, одна из полезных функций микрофлоры, обитающей в контакте с растениями,— это ее способность синтезировать и выделять в среду витамины и гетероауксин — дополнительный источник этих веществ для растений.

Распространение микроорганизмов — продуцентов витаминов и гетероауксина — в почве и в ризосфере растений. По приблизительным подсчетам М. Н. Мейселя микроорганизмы в течение года могут синтезировать на 1 *га* пахотного слоя почвы до 400 *г* тиамина, 30 *г* пиридоксина и 1000 *г* никотиновой кислоты.

Было замечено, что в ризосфере растений, а также в удобренных и богатых органическим веществом почвах, где количество микроорганизмов значительно больше, обнаруживаются и бóльшие количества витаминов. Например, в 1 *кг* почвы в Московской области в ризосфере пшеницы находили тиамина — 10 *мкг*, а вне ризосферы — 1,2 *мкг*; рибофлавина — 150 *мкг* в ризосфере и 25 *мкг* вне ее; биотина — соответственно 35 и 3 *мкг*. В 100 *г* ризосферной почвы табака обнаружено 10—15 *мкг* тиамина, а вне ризосферы — 1,5—4,0 *мкг* (Н. А. Красильников, 1952, 1958).

Способность почвенных микроорганизмов синтезировать стимулирующие рост растений вещества (витамины и гетероауксин), а также распространение этих микроорганизмов в почве и в ризосфере растений привлекли внимание исследователей. С 1924 г. была начата работа по изучению способности почвенных бактерий образовывать ростовые вещества типа ауксинов. Вначале было обнаружено 11 видов — Bact. xylinum, Bact. radiobacter, Bact. denitrificans, Bact. coli, Bac. mycoides, Bac. subtilis, Bac. vulgatus, Prot. vulgaris, Myc. lacticolum, Myc. album, обладающих этой способностью (P. Boysen-Yensen, 1931). Затем была установлена способность образовывать ауксины еще 16 видами почвенных бактерий, причем это свойство не было связано с их систематическим положением и значительно варьировало. Близкие виды и даже штаммы одного и того же вида сильно

различались по интенсивности образования ауксина. Наиболее энергичными продуцентами ауксина в ризосфере оказались Azotobacter chroococcum, Myc. album и некоторые штаммы Ps. fluorescens (Е. И. Разницына, 1938).

Испытание 150 культур почвенных микроорганизмов на их способность образовать гетероауксин показало, что из них 99 культур, или 77%, обладали этим свойством. Из всех проверенных штаммов актиномицетов ауксин образовали 66%, из дрожжей — 46%, из грамотрицательных бактерий — 79%, из грамположительных — 73% и из кокков — 83%. Не все культуры были способны синтезировать ауксин при росте на синтетической среде; очевидно, им необходим был триптофан как предшественник индолилуксусной кислоты, который они не способны были синтезировать (Y. Roberts, E. Roberts, 1939).

Действительно, было показано, что образование гетероауксина азотобактером можно усилить добавлением к среде триптофана и микроэлементов. Синтез гетероауксина азотобактером усиливался также в присутствии других микроорганизмов, образующих триптофан. Например, на чашке с чистой культурой азотобактера было обнаружено 173 *мкг* гетероауксина, при совместном выращивании с Ps. radiobacter — 243, а с дрожжами — 234 *мкг* (В. Т. Смалий, 1964; В. Т. Смалий и О. И. Бершова, 1957).

Образование индолилуксусной кислоты в культурах Azotobacter beijerinckii и Az. indicum происходит только в присутствии триптофана, при этом распад триптофана идет внутриклеточно, а индолилуксусная кислота обнаруживается в среде. Биотин, лактофлавин и аскорбиновая кислота не стимулируют образование индолилуксусной кислоты, т. е. они не влияют на процесс окислительного дезаминирования триптофана.

Экспериментально подтверждено, что те культуры, которые способны синтезировать гетероауксин, содержат в клетках триптофан. Если последний добавлять в среду, то в его присутствии увеличивается способность бактерий образовывать гетероауксин (K. Bürger u. F. Bukatsch, 1958; E. Libbert, S. Wichner, 1963).

Н. А. Красильников (1957, 1958) изучил способность синтезировать ауксины и витамины у 192 культур бактерий, выделенных из различных почв нашей страны.

Оказалось, что 40% были способны образовать гетероауксин и около 50% — синтезировать витамин B_1. Так, из 18 культур Bac. subtilis 10 образовали тиамин и 10 — гетероауксин. Из 8 культур Ps. fluorescens все 8 синтезировали и тиамин и гетероауксин, из 12 культур Myc. album 7 — тиамин, 6 — гетероауксин.

Способность к биосинтезу гетероауксина была обнаружена также у многих почвенных актиномицетов: из 95 штаммов, выращенных на агаре, 64 (т. е. 67%) оказались продуцентами этого вещества, причем некоторые представители группы накапливали до 5—10 *мкг* гетероауксина на 1 *г* агаровой среды (Е. И. Андреюк и Е. В. Владимирова, 1963).

Немаловажное значение для растений имеет распространение микроорганизмов, способных синтезировать витамины в ризосферной почве вблизи корневой системы. Большой материал по этому вопросу имеется в работах канадских микробиологов Лочхеда и Буртона (A. Lochhead, M. Burton, 1955, 1957), Кука и Лочхеда (F. Cook, A. Lochhead, 1959). Они нашли, что из 499 разных штаммов микроорганизмов, выделенных из почвы, 27,1% требовали одного или нескольких витаминов, остальные 72,9% являлись их продуцентами. Из 2877 культур, выделенных из почвы и из ризосферы растений, 93% были способны синтезировать витамин B_{12}. Абсолютное число таких микроорганизмов в ризосфере было больше, чем в почве, удаленной от растений. Такая же закономерность наблюдалась и для других бактерий, синтезирующих несколько различных витаминов.

Микроорганизмов, образующих тиамин, находилось (в млн. на 1 *г*): в почве — 14,5, в ризосфере ржи — 112,6, в ризосфере ячменя — 856,6. При сравнении количества микробов — продуцентов витаминов — в почве, в ризосфере и на корнях растений было обнаружено, что культур, способных синтезировать 7 различных витаминов, в почве было 8,4%, в ризосфере — 20,2, на корнях — 29,0%; культур, способных синтезировать 8 витаминов, в почве содержалось 3,7, в ризосфере — 8,1, на корнях — 18,0%.

По данным Г. М. Шавловского (1954), бактерий-ауксоавтотрофов в почве было 4,8%, а в ризосфере растений — 35—50%. Активными продуцентами витаминов являются такие широко распространенные в ризосфе-

ре виды, как Ps. aurantiaca, Ps. fluorescens и Ps. radiobacter.

Ряд видов микроорганизмов, характерных для ризосферы хлопчатника, также оказался способным синтезировать витамины и гетероауксин. Например, активно синтезировали пантотеновую кислоту Ps. fluorescens, Ps. radiobacter, Bact. liquefaciens, Bact. formosum, пиридоксин — Ps. radiobacter, Ps. liquefaciens, Bact. formosum. Образование ауксинов наблюдалось в культурах Ps. fluorescens, Ps. turcosa, Ps. radiobacter, Ps. liquefaciens, Bact. liquefaciens (Т. Е. Попова, 1957). В составе микробного ризосферного комплекса картофеля обнаружены активные продуценты витаминов и ауксина. Из 30 изученных видов бактерий наиболее активными оказались Ps. liquefaciens, Ps. turcosa, Myc. album, Myc. phlei (М. Б. Петренко, 1958). Способностью синтезировать витамины B_3 и B_6 обладают очень распространенные на корнях виды денитрифицирующих бактерий — Ps. denitrificans, Ps. fluorescens, Ps. radiobacter, Ps. aurantiaca и Ps. desmolyticum (В. В. Михалева, 1959). Многие ризосферные бактерии пшеницы также являются продуцентами биотина, никотиновой кислоты, пантотеновой кислоты, тиамина и витамина B_{12} — Ps. sinuosa, Ps. radiobacter и Ps. aurantiaca. Бактеризация семян пшеницы некоторыми видами этих бактерий увеличивала накопление витаминов в почве ризосферы (В. Т. Смалий, 1961, 1964).

Способностью синтезировать витамины — рибофлавин, пиридоксин, никотиновую кислоту и биотин — обладал ряд бактерий, выделенных из ризосферы пшеницы и кукурузы, — Ps. radiobacter, Ps. fluorescens, Ps. pictorum, Ps. chrysea (G. Pantos, 1961). Установлено, что образование витаминов ризосферными микроорганизмами может значительно стимулироваться при наличии в почве микроэлементов (О. И. Бершова, 1965). Ряд видов почвенных актиномицетов (исследовано 40 культур, относящихся к 11 видам) также оказался способным к биосинтезу витаминов группы В, значительные количества которых выделяются в среду (Е. И. Андреюк, С. Б. Коган, 1967).

Таким образом, в прикорневой почве и на корнях растений живет огромное количество микроорганизмов, которые синтезируют витамины. Если в почве таких

бактерий насчитывается $^2/_3$ от общего числа бактерий, то в прикорневой зоне они составляют $^4/_5$. При этом витамины не только содержатся в бактериальных клетках, но и выделяются микроорганизмами в окружающую среду (А. Г. Гебгардт и Н. М. Дацюк, 1964; Н. М. Дацюк, 1965).

Благодаря наличию в почве и в ризосфере микробов — продуцентов витаминов и гетероауксина — растения дополнительно обеспечиваются этими жизненно важными веществами. Однако наиболее тесно связана с живым растением эпифитная микрофлора, представители которой обитают не только на надземных органах растений, но и на их корнях. Поэтому продукты жизнедеятельности эпифитной микрофлоры могут оказывать на растение большее влияние по сравнению с почвенной.

Микробы — стимуляторы роста растений — в эпифитной микрофлоре. *Действие физиологически активных веществ на ростовые процессы растений.* Способность микроорганизмов, размножающихся на поверхности здоровых вегетирующих растений, синтезировать биологически активные вещества почти не изучена. Между тем выделяемые этой микрофлорой витамины и гетероауксины могут оказывать стимулирующее действие на растения, особенно в молодом возрасте. Взаимосвязь между стимулирующей активностью микроорганизмов и их способностью синтезировать комплекс витаминов группы В и гетероауксин было установлено специальными экспериментами, проведенными во Всесоюзном научно-исследовательском институте сельскохозяйственной микробиологии (Ю. М. Возняковская, З. П. Рыбакова, У. С. Нуржанов и др., 1961—1967). Для этого была использована коллекция эпифитных микроорганизмов, выделенных с семян, листьев и корней различных растений (1300 культур). Сначала устанавливались их способность стимулировать энергию прорастания семян, рост проростков и корнеобразование, а затем наиболее активные из них подвергались подробному изучению как продуценты витаминов и гетероауксина.

Для воздействия на семена и проростки использовали культуральную жидкость микроорганизмов, которую получали, выращивая чистые культуры в жидкой питательной среде (№ 19) в течение 8 суток. За это время в среде накапливались продукты микробного синтеза, в



Рис. 11. Влияние предпосевного замачивания семян в культуральных жидкостях микроорганизмов на рост проростков пшеницы.
а — сорт Диамант, *б* — сорт Украинка; *1* — семена замочены в воде, *2* — семена замочены в культуральных жидкостях микробов-стимуляторов.

том числе физиологически активные вещества. В целях обогащения семян микробными метаболитами их замачивали на сутки в разведенных в воде культуральных жидкостях. В процессе набухания в семена проникали вместе с влагой витамины и другие вещества, накопленные в среде микроорганизмами. Влияние физиологически активных веществ, синтезированных тем или иным микроорганизмом, на ростовые процессы при прорастании семян учитывалось измерением или взвешиванием проростков (табл. 18, рис. 11).

Оказалось, что не все микроорганизмы были способны стимулировать рост проростков. Например, из проверенных 523 культур стимулировали энергию прорастания семян 88, причем более активно 44, остальные оказывали умеренное действие. Впоследствии было установлено, что микробы-стимуляторы по систематическому положению относились к 21-му виду (см. табл. 21). Встречались виды, одни штаммы которых стимулировали рост проростков, а другие не оказывали такого действия, т. е. в этом отношении наблюдались не только видовые, но и штаммовые различия.

Для выяснения способности микроорганизмов стимулировать корнеобразование и рост корней все культуры (88 штаммов), выявленные ранее как стимуляторы роста

Таблица 18

Влияние продуктов обмена некоторых микроорганизмов на вес проростков пшеницы

В чем замочены семена	Средний вес 100 проростков (*мг* на сухое вещество)			
	корешки		листья	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Вода	174±0,19	100,0	1329±3,9	100,0
Стерильная питательная среда	175±0,22	100,0	1344±6,7	100,5
К. ж.* штаммов:				
12	186±3,6	106,6	1418±7,1	107,5
25	238±0,2	137,2	1432±0,2	107,7
38	230±3,0	132,2	1428±2,9	107,4
69	225±0,3	129,4	1357±4,0	102,0
100	233±3,0	134,2	1401±5,9	105,3
426	244±3,1	140,5	1442±3,3	108,4
613	238±3,2	137,2	1425±3,6	107,1

Примечание. Опыт проводили в 12-кратной повторности в каждом варианте. $M \pm m$ — средний вес, ± ошибка опыта.

проростков при их действии на семена, проверяли методом Р. Х. Турецкой (1947) ** по корнеобразованию у черенков фасоли и дополнительно в микровегетационном опыте по росту корней у двухнедельных растений ржи.

Известно, что значительная стимуляция корнеобразования наблюдается при обработке черенков растений (древесных и других) небольшими концентрациями гетероауксина (0,01—0,001%). Аналогичное действие обнаруживалось и при обработке черенков фасоли разведенными культуральными жидкостями некоторых эпифитных микроорганизмов (табл. 19, рис. 12).

Полученные данные позволили предположить, что микроорганизмы — стимуляторы корнеобразования, перечисленные в табл. 19, способны к биосинтезу гетероауксина. Это предположение затем было подтверждено экспериментально (см. табл. 23).

В некоторых случаях наблюдалась стимуляция корнеобразования, выражавшаяся не в увеличении количества

---

* Культуральная жидкость при 200-кратном разведении.

** Описание метода см. на стр. 190.

корешков, а их росте в длину. Дальнейшие исследования показали, что последнее было характерно для культур — активных продуцентов витаминов группы В.

Проверка культур микроорганизмов по их влиянию на рост корней ржи проводилась в условиях микровегетационного опыта при выращивании растений в песке, увлажненном питательной смесью Гельригеля. Семена перед посевом замачивали на 24 часа в разведенных культуральных жидкостях микробов-стимуляторов. Выращивание проводили в течение двух недель в лабораторной теплице с лампами дневного света. Учет сводился к измерению длины выросших корней. В качестве контроля служили растения, выращенные из семян, замоченных в воде и в разведенной стерильной питательной среде.

Результаты измерения растений показали, что в контроле длина корней была в среднем 11 *см*, а в вариантах с культурами-стимуляторами составляли 15—17 и в не-

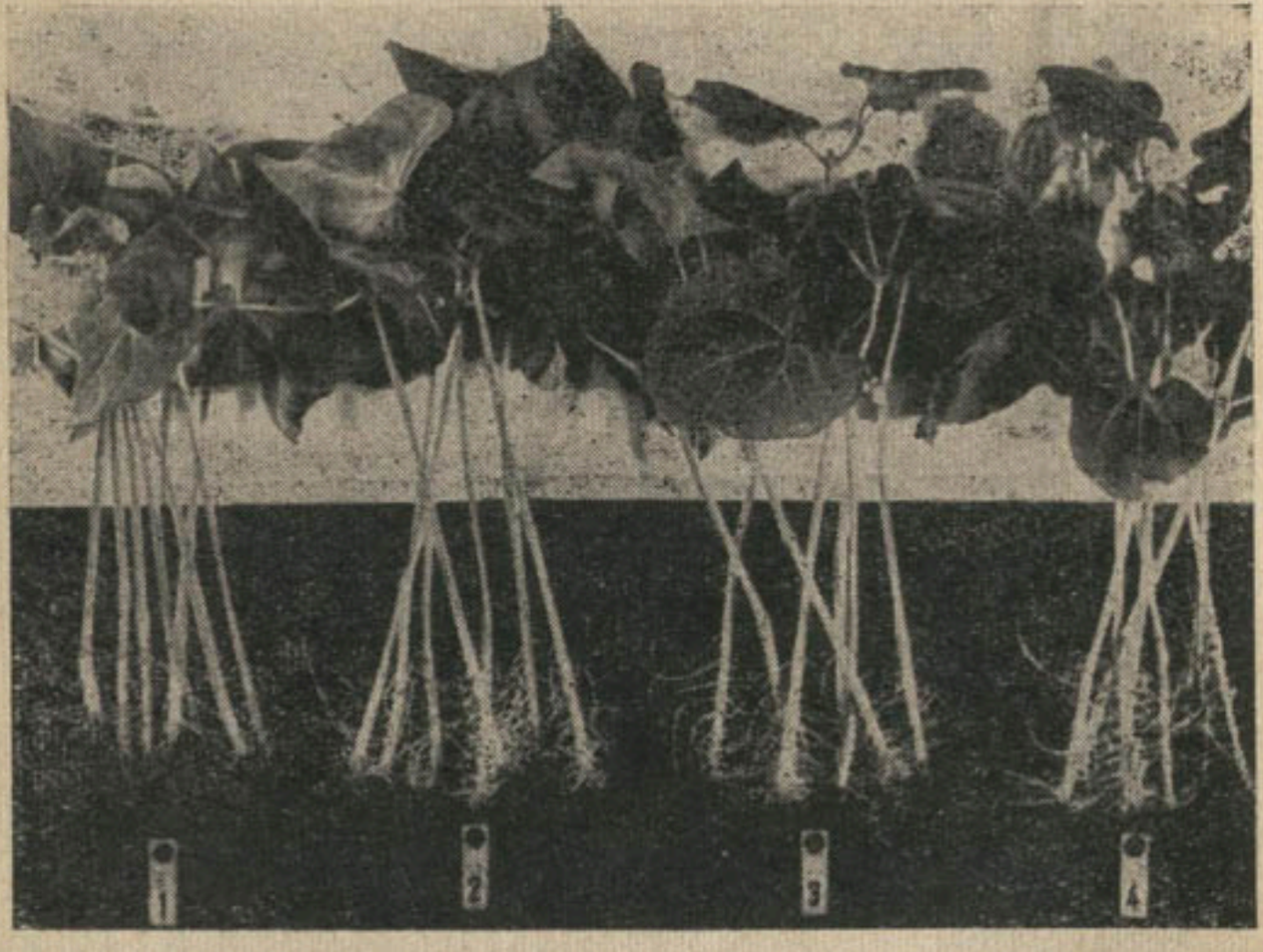


Рис. 12. Влияние микробов-стимуляторов на количество образовавшихся корней у черенков фасоли.

1 — черенки выдержаны в воде 7 суток (контроль), *2*, *3* и *4* — черенки замочены на 6 часов в разведенных культуральных жидкостях культур 426, 613 и 25, а затем 7 суток выдержаны в воде.

Таблица 19

Стимуляция корнеобразования у черенков фасоли микробными метаболитами

В чем замочены семена	Количество корешков на одно растение				Среднее
	1-я повторность	2-я повторность	3-я повторность	4-я повторность	
Вода	14	10	6	10	10
Стерильная питательная среда	14	15	10	12	13
Гетероауксин (1:50 тыс.)	36	25	58	38	39
К.ж.: Ps. fluorescens	74	33	38	35	45
То же	48	33	28	23	33
Ps. aurantiaca	57	50	20	41	42
То же	54	47	45	50	49
Ps. resinacea	27	23	21*	—	26
Bact. nitrificans	47	36	27	30	35
Bact. agile	33	25	18	20	24
Myc. album	25	21	19	—	22
Myc. phlei	33*	26	16	—	25
Myc. rubrum	32	34	19	23	27
Promyxobact. johnsonii	41*	31*	30*	—	28
Bact. coli-aerogenes	80	80	70	65	75
То же	35	31	19	19	26
Rhodotorula aurantiaca	50	28	20	34	33
То же	36	26	20	26	27
Sarc. flava	53*	28	22*	—	31
Psdb. lacticum	58	40	18	14	32
Bac. mesentericus	45	24	20	19	27

Обозначения. К. ж. — культуральная жидкость.

которых случаях 19—21 *см* (рис. 13). Некоторые культуры оказывали тормозящее действие на рост корней: длина их была меньше, чем в контроле, и составляла 7—8 *см*. Данные микровегетационного опыта подтвердили результаты отбора культур-стимуляторов первыми двумя методами.

Подводя итог, можно сказать, что штаммов-стимуляторов средней активности встречалось на растениях около 17%, из них с более высокой активностью — 8%.

* Рост корней в длину.

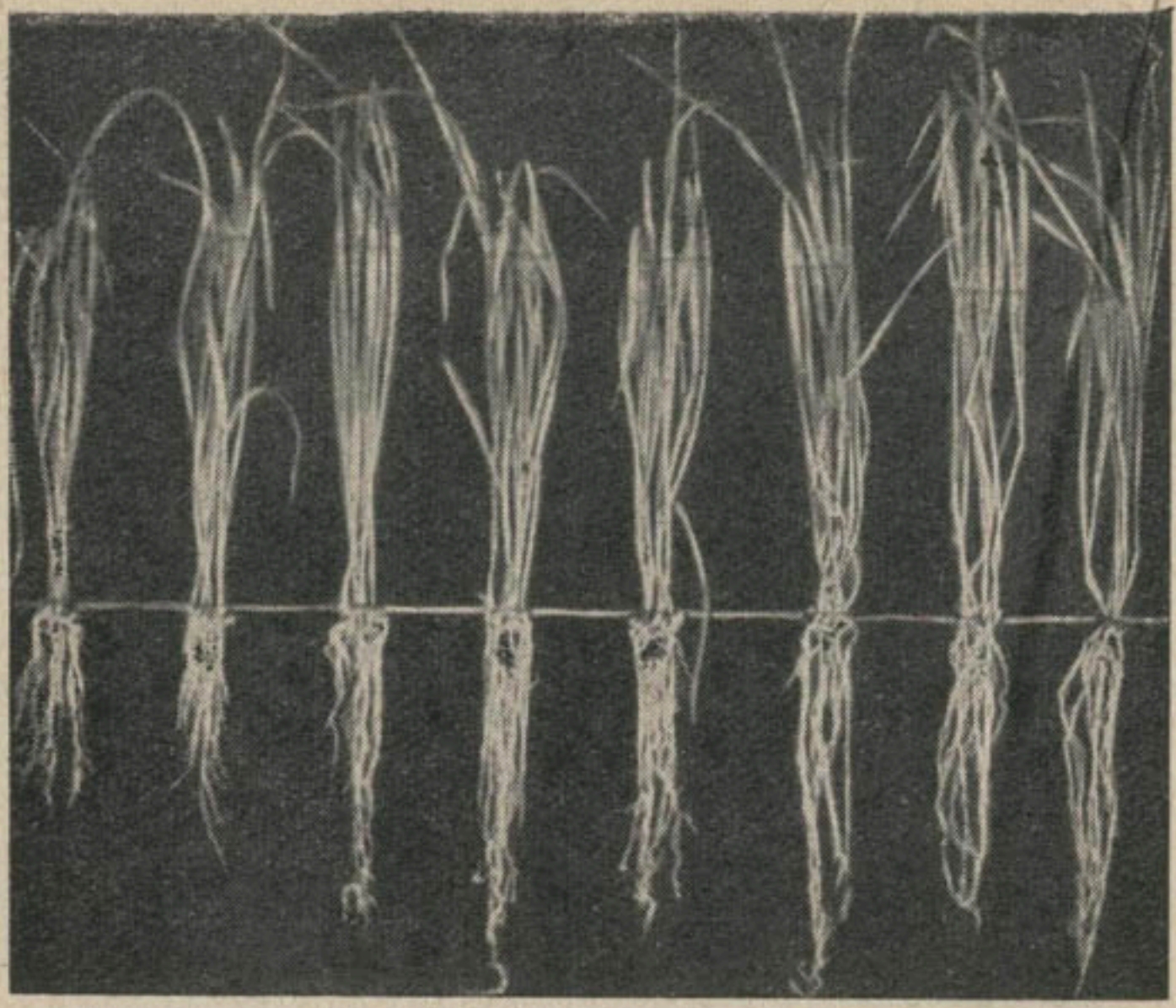


Рис. 13. Влияние различных микроорганизмов на рост корней ржи в микровегетационном опыте (1-е и 2-е растения слева — контрольные).

Используя перечисленные выше методы отбора микробов-стимуляторов, А. А. Клинцаре (1964) и Д. Я. Креслинь (1964) также отобрали из эпифитной микрофлоры ряд микроорганизмов, которые в условиях вегетационного опыта стимулировали рост и увеличивали урожай ячменя, люцерны, овса и капусты. Они замачивали семена не в культуральных жидкостях, а в разных концентрациях клеточных суспензий и испытуемых микроорганизмов.

Собещанский (I. Sobieszczansky, 1965) отобрал из 224 культур, выделенных им из ризосферы ржи, озимой вики и из почвы, 51 культуру, оказавшую стимулирующее влияние на рост проростков пшеницы и салата. Автор использовал разведенные фильтраты 5-суточных культур микроорганизмов.

Приведенные выше примеры выявления микробов-стимуляторов из эпифитной микрофлоры показывают,

что в ее числе имеются виды микроорганизмов, которые в процессе своей жизнедеятельности выделяют вещества, стимулирующие прорастание семян и рост корней. Этот стимулирующий эффект, весьма вероятно, может зависеть от способности этих микроорганизмов образовывать (наряду с некоторыми неустановленными веществами) различные витамины, а также гетероауксин.

Биосинтез витаминов и гетероауксина эпифитными микроорганизмами. Способность выделять витамины установлена для многих почвенных и ризосферных микроорганизмов, о чем свидетельствуют литературные данные, приведенные выше. Это свойство у эпифитных микроорганизмов изучено очень мало. Можно предполагать, что, питаясь выделениями растений и находясь в тесном контакте с растительными клетками на протяжении всего периода вегетации растений, эпифитные микроорганизмы в качестве продуктов обмена выделяют ряд веществ, полезных для растений. В противном случае в процессе эволюции совместное существование организмов, не имеющих в основе их взаимоотношений никаких элементов симбиоза, привело бы к выработке у одного из них защитных приспособлений, а у другого — антагонистических свойств.

Витамины и ауксины являются такими веществами, которые требуются организмам в ничтожно малых количествах, исчисляющихся тысячными долями миллиграмма, и в то же время они как катализаторы чрезвычайно активны по своему действию. Последнее делает вполне реальным их значение для растений.

Присутствие в культуральных жидкостях и в клетках этих физиологически активных веществ может являться тем действующим началом, которое определяет эффект, получаемый при обработке ими семян или проростков.

Полученные в настоящее время сведения о способности микробов-стимуляторов синтезировать витамины подтверждают сделанные ранее предположения о том, что именно это свойство в большой степени определяет их активность.

Накопление витаминов активными стимуляторами из эпифитной микрофлоры определялось микробиологическим методом *.

---

* Описание метода см .на стр. 198.

Микробиологические методы основаны на применении некоторых микроорганизмов в качестве весьма чувствительных биологических индикаторов на витамины, при этом используют такие микроорганизмы, которые являются резко гетеротрофными к какому-либо витамину, т. е. неспособны его синтезировать сами. В то же время данный витамин играет важную роль в обмене веществ клетки, поэтому в его отсутствие рост микроорганизма полностью прекращается (Е. Н. Одинцова, 1959).

Биосинтез витаминов микробами-стимуляторами, обнаруженными среди эпифитной микрофлоры, у разных культур был различен. Однако все они являлись продуцентами комплекса витаминов. Часть синтезированных витаминов накапливалась в бактериальных клетках, а часть выделялась в окружающую среду (табл. 20 и 21).

Таблица 20

Содержание витаминов в клетках эпифитных микроорганизмов

(в *мкг* на 100 *мг* сухих клеток)

№ штамма	Вид микроорганизма	Тиамин (B_1)	Пиридоксин (B_6)	Пантотеновая кислота (B_3)	Никотиновая кислота (PP)	Витамин B_{12}
394	Ps. fluorescens	7		15	32	1,34
547	Ps. aurantiaca	5	1,3	18	35	0,49
513	То же	9	1,4	0	16	
640	Ps. liquefaciens	0	11,0	17	41	0,06
344	Ps. resinacea	2,2	2,4	23	0	0,28
80	Bact. nitrificans	1,2	—	15	23	0
492	Bact. agile	1,0	10,0	4	40	0
4	Bact. coli	0	0	10	59	0
416	Bact. coli-aerogenes . . .	1,0	5,0	11	0	0
650	Chr. aurantiacum	4	3,0	43	40	0
397	Myc. album	9	6,5	8	32	0
171	Myc. phlei	2	4,2	26	40	0,61
759	Myc. rubrum	5	1,3	15	46	0,78
714	Mycoc. luteus	8	3,4	47	49	0,19
403в	Psdb. lacticum	1,1	7,5	37	0	0
21	Sarc. flava	1,0	8,0	16	0	0
426	Promyxobact. johnsonii . .	8	9,0	62	20	0
94	Rhodotorula aurantiaca . .	2,8	—	10	60	0
648	Cryptococcus laurentii . .	9	10,0	24	38	0
656	Pullularia pullulans	7	2,5	29	29	0
761	Bac. megaterium	4	3,0	14	13	0,51

Число культур, которые выделяли витамины в значительных количествах в окружающую среду, приведено в табл. 22.

Как видно из данных табл. 21 и 22, многие микроорганизмы оказались активными продуцентами комплекса витаминов.

Так, например, способность к биосинтезу шести витаминов группы В выявилась у Ps. aurantiaca штамм 547, Ps. liquefaciens штамм 640, Promyxobact. johnsonii штамм 426, Myc. phlei штамм 171. Тринадцать культур синтезировали по пять витаминов.

Микроорганизмы, не оказавшие стимулирующего действия, были и слабыми витаминообразователями; это является веским доказательством того, что действие микроорганизмов на растения в большой степени зависит от их способности синтезировать витамины (см. табл. 24).

Стимулирующее действие некоторых микроорганизмов на рост проростков могло отчасти зависеть и от способности этих микроорганизмов синтезировать гетероауксин, т. е. β-индолилуксусную кислоту (ИУК).

Для определения индолилуксусной кислоты и ряда других производных индола использовали хроматографический метод. Этим методом были обнаружены ауксины в продуктах жизнедеятельности азотобактера. Из пятен на хроматограммах, полученных при хроматографировании культуральной жидкости некоторых штаммов азотобактера, делали вытяжки и установили, что они оказывают сильное стимулирующее действие на рост корешков кресс-салата (K. Bürger, F. Buckatsch, 1958). Подобные вещества были обнаружены у Agrobacterium tumefaciens (J. Kaper, H. Veldstra, 1958), а затем у многих эпифитных микроорганизмов (Ю. М. Возняковская, З. П. Рыбакова, 1961).

В табл. 23 приведены результаты исследования 34 культур, выделенных с растений, на их способность образовывать гетероауксин. Оказалось, что половина культур, проявивших себя ранее стимуляторами, обладали способностью синтезировать β-индолилуксусную кислоту. Среди них наиболее активными оказались Ps. cruciviae, Bact. coli-aerogenes, Chr. aurantiacum, Myc. rubrum, Myc. album, Pullularia pullulans. При добавлении в среду, на которой выращивали микроорганизмы, 0,01%-ного триптофана способность образовать гетеро-

Таблица 22

Количество микроорганизмов-стимуляторов, способных синтезировать разные витамины

Витамин	Всего изучено культур	Из них продуцентов витаминов		Не способных к синтезу данного витамина
		всего	в том числе активно выделяющих витамины в среду	
Тиамин	34	33	13	1
Пиридоксин	35	27	14	8
Пантотеновая кислота	35	27	12	9
Никотиновая кислота	35	26	7	9
Биотин	35	25	20	10
Витамин B_{12}	34	16	7	18

ауксин усиливалась и появлялась еще у ряда видов; не выделяли его на среде без триптофана 15 культур.

Либберт и др. (E. Libbert, S. Wichner, U. Schiewer, W. Kaiser, H. Risch, 1966), исследуя способность растительных тканей (гороха, кукурузы, пшеницы и др.) превращать триптофан в индолилуксусную кислоту, обнаружили, что накопление ИУК происходит только в нестерильных условиях, т. е. в присутствии микроорганизмов. Из стерильных растений выделялись лишь следы ауксина. Когда же стерильные растения заражали смесью эпифитных бактерий или отдельными культурами бактерий, то вновь выявлялось заметное количество экстрагируемой ИУК. Для подтверждения способности эпифитных бактерий превращать триптофан в индолилуксусную кислоту было выделено с растений гороха и изучено 109 культур микроорганизмов; из них 58 накапливали в среде с триптофаном индолилуксусную кислоту. Исходя из этих данных, авторы приходят к выводу, что бóльшая часть гетероауксина, который находят в экстрактах нестерильных растений, образуется не растениями, а эпифитной микрофлорой.

Таким образом, можно считать доказанным, что на растениях присутствуют микроорганизмы, способные выделять в процессе своей жизнедеятельности не только витамины, но и гетероауксин, оказывающие влияние на рост растений.

Таблица 23

Образование гетероауксина культурами эпифитных микроорганизмов

Культура	Величина пятна на хроматограмме (*см*)	Количество гетероауксина (*мкг* на 100 *мл* среды)*	Качественная оценка способности культур образовывать гетероауксин	
			без триптофана	с триптофаном
Среда № 19 (контроль) . .	0	0	—	+
Ps. fluorescens	0	0	—	++
То же	2,1	35	+	++
Ps. aurantiaca	0	0	—	+
То же	0	0	—	+
» »	0	0	—	+
Ps. liquefaciens	1,7	24	+	+
Ps. resinacea	0	0	—	++
Ps. cruciviae	2,2	33	++	++
Bact. nitrificans	0	0	—	++
Bact. agile	0	0	—	++
Bact. coli	0	0	—	+
Bact. coli-aerogenes	2,5	40	++	++
Chr. aurantiacum	2,1	34	++	+
Myc. album	2,4	38	++	
То же	0	0	—	
» »	0	0	—	
Myc. phlei	1,8	24	+	
Myc. rubrum	2,4	38	++	—
То же	1,3	18	±	
Mycoc. luteus	1,5	21	+	
Psdb. lacticum	1,3	18	+	
То же	1,4	20	+	
» »	1,4	20	+	+
Sarc. flava	0	0	—	
Promyxobact. johnsonii . .	0	0	—	—
То же	0	0	—	—
Rhodotorula	0,9	13		++
То же	0,9	12	+	+
Cryptococcus	1,5	21	+	+
Bac. megaterium	1,5	21	+	
Не определен	0	0	—	+
Pullularia	2,9	46	++	+++
Ps. radiobacter**	0	0	—	
Chr. chlorinum**	0	0	—	

* Количество гетероауксина определено сравнением со стандартной шкалой. Описание метода см. на стр. 208.

** Не стимулятор.

ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБОВ-СТИМУЛЯТОРОВ ДЛЯ РАСТЕНИЙ

Способность растений поглощать микробные метаболиты. В последнее время доказано, что в растения могут проникать многие органические вещества, продуцируемые микроорганизмами. Например, установлено, что нативные (неочищенные) антибиотики, полученные из ризосферных микроорганизмов—Bact. liquefaciens, Ps. fluorescens, Bact. nitrificans и Ps. denitrificans, — всасываются корнями растений. Это явилось принципиальным доказательством возможности усвоения растениями целых молекул органических соединений (Н. А. Красильников, 1951). То же подтверждено и в опытах со стрептомицином, который из замоченных в нем семян проникал в ростки и корешки проростков, а в дальнейшем — в растения ячменя и люцерны.

О наличии стрептомицина в тканях растений можно было судить по количеству микроорганизмов на поверхности растений — оно стало меньше, чем в контроле (А. А. Клинцаре, 1963).

Имеются наблюдения о поступлении в растения некоторых аминокислот — гликокола, аспарагиновой, глютаминовой, аргинина. В опытах с меченым тирозином (C^{14} в карбоксиле) доказано поглощение тирозина корнями в неизмененном виде (Е. И. Ратнер, И. И. Колосов и др., 1956). Установлено, что растения способны усваивать через корневую систему и другие органические соединения, являющиеся продуктами жизнедеятельности микроорганизмов, — витамины, ауксины, гиббереллины, спирты, некоторые органические кислоты, гуминовые кислоты, продукты автолиза гиф микоризных грибов и клеток клубеньковых бактерий.

Для подтверждения способности растений поглощать витамины, образуемые микроорганизмами, Г. М. Шавловский (1954) выращивал культуры Ps. aurantiaca и дрожжей Torulopsis на среде с витамином B_1, содержащим радиоактивный изотоп серы, а затем клетки промывал и вносил на семена гречихи. При этом наблюдалась передача растению меченого витамина B_1, входившего ранее в состав микробных тел. Однако в работе осталось невыясненным, поступает ли в растение целая молекула витамина или продукты его распада, содержащие S^{35}.

Для решения этого вопроса Е. И. Ратнер и И. Н. Доброхотова (1956) провели специальные исследования. Они выращивали подсолнечник в течение 1,5 месяцев в сосудах с песком, затем подкармливали их витаминами (по 25 *мг* на 8 *кг* песка), через сутки растения срезали и в пасоке определяли витамины. Таким способом молекулы витамина перехватывали по пути их поступления в надземные органы. Обнаружили (в *мг* на 1 *мл* пасоки): B_1 в контроле — 0,090, в варианте с подкормкой — 0,158; B_3 в контроле — 0,008, в варианте с подкормкой — 0,109. Этими исследованиями было подтверждено поступление в растения целых молекул витаминов.

Установлено также, что бактерии Ps. fluorescens, содержащие тиамин, меченный S^{35}, за 10 дней передавали проросткам пшеницы 15—16% поглощенного ими ранее из питательной среды витамина (Н. М. Дацюк, 1965).

Обогащение почвы азотобактером приводило к повышению содержания витаминов не только в самой почве, но и в проростках овса, выращиваемых на этой почве. Количество тиамина и пиридоксина повышалось на 36—82%. Инокуляция семян голозерного овса ауксоавтотрофными микроорганизмами приводила к повышению содержания витаминов в проростках, выросших из этих семян. Так, в контроле было обнаружено тиамина 11,2 *мкг* в 1 *г* сухого вещества, а в варианте с Ps. aurantiaca — 13,1 *мкг,* пиридоксина — соответственно 6,1 и 6,8 *мкг* (А. Г. Гебгардт и С. И. Ковальчук, 1958; А. Г. Гебгардт, 1961). Аналогичные результаты были получены в результате бактеризации семян сахарной свеклы бактериями-активаторами, приведшей к увеличению количества некоторых витаминов в корнеплодах. Например, количество пиридоксина возросло с 0,10 *мкг* в контроле до 0,19 *мкг* в варианте с бактеризацией, количество рибофлавина — с 4,0 до 4,4—6,4 *мкг* на 1 *г* абсолютно сухого веса зеленой массы (А. А. Образцова, М. Б. Петренко, М. С. Клищевская, 1961).

При обработке семян бактериями — продуцентами витамина B_1 и биотина — наблюдалось повышение содержания витаминов в растениях пшеницы в полевых условиях. Так, содержание биотина в зерне в контроле было 0,36 *мкг* на 1 *г,* а в варианте с Ps. sinuosa — 0,52 *мкг,* содержание B_1 — соответственно 9,5 и 10,0 *мкг* (В. Т. Смалий, 1961).

Таким образом, корневая система растений поглощает витамины, синтезируемые микроорганизмами. Однако повышение содержания витаминов в растениях происходит не только за счет непосредственного их поглощения из почвы, но и за счет стимулирования синтеза этих веществ самим растением благодаря активированию обмена веществ в растительном организме.

Выше указывалось, что исследованиями по внекорневым подкормкам было установлено поглощение различных веществ листьями растений. Доказано поступление через листовую поверхность минеральных элементов (H. Tukey u. H. Tukey, 1962 и др.) и сложных органических соединений — витаминов (Ю. В. Ракитин и К. Е. Овчаров, 1948), антибиотиков (Н. А. Красильников, 1951), аминокислот (Е. И. Ратнер и И. И. Колосов и др., 1956), гиббереллинов (М. Х. Чайлахян, 1961 и многие другие), ауксинов (Н. И. Якушкина, 1949 и др.).

Улучшение роста растений в результате воздействия различных микроорганизмов также подтверждает проникновение в них микробных метаболитов.

В многочисленных работах Н. А. Красильникова приводятся данные, показывающие, что фильтраты микробных культур в малых концентрациях оказывают положительное влияние на рост отрезков изолированных корней. Обработка семян пшеницы взвесями некоторых бактерий влияет на рост проростков, причем действие их различно, что зависит от вида микроорганизма и объясняется различным составом метаболитов у разных видов. Действие бактерий на растения проверялось автором не только в лабораторных условиях, но и в полевых. Из большого числа опытов во многих была получена прибавка урожая при обработке семян культурами Ps. fluorescens, олигонитрофилами или азотобактером.

Обработка семян и чубуков винограда разными видами ризосферных бактерий в опытах Т. Е. Поповой (1954, 1957) приводила к увеличению процента проросших семян и к усилению роста проростков и корней. По данным этого автора, культуры Ps. fluorescens, Ps. liquefaciens, Ps. radiobacter, Bact. liquefaciens стимулировали рост хлопчатника и люцерны в раннюю фазу их развития.

Стимулирующий эффект, получаемый от микроорганизмов, особенно резко проявляется при выращивании

растений в стерильных условиях. Так, вес проростков овса в присутствии Ps. radiobacter повысился на 65% по сравнению с контролем, в присутствии Flavobact. solare — на 42, а в присутствии Achromobact. globiforme — на 30% (М. В. Федоров и Д. Пантош, 1958). В опытах с просом увеличение веса проростков при Ps. radiobacter составило 59%, при Chromobact. rheni — 65 и Promyxobact. flavum — 154% (Ю. М. Возняковская и Г. К. Жильцова, 1960).

Е. Х. Ремпе и О. Г. Калтагова (1965) обнаружили положительное действие некоторых отобранных ими корневых микроорганизмов на урожай овса в вегетационном и мелкоделяночном полевом опытах. Бактеризовали семена и почву. Урожай с делянки составил: в контроле — 4,84 *кг*, с культурой № 197 — 5,60, с культурой № 198 — 5,67 *кг* и т. д. Аналогичные результаты получены многими другими исследователями.

Влияние микробов-стимуляторов на обмен веществ растений. Действие различных стимуляторов роста на растение осуществляется через их влияние на обмен веществ растительного организма. При этом в клетках тканей, обогащенных этими веществами, усиливается дыхательный газообмен, увеличивается активность ряда ферментов, повышается интенсивность фотосинтеза и т. д. (И. В. Мосолов и Л. В. Мосолова, 1959; К. Е. Овчаров, 1953 и др.).

В микробных метаболитах содержится комплекс веществ, что может иметь положительное значение при их воздействии на растения, поскольку известно, что комбинированное применение стимулирующих препаратов в ряде случаев приводит к повышению их эффективности. Например, обработка черенков гороха одним тиамином или одной индолилуксусной кислотой слабо влияла на образование у них корешков, а совместное действие этих веществ было в несколько раз эффективнее (F. Went, J. Bonner, G. Warner, 1938). При совместном применении гетероауксина с никотиновой кислотой объем корневой системы сеянцев ясеня американского увеличивался на 41% по сравнению с объемом корней при использовании только гетероауксина (В. Ф. Верзилов, 1949). По наблюдениям К. Е. Овчарова (1953), среднее количество корней на одно растение у черенков камелии при их обработке одной индолилуксусной кислотой было 3, а при

обработке индолилуксусной кислотой совместно с тиамином — 67.

Корешки у перевернутых черенков лимона образовывались на апикальных концах только в том случае, если их, помимо гетероауксина, обрабатывали еще и витаминами — аскорбиновой кислотой и тиамином. При обычном положении черенков действие витаминов было слабее. Очевидно, витамины способствовали образованию веществ, необходимых для корнеобразования. В перевернутых черенках питательные вещества к ним не поступают, так как нарушается процесс их обычного передвижения (М. Х. Чайлахян и Т. В. Некрасова, 1956).

В связи с накопившимися в последнее время фактами о положительном влиянии некоторых микроорганизмов на энергию прорастания семян и рост растений появилась необходимость установить сущность их действия. Это позволило бы объяснить, от чего зависит стимулирующий эффект на ранних и более поздних стадиях развития растений, а также установить, какие изменения происходят в растениях, выросших из семян, обогащенных продуктами жизнедеятельности микробов-стимуляторов, и проследить, как протекают физиологические процессы у обработанных и необработанных растений и как при этом изменяется качество урожая.

Можно считать наиболее вероятным, что основным действующим началом метаболитов микробов-стимуляторов являются витамины и отчасти гетероауксин. Это подтверждается следующим: при отборе микробов-стимуляторов из большого количества культур наряду с активными стимуляторами выявляются также культуры слабодействующие или совсем неактивные, т. е. не стимулирующие рост проростков. Сравнительное изучение активных и неактивных культур показало, что они резко различаются по способности синтезировать витамины (табл. 24).

Аналогичные наблюдения приводятся Е. Х. Ремпе и О. Г. Калтаговой (1965), которые обнаружили в десятки раз большее количество пантотеновой и никотиновой кислот и тиамина в культурах выделенных ими стимуляторов по сравнению с нестимулирующими культурами.

Усиление энергии прорастания семян, обогащенных микробными метаболитами, взятыми в оптимальных кон-

Таблица 24

Содержание витаминов в клетках разных микроорганизмов и действие их метаболитов на рост проростков
(в *мкг* на 1 *г* сухих клеток)

Вид микроорганизма	№ культуры	Тиамин (B_1)	Пантотеновая кислота (B_3)	Никотиновая кислота (PP)	Пиридоксин (B_6)	Влияние на рост проростков
Promyxobact. johnsonii	426	80	620	200	90	Стимуляция
Chr. aurantiacum .	650	40	428	400	32	»
Chr. chlorinum . . .	521	0	23	0	5	Нет
Ps. desmolyticum . .	473	10	0	0	18	»

центрациях, по сравнению с семенами, замоченными в воде, может происходить только благодаря активированию в них биохимических процессов, так как в этот период проростки развиваются исключительно за счет запасных питательных веществ семени.

Уже через сутки после замачивания сухих семян в разведенных культуральных жидкостях микробов-продуцентов витаминов, т. е. еще до появления проростков, можно наблюдать заметное усиление энергии дыхания семян, которое является следствием активирования соответствующих ферментных систем (Ю. М. Возняковская и Ю. С. Осленкин, 1965). У семян кукурузы или ржи, замоченных на 12 часов в культуральных жидкостях микробов-стимуляторов № 426, 171 и 650* и выдержанных во влажной камере при 25° в течение 12 часов, усиливалась энергия дыхания. Количество поглощенного кислорода в единицу времени, учтенное на респирометре Варбурга, было значительно больше у обработанных семян, чем у семян, замоченных в воде (табл. 25).

Активность ферментов в растениях может варьировать в связи с изменениями, происходящими в растительных тканях под влиянием различных факторов: минерального питания, водного режима, освещения, температуры и пр. Из этих факторов немаловажная роль принадлежит и физиологически активным веществам, в

* Культуральные 8-суточные жидкости, разведенные водой до оптимальной концентрации: для культуры № 426 — в 200 раз, для культуры № 171 — в 300 раз и для культуры № 650 — в 500 раз.

Таблица 25

Энергия дыхания семян кукурузы и ржи после их замачивания в культуральных жидкостях микробов-стимуляторов
(поглощение O_2 в микролитрах)

В чем замочены семена	Энергия дыхания семян			
	кукурузы		ржи	
	за час на 1 *г* веса сырых семян	среднее	за час на 1 *г* веса сырых семян	среднее
Вода (контроль)	106,22 125,75	115,98	128,61 119,32	123,96
К. ж. культуры: 426	155,14 144,53	149,83	177,73 156,83	167,28
171	132,26 151,51	141,88	147,26 126,82	137,04
650	149,13 129,13	139,13	155,63 156,32	155,97

частности витаминам. Ряд витаминов входит в состав ферментов; например, тиамин — в пируват декарбоксилазы, никотиновая кислота — в дегидразы, пантотеновая кислота — в кофермент А, пиридоксин — в состав ферментов, катализирующих превращения аминокислот, рибофлавин — в окислительно-восстановительные ферменты и т. д.

Активирование ферментативных процессов в семенах под влиянием диффундировавших в них витаминов и других микробных метаболитов отражается в дальнейшем на физиологических процессах, протекающих в проростках и в растениях на более поздних стадиях их развития, что в конечном счете приводит к повышению урожая и во многих случаях к улучшению его качества. Это подтверждается данными ряда исследователей. Так, при обогащении корневой системы кукурузы или пшеницы азотобактером в растениях повышалась активность ферментов, увеличивалось содержание хлорофилла (Л. Г. Бранцевич, 1963). При бактеризации семян кукурузы комплексом бактерий-активаторов увеличивалось содержание белкового азота в зеленой массе бактеризованных вариантов с 4,16 до 6,32—7,02 *мг* на 100 *мг* аб-

солютно сухого веса проростков, повышалось также содержание некоторых витаминов и аминокислот, особенно метионина, аспарагиновой и глютаминовой кислот (А. А. Образцова, М. Б. Петренко, М. С. Клищевская, 1961).

По нашим данным при замачивании семян моркови в разведенной культуральной жидкости микроба-стимулятора 426 в корнеплодах, выросших из этих семян в условиях вегетационного опыта, содержание каротина повысилось на 103%, а содержание сахара — на 33%. Замачивание же семян в растворе витаминов (смесь из 5 витаминов группы В) дало аналогичные результаты — содержание каротина увеличилось на 76%, а содержание сахара — на 90%.

А. И. Тютюнников и В. А. Пронин наблюдали, что при выращивании без микроорганизмов бобы развивались плохо: сухой вес одного растения составил 1,07 *г*, тогда как в варианте с микроорганизмами он равнялся 3,01 *г*. При этом активность каталазы и пероксидазы в листьях в вариантах без микроорганизмов была низкой во все фазы развития растений.

При отсутствии бактерий снижалась также и интенсивность фотосинтеза.

Ю. М. Возняковская и У. С. Нуржанов (1965) определяли активность некоторых окислительных и гидролитических ферментов, а также содержание хлорофилла в растениях кукурузы, выросшей из семян, замоченных в культуральных жидкостях микробов-стимуляторов. Анализировали 4-суточные проростки и растения в фазу 8—10 листьев. В качестве контроля служили растения, выросшие из семян, замоченных в воде. Оказалось, что микробные метаболиты повысили активность окислительных и гидролитических ферментов, причем стимулирующий эффект, который наблюдался в начальный период роста, сохранился и в дальнейшем. Исключение составила полифенолоксидаза, активность которой не повысилась в момент прорастания, а проявилась позже. Содержание хлорофилла в листьях кукурузы к концу вегетации увеличилось примерно на 26%, а урожай зеленой массы повысился на 15% (табл. 26 и 27).

Обширный материал по влиянию комплексов корневых микроорганизмов и отдельных культур-стимуляторов на активность физиологических процессов и урожай

Таблица 26

Активность окислительных ферментов в проростках и листьях кукурузы, выросших из семян, обогащенных микробными метаболитами

В чем замочены семена	Активность окислительных ферментов						
	в проростках 4-суточных*				в растениях в фазу 8—10 листьев		
	в листьях		в корешках				
	полифенолоксидазы (*мл* 0,01н. иода)	пероксидазы (*мл* 0,01н. иода)	полифенолоксидазы (*мл* 0,01н. иода)	пероксидазы (*мл* 0,01н. иода)	полифенолоксидазы (*мл* 0,01н. иода)	пероксидазы (*мл* 0,01н. иода)	каталазы (*мл* 0,1н. $KMnO_4$)
Вода (контроль)	1,02	5,28	0,32	8,84	0,86	9,36	54
К. ж. культуры: 171 . .	0,34	8,58	0,32	12,98	1,36	11,06	96
513 . .	0,52	7,82	0,52	9,18	1,20	14,74	206
650 . .	0,17	12,92	0,68	7,48	2,38	10,54	136

* Вес проростков см. в табл. 27.

Таблица 27

Влияние культуральных жидкостей микробов-стимуляторов на обмен веществ и урожай кукурузы

В чем замочены семена	Гидролитические ферменты		Хлорофилл (*мг* на 100 *г* сырого вещества)		Урожай (*г*)	
	протеаза (*мг* аминного азота на 10 *г* сырого вещества)	инвертаза (*мг* инвертного сахара на 10 *г* сырого вещества)	в фазу 8—10 листьев	к концу вегетации	сухой вес 100 проростков	средний вес на 1 сосуд ($M \pm m$)
Вода контроль	0,0190	115	120	58	28,0	283±12
К. ж. культуры: 171 . .	0,0497	160	165	73	32,9	328±11
513 . .	0,0602	168	176	74	32,5	349±14
650 . .	0,0287	152	90	73	33,8	331±12

овса приводится в работах Е. Х. Ремпе и О. Г. Калтаговой (1962, 1965). Авторами показано, что в присутствии микроорганизмов растения растут лучше, чем в стерильных условиях: увеличивается содержание хлорофилла и свободных аминокислот, а также усиливается активность ферментов. Интенсивность физиологических процессов, протекающих в клетках и тканях растений, сказывается на поглощении ими питательных веществ из окружающей среды. Это было установлено ранее многочисленными работами физиологов растений.

И. И. Колосов (1962) пишет: «Поглощаемые вещества, вступая в связь с веществами плазмы, включаются в обмен, протекающий в клетках и тканях растений. При этом они претерпевают соответствующие превращения и входят в состав вновь образуемых синтезируемых веществ или способствуют синтезу веществ, необходимых для роста и развития организма. Отсюда следует, что поглощение веществ должно быть тесно связано с обменом их в клетках, тканях и органах растений».

Еще в 1952 г. И. И. Колосов, используя методы стерильных культур и радиоактивных изотопов, установил, что в растениях кукурузы процессы превращения поглощаемых минеральных соединений азота и фосфора в органические соединения в присутствии комплекса корневых микроорганизмов происходят быстрее, чем в растениях, выросших в стерильных условиях (табл. 28).

Таблица 28

Содержание разных форм органического азота в пасоке кукурузы в зависимости от интенсивности синтеза их растением из поглощенных минеральных солей

Растения	Амиды и амины (*мг*), подаваемые 1 *г* корней (по капельному методу)	Азот органических соединений (*мг*), подаваемый 1 *г* корней (по разности)	Процент органического азота от общего количества	
			по капельному методу	по разности
Стерильные . .	1,309	1,191	32,33	30,84
Зараженные* . .	1,562	1,960	44,22	53,01

* 11-дневные растения заражались комплексом микроорганизмов, смытых с корней кукурузы, выращенной на полевом участке.

В 1965 г. Е. Х. Ремпе и О. Г. Калтагова доказали влияние как комплексов корневой микрофлоры, так и отдельных представителей микробов-стимуляторов на поглощение кислорода и поступление элементов питания в растения. Эти авторы подтвердили связь между поглощением веществ корнями и их дыханием, которое является одним из основных показателей жизнедеятельности растительных тканей (табл. 29).

Ю. В. Круглов и Л. Б. Сирота (1961) выращивали кукурузу в стерильном питательном растворе и в растворе с добавлением некоторых корневых микроорганизмов. Через 5 недель выросшие растения переносили на несколько часов в раствор, содержащий радиоактивный изотоп фосфора (P^{32}), а затем определяли поступление фосфора в листья. Оказалось, что в варианте с микроорганизмами поступление P^{32} в растение ускорилось в 2,5 раза.

Таким образом, в настоящее время можно считать установленным, что продукты жизнедеятельности микроорганизмов и в первую очередь содержащиеся в них витамины оказывают стимулирующее влияние на обмен веществ в растениях, в связи с чем усиливается поглощение питательных элементов корневой системой.

Отзывчивость разнокачественных семян на обработку их микробными метаболитами. Ростовые процессы, происходящие в семенах, — это сложный комплекс ферментативных реакций, энергия и скорость которых зависят от обеспеченности семян разными веществами и от их соотношения в семенах. Большое значение среди этих веществ принадлежит витаминам, содержание которых находится в зависимости от условий выращивания материнских растений, от местоположения семян в колосе и от множественности или избирательности оплодотворения при опылении (И. Г. Строна, 1962, 1966; К. Е. Овчаров, 1964 и др.).

Во многих случаях замачивание семян в растворах витаминов дает положительный эффект, т. е. стимулирует энергию прорастания (К. Е. Овчаров, 1953; Л. А. Люкова, 1958 и др). Однако обычно наблюдается неодинаковая отзывчивость семян на предпосевную обработку стимуляторами прорастания, в том числе витаминами и содержащими витамины культуральными жидкостями микробов-стимуляторов или живыми бактерия-

Таблица 29

Концентрация элементов питания в растениях кукурузы в фазе 11 листьев и активность дыхания ее корней в зависимости от видов микроорганизмов, внесенных на корни

Вариант опыта	Вес одного растения (*г*)	Поглощение O_2 корнем (*мл* в час на 1 *г* сухого вещества)	Концентрация элементов питания											
			в пасоке (*мг* на 100 *мл*)					в надземной массе (%)			в корнях (%)			
			NH_4	NO_3	аминокислоты	общий азот	P_2O_5	N	P	K	N	P	K	
Стерильные растения	14,7	297	6,8	29,6	41	25	44	2,50	1,1	4,27	1,90	1,01	2,48	
Комплекс корневых бактерий	16,0	598	2,4	43,7	49	30	67	2,81	1,4	5,08	2,20	1,15	2,92	
Нестимулирующая культура № 1	11,2	296	5,8	33,3	36	25	31	2,56	1,1	4,38	1,98	0,95	2,64	
Стимулирующая культура № 4	16,1	432	3,1	42,9	44	28	51	2,73	1,2	5,07	2,25	1,19	2,77	

ми — продуцентами этих веществ. Так, Е. Г. Кизилова и К. Е. Овчаров (1965), исследуя семена кукурузы гибрида Буковинский 3, взятые из разных частей початка, обнаружили их физиологическую разнокачественность, которая выражалась в том, что семена обладали разной энергией прорастания, содержали разное количество тиамина, рибофлавина и никотиновой кислоты и по-разному отзывались на обогащение их растворами витаминов.

Замачивание семян кукурузы ВИР 42, полученных при разных условиях репродукции, в культуральных жидкостях микробов — продуцентов витаминов — приводило к различной степени стимуляции их энергии прорастания. Вес проростков увеличивался от 0 до 24% по сравнению с их весом у семян, замоченных в воде (Ю. М. Возняковская и У. С. Нуржанов, 1965).

Приведенные данные позволяют предполагать, что получаемый в ряде случаев колеблющийся эффект при обработке семян бактериальными удобрениями (азотобактерином и фосфоробактерином) также можно объяснить разной степенью отзывчивости семян на бактеризацию.

Давно установлено, что урожайные качества семян неодинаковы и зависят не только от наследственных свойств сорта, но также и от условий выращивания материнских растений. В связи с этим в работах по семеноводству и семеноведению уделяется серьезное внимание разработке агроприемов, повышающих качество семян. Замечено, что более урожайными и полноценными являются семена, полученные с высокого агротехнического фона. Для такого фона характерно присутствие активно действующей полезной микрофлоры.

Разнокачественность семян выявлена опытами ряда исследователей, которые выращивали растения на различно удобренных почвах, а затем полученные семена высевали в одинаковых условиях. Например, семена яровой пшеницы, собранные с растений, выросших на кислой дерново-подзолистой почве и на перегнойно-карбонатной почве, дали урожай соответственно 15,4 и 26,3 *ц* с 1 *га* (А. И. Шевлягин, 1953). Даже один период вегетации оставляет след в семенном потомстве.

О. А. Карлинский (1965) изучал последействие двух- и трехкратного высева семян пшеницы на фонах: без

удобрений, среднеудобренном ($N_{45}P_{60}K_{60}$) и высокоудобренном ($N_{45}P_{120}K_{120}$). Семена, полученные после двукратного выращивания на этих агрофонах, высеяли в одинаковых условиях по фону $N_{45}P_{60}K_{60}$. Их урожай составил соответственно 25,5; 34,2; 37,5 *ц* с 1 *га*, а после трехкратного выращивания — 22,5; 30,5; 35,2 *ц* с 1 *га*.

Сравнение урожайных качеств семян одних и тех же сортов, но полученных с разных селекционных станций, при высеве в одинаковых условиях Московской области показало очень большую разницу в урожаях. Например, урожай ячменя колебался от 8,4 до 14,2 *ц* с 1 *га* (К. С. Митрофанова, 1949).

Повышению качества посевного материала следует уделять самое серьезное внимание. Между тем такой важный вопрос, как сущность последействия различных факторов на семена находится еще в начальной стадии изучения. В том числе не установлена роль микрофлоры, синтезирующей полезные для растений вещества и, как мы видели, по-разному размножающейся при разных условиях выращивания растений.

В 1939 г. Леонг (P. Leong) попытался определить содержание тиамина в пшенице и ячмене, росших на почве, удобренной навозом и минеральными удобрениями, но четких результатов не получил. Однако Шарер и Прейснер (K. Scharer и R. Preissner, 1954) на основании своих исследований пришли к выводу, что чем полнее смесь удобрений, тем больше в растениях витаминов. Они обнаружили у растений с бедного фона 549 *мкг* тиамина, а с богатого — 726 *мкг* на 100 *г* массы. Обычно семена, полученные с удобренных фонов, для которых характерно и активное размножение микрофлоры, дают более сильные ростки. Это объясняется повышенной интенсивностью протекающих в них биохимических процессов.

Следует иметь в виду, что положительное влияние дополнительного обогащения семян витаминами на повышение энергии их прорастания может сказаться только в случае, если семена обогащены другими необходимыми питательными и стимулирующими веществами и при наличии благоприятных условий внешней среды. Дальнейшее проявление стимуляции роста и развития растений в большой степени зависит от условий их питания, наличия влаги и пр. Стимуляция ростовых процессов в

растениях приобретает большое значение в связи с возросшими масштабами применения минеральных удобрений и недостатком органических, особенно под зерновые культуры.

Органические удобрения — навоз, компосты, торф — служат (наряду с другими их положительными качествами) дополнительным источником физиологически активных веществ для растений. Кроме того, они в большей степени, чем минеральные удобрения, стимулируют размножение ризосферной микрофлоры, являющейся также активным поставщиком этих веществ. Действительно, несмотря на все большее применение минеральных удобрений, часто наблюдается снижение качества семян. На научно-методическом совещании, посвященном вопросам повышения качества зерна колосовых культур (И. И. Василенко, В. Д. Рыбакова, 1967), подчеркивалось, что нужны глубокие исследования, чтобы вскрыть причины снижения качества зерна и разработать эффективные приемы повышения его качества. К таким приемам в первую очередь могут быть отнесены создание высокого уровня агротехники, применение внекорневых подкормок, особенно азотных, соблюдение оптимальных соотношений элементов питания и т. д.

Для того чтобы зерно сильных пшениц получалось высокого качества, т. е. содержало 17—19% белка и 37—38% клейковины, синтез веществ в растении должен проходить очень интенсивно. Следовательно, растение должно быть обеспечено не только элементами минерального питания, но и физиологически активными веществами. Установлено, что изменение условий питания растений изменяет содержание в них естественных эндогенных ростовых веществ. Так, аммиачный азот способствует синтезу ауксинов и их передвижению к главному корню, но в его присутствии уменьшается количество гиббереллинов (Л. Н. Воронина, 1967).

Удобрения влияют на размножение микроорганизмов, синтезирующих витамины и ауксины; в присутствии удобрений из семян, обработанных стимуляторами, вырастают более мощные растения по сравнению с необработанными или по сравнению с выращенными по бедному фону.

Помимо перечисленных факторов, определяющих отзывчивость семян на их обработку витаминами, надо

учитывать, что гибридные семена всех видов растений слабо отзываются на их обогащение витаминами. Это объясняется тем, что при гибридизации достигается «доукомплектование» физиологически активных веществ. Поэтому у гетерозисных гибридов этих веществ обычно больше, чем у самоопыленных линий.

На основании этого наблюдения предложен метод определения разнокачественности скрещиваемых линий. Этот метод заключается в учете активности роста дрожжей Saccharomyces cerevisea (используемых в качестве тест-организма) в экстрактах из тканей родительских форм и в экстрактах из их смеси. Если на таких смесях рост дрожжей усиливается, то это является одним из показателей разнокачественности линий. В результате скрещивания таких линий получаются гетерозисные гибриды. Такой прогноз подтвердился в опытах с растениями (Ф. Ф. Мацков, С. Г. Манзюк, 1961; С. Г. Манзюк, Л. В. Закревская, 1966).

Приведенные выше материалы до некоторой степени объясняют причины различной степени отзывчивости разных партий семян на их обработку стимулирующими веществами, в частности витаминами и бактериальными препаратами.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПОВЫШАЮЩИХ ЭНЕРГИЮ ПРОРАСТАНИЯ И УРОЖАЙНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН

Пути использования полезных микроорганизмов. Имеются наблюдения, которые показывают, что даже кратковременное (как положительное, так и отрицательное) воздействие на семена в период их прорастания вызывает последействие, влияющее на урожай. Это объясняется тем, что биохимические процессы, протекающие в фазу прорастания семян, связаны цепной реакцией с последующим ходом обмена веществ в растущем растении. Например, при проращивании семян ячменя в течение 2,5 суток в условиях недостаточной аэрации наблюдалось снижение урожая на 43,1%. Проращивание семян донника в карбонатной почве перед их высевом в кислую подзолистую, наоборот, способствовало повышению урожая на 56% по сравнению с урожаем, получен-

ным от семян, высеянных сразу в кислую почву (Э. К. Халлер, 1964). Аналогичные результаты получены с люцерной, урожай которой повысился на 28% в том случае, когда семена высевали в произвесткованный верхний слой кислой почвы.

Из сказанного вытекает практическая значимость работ по предпосевной стимуляции семян. Для этой цели используют навозную жижу, вытяжки из прорастающих семян и почек, микроэлементы, препараты гуминовой кислоты, витамины; при этом в большинстве случаев получают положительный эффект (П. И. Блузманас, 1959; К. Е. Овчаров, 1964; Л. А. Христева, 1961 и др.). Установлено, что действие применяемых стимулирующих веществ зависит от их влияния на ферментативные процессы, протекающие в семенах, на дыхание семян и на содержание в них витаминов.

Естественно, встал вопрос о практическом использовании некоторых микроорганизмов, являющихся продуцентами физиологически активных веществ, для стимуляции энергии прорастания семян. Особенно большое внимание привлекли к себе виды, способные к биосинтезу витаминов.

Синтетические препараты витаминов или препараты, выпускаемые витаминной промышленностью из природного сырья, пока дóроги и их недостаточно для того, чтобы использовать в растениеводстве. Поэтому перспективным является применение культуральных жидкостей микроорганизмов, содержащих комплекс различных витаминов, или внесение в почву микробов — продуцентов этих веществ.

Повышение урожая растений за счет полезных свойств микроорганизмов может осуществляться несколькими способами: 1) бактеризацией семян видами бактерий, размножающимися в ризосфере и накапливающими в процессе своей жизнедеятельности элементы питания растений в доступной форме или стимулирующими прорастание семян; 2) внесением с семенами бобовых растений активных клубеньковых бактерий, внедряющихся в корни и затем размножающихся в клубеньках; 3) обогащением поверхности растений антагонистами или путем применения получаемых из них антибиотиков против некоторых фитопатогенных видов; 4) замачиванием семян в густых клеточных суспензиях микробов —

продуцентов физиологически активных веществ; 5) замачиванием семян в культуральных жидкостях, содержащих метаболиты микробов-стимуляторов.

Бактеризация семян. В настоящее время основным способом практического использования микроорганизмов является метод бактеризации семян активными живыми культурами бактерий. Этот метод широко распространен благодаря хорошо налаженному производству бактериальных препаратов, их транспортабельности, возможности длительного хранения и разработанности способов применения.

Препараты — нитрагин, фосфоробактерин и азотобактерин — называют бактериальными удобрениями. Действие этих препаратов рассчитано на то, что входящие в их состав бактерии, внесенные вместе с семенами, размножаются в ризосфере, на корнях или в корнях растений и в процессе своей жизнедеятельности проявляют полезные для растений свойства.

Действующее начало нитрагина — клубеньковые бактерии; они проникают в корни бобовых растений и симбиотически с ними сожительствуют. В этих условиях происходит активное связывание атмосферного азота, который используется растениями и полностью покрывает их потребность в этом элементе.

Азотобактерин и фосфоробактерин предназначены для того, чтобы интенсифицировать в ризосфере процессы, приводящие к улучшению условий питания растений. Они создавались по аналогии с нитрагином, который в тридцатых годах уже зарекомендовал себя как вполне эффективное средство повышения урожая бобовых культур. Поэтому для растений других семейств, на корнях которых не образуются клубеньки, подбирали микроорганизмы, обладающие свойствами накапливать в качестве продуктов своей жизнедеятельности основные элементы питания растений — азот, фосфор, калий. Отбирали те виды, у которых это свойство было выражено наиболее ярко. Теоретическое обоснование применения бактериальных препаратов сводилось к следующему: азотобактер улучшает азотное питание растений за счет фиксации азота атмосферы, фосфорные бактерии улучшают фосфорное питание за счет превращения недоступных для растений органических соединений фосфора в растворимые фосфаты, силикатные бактерии улуч-

шают калийное питание за счет разложения алюмосиликатов.

В настоящее время стало очевидным, что такой односторонний подход к бактериальным удобрениям был ошибочным, так как установлено, что их действие значительно многообразнее. Накоплено большое количество данных, доказывающих стимулирующее влияние азотобактера и фосфорных бактерий на растения (K. Bürger и F. Buckatsch, 1956; А. Г. Гебгардт, 1961 и др.). Экспериментально подтверждено, что азотобактер и фосфорные бактерии (Bac. megaterium разновидность phosphaticum) обладают способностью синтезировать витамины и гетероауксин (табл. 30 и 31).

Таблица 30

Биосинтез витаминов Azotobacter chr. и Bac. megaterium
(в *мкг* на 1 *г* веса сухих клеток)

Микроорганизм	№ штамма	B_1	PP	B_3	B_6	B_7	B_{12}
Azotobacter chr.	53	96	350	596	4,2	12	0
	28	70	241	33	5,7	3,5	0
Bac. megaterium	56	30	825	103	22,0	0,15	17,6

Примечание. Данные обобщены А. Н. Наумовой и др., 1962.

Таблица 31

Биосинтез гетероауксина Azotobacter chr. и Bac. megaterium
(по А. Т. Новиковой и Л. Д. Иртугановой, 1966)

Микроорганизм	№ штамма	Образовано гетероауксина (*мкг* на 100 *мл* среды)
Azotobacter chr.	53	400
	P	320
Bac. megaterium	2-56	160
	П-57	76
	3	28
	49	12
	29	0

А. Н. Наумова, Е. Н. Мишустин и В. М. Марьенко (1962) благоприятное действие бактеризации на сельскохозяйственные растения объясняют воздействием в значительной степени биологически активных веществ, продуцируемых внесенными бактериями.

Успех использования несимбиотических микроорганизмов при бактеризации семян зависит от приживаемости культур в зоне корней, так как только при размножении внесенных микроорганизмов будут накапливаться продукты их жизнедеятельности и таким образом будет осуществляться влияние их на почвенную среду и на растение.

В связи с этим исследователей интересовал вопрос о выживаемости микроорганизмов, вносимых вместе с семенами. Так, Кларк (F. Clark, 1948), учитывая количество азотобактера в ризосфере инокулированных растений, наблюдал быстрое снижение его количества. Ванчура и Мацура (V. Vancura, J. Macura, 1959) обнаружили в ризосфере овса, выросшего из семян, бактеризованных азотобактером, 128 млн. клеток различных микроорганизмов и только 263 клетки азотобактера в 1 *г* почвы. Примерно такое же соотношение обнаружили Браун, Бурлингсхам и Джексон (M. Brown, S. Burlingsham, R. Jackson, 1962). В 1964 г. эти авторы в других опытах наблюдали лучшую приживаемость азотобактера в ризосфере, однако это чаще было в тех условиях, где в контроле присутствовал спонтанный азотобактер.

По данным О. Г. Широкова (1963), некоторые виды эпифитных микроорганизмов, перешедшие с семян на корни проростков, вытеснялись быстро растущими антагонистами из почвы. По наблюдениям О. В. Енкиной (1962), внесенная в черноземную почву культура Bac. megaterium хорошо размножалась в ней первые 8 дней, а затем количество ее резко снижалось и через 3 недели почти не отличалось от контроля.

Ранее А. Т. Новиковой (1959) было установлено, что в условиях целины, несмотря на внесение Bac. megaterium с семенами пшеницы перед посевом, количество этих бактерий во все фазы развития растений не отличалось от их количества в контроле, т. е. от количества спонтанной культуры, присутствовавшей в почве. Е. Н. Мишустин (1967) также приводит данные, пока-

зывающие, что внесение фосфоробактерина не обеспечивало увеличение количества фосфорных бактерий в ризосфере проса. Так, на фоне, удобренном навозом, обнаружено в контроле 613 тыс. бактерий, а при внесении фосфоробактерина — 607, на фоне NPK — соответственно 419 и 400, без удобрения — 197 и 187 бактерий на 1 *г* почвы.

Одной из причин слабой приживаемости вносимых с семенами микроорганизмов на корнях растений может быть их вытеснение активно размножающейся корневой микрофлорой. Установлено, что массовое размножение микроорганизмов в прикорневой зоне приводит к периодическому повышению токсичности ризосферной почвы. Следствием этого является периодическое снижение общей численности бактерий на корнях, в том числе и внесенных, которые вначале остаются в меньшинстве, а затем полностью вытесняются (Я. П. Худяков, Ю. М. Возняковская, О. Г. Широков, 1966).

Плохая приживаемость азотобактера в ризосфере растений наблюдалась давно, поэтому уже на первых этапах разработки препарата азотобактерина рекомендовалось при его изготовлении применять в качестве наполнителя низинный торф. Торф должен был служить защитным субстратом, в котором азотобактерин при внесении в почву меньше подвергался бы воздействию неблагоприятных условий. Однако ничтожные количества этого субстрата (3—6 *кг* на 1 *га*) не изменили положения.

Несколько лучшие результаты были получены, когда стали применять азотобактер в составе органо-минеральных гранул (А. М. Шелоумова, 1953), а также в смеси с органо-минеральными удобрениями (небольшие дозы навоза и извести с суперфосфатом), вносимыми в рядки (Ф. Ю. Гельцер и Т. М. Поперекова, 1955) или в верхний слой почвы (Г. В. Лопатина и А. И. Чундерова, 1956). При использовании азотобактера в овощеводстве неплохие результаты дал способ внесения его в торфо-перегнойные горшочки (Е. Н. Мишустин и А. Н. Наумова, 1956 и др.). Кроме того, испытывалась возможность бактеризации азотобактером компостов, однако этот прием оказался менее эффективным. Перечисленные выше способы внесения бактерий реально доступны в основном при их применении в овощеводстве,

так как при массовых посевах других культур местное внесение органических удобрений применяется редко.

Можно предположить, что повышение урожая, наблюдаемое при применении фосфоробактерина и азотобактерина, в ряде случаев может быть объяснено только их первоначальным стимулирующим влиянием на семена.

Кроме азотобактера и Bac. megaterium, являющихся действующим началом бактериальных удобрений, в настоящее время обнаружен ряд других видов, образующих вещества, стимулирующие рост растений. Однако следует учитывать, что не все виды бактерий, проявившие себя в искусственных, лабораторных условиях стимуляторами, могут быть использованы в виде клеточных суспензий в практике. Это объясняется тем, что каждый микроорганизм обладает разнообразными свойствами, а выделение им ростовых веществ является лишь одним из факторов, влияющих на растение. Например, многие штаммы Ps. fluorescens способны синтезировать витамины и благодаря этому обладают хорошо выраженной способностью стимулировать прорастание семян и рост проростков в лабораторных условиях. Однако среди культур этого вида бактерий многие обладают денитрифицирующей способностью, т. е. им присуще свойство восстанавливать нитраты до газообразного азота.

Проверка влияния на урожай овса одной из таких культур в условиях полевого опыта показала, что на богатом агротехническом фоне, при совместном внесении органических и минеральных азотных удобрений, создались такие условия, при которых проявилась денитрифицирующая активность внесенного микроорганизма, что в свою очередь привело к снижению урожая растений. В данном случае сравнивались штаммы двух видов микробов-стимуляторов: Ps. fluorescens 314 с ярко выраженной способностью восстанавливать нитраты до свободного азота и Myc. phlei 171, не обладающая этим свойством (Ю. М. Возняковская, 1961). Опыт поставлен на базе Московского отделения Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии в Юрьев-Польском районе Владимирской области. Почва — выщелоченный чернозем, размер делянок 84 $м^2$. Норма высева — 200 *кг* на 1 *га*. Погодные

условия были благоприятные. На участок перед посевом вносили удобрения из расчета на 1 *га*: полуперепревшего конского навоза — 5 *т*, аммиачной селитры — 1 *ц*, хлористого калия — 1 *ц*, суперфосфата — 3 *ц*. Бактерии наносили на семена в виде суспензии клеток, смытых с агара. Семена высевали 14 мая, убирали урожай 26 августа. Результаты учета урожая приведены в табл. 32.

Таблица 32

Влияние бактеризации семян суспензиями клеток разных видов бактерий-стимуляторов на урожай овса в полевом опыте

Вариант опыта	Сырой вес снопов				Вес зерна				
	с каждой делянки (*кг*)		средний (*кг*)	%	с каждой делянки (*кг*)		средний		
	1-я повторность	2-я повторность			1-я повторность	2-я повторность	*кг*	*ц* с 1 *га*	%
Контроль	107	110	108,5	100,0	30,2	30,6	30,4	37,5	100,0
Культура: 314 . .	42	95	93,5	86,1	25,7	25,8	25,7	32,1	85,5
171 . .	114	123	118,5	109,2	32,5	32,6	32,5	40,1	106,9

Приведенные в табл. 32 данные подтверждают, что при отборе микробов-стимуляторов для практического использования в виде живых культур их необходимо всесторонне проверять. При этом основным критерием должен быть получаемый урожай растений.

Замачивание семян в культуральных жидкостях. Микробы-стимуляторы влияют на рост растений выделяемыми ими продуктами жизнедеятельности. При размножении в корневой зоне видов, внесенных с семенами, метаболиты бактериальных клеток выделяются в окружающую среду постепенно и также постепенно впитываются прорастающими семенами, а затем всасываются растущими корнями. Однако в этом случае, как мы видели, трудно создать условия для хорошей приживаемости внесенных микроорганизмов в прикорневой зоне. Кроме того, невозможно подобрать оптимальные концентрации микробных метаболитов и избежать их перехватывания почвенной микрофлорой. Поэтому перспек-

тивным способом применения микробов-стимуляторов в растениеводстве является предпосевное замачивание семян в разведенных культуральных жидкостях. Этот способ состоит в следующем: микроорганизмы — активные продуценты витаминов — выращивают в течение определенного времени в жидкой питательной среде для накопления их метаболитов, в том числе витаминов и ауксинов. Наибольшее количество витаминов при обычном выращивании культур в колбах в термостате накапливается на 8—10-й день, при выращивании на качалке — на 4—6-й день (табл. 33).

Таблица 33

Количество витаминов, накапливаемое культурами микроорганизмов в жидкой среде в зависимости от срока выращивания и особенностей культуры

(по Ю. М. Возняковской и З. П. Рыбаковой)

№ штамма	Микроорганизм	Срок культивирования (суток)	Количество витаминов (*мкг* на 100 *мл* культуральной жидкости)		
			пантотеновая кислота (B_3)	никотиновая кислота (PP)	пиридоксин (B_6)
171	Myc. phlei	4	65	24	2
		10	128	40	28
426	Promyxobact. johnsonii	4	21	40	8
		10	27	52	32
613	То же	4	24	56	13
		10	48	116	32
648	Cryptococcus laurentii	4	7	48	20
		10	33	44	32
650	Chr. aurantiacum	4	25	50	0
		10	128	112	26

Положительное действие физиологически активных веществ на растения зависит от их концентрации. Это относится и к культуральным жидкостям микроорганизмов. Поэтому перед замачиванием семян культуральные жидкости разводят до оптимальной концентрации. В период замачивания в течение 20—24 часов набухающие семена обычно впитывают 40—60% и более влаги от их

первоначального веса, при этом они сразу усиленно обогащаются микробными метаболитами.

Ввиду того, что каждый микроорганизм обладает свойственной только ему способностью синтезировать те или иные витамины и накапливать их в определенных соотношениях в среде, то и подбор оптимальных концентраций должен производиться индивидуально. Количество накопленных в среде витаминов зависит не только от вида микроорганизма, но и от срока выращивания культур, от состава среды, температуры и т. д., поэтому при использовании микроорганизмов обычно придерживаются постоянных условий их культивирования.

Таблица 34

Влияние разных концентраций культуральных жидкостей микроорганизмов на энергию прорастания семян кукурузы

В чем замочены семена	Степень разведения	Среднее достоверное сухого веса корешков—х (*мг*)	Σfa*	Поправка (*b*)	Процент к контролю
Вода	—	352	+15	+12,5	100,0
К. ж. культуры: 650	500	434	+5	+4,1	123,2
650	800	373	—8	—6,6	105,6
426	200	345	+7	+5,1	98,0
426	400	485	—7	—5,1	137,7
426	600	339	—1	—1,0	96,5

Примечание. В каждом варианте 12-кратная повторность.

В табл. 34 приведены результаты подбора оптимальных концентраций культуральных жидкостей двух микроорганизмов по их влиянию на энергию прорастания семян кукурузы. Для культуры 650 оптимальная концентрация получена при разведении 1 : 500, а для культуры 426—1 : 400.

Многочисленные данные, полученные в последнее время во Всесоюзном научно-исследовательском институте сельскохозяйственной микробиологии, подтвердили эффективность способа применения микробов — продуцентов витаминов и гетероауксина — предпосевным за-

* Статистический метод обработки данных (см. стр. 214).

мачиванием семян в оптимальных разведениях культуральных жидкостей.

Исследования А. А. Клинцаре (1964), A. Rovira (1965) и других показали, что хорошие результаты дает также способ замачивания семян в густых бактериальных суспензиях клеток, смытых с агара. В последнем случае, очевидно, также происходит усиленное обогащение семян продуктами биосинтеза микроорганизмов.

Естественно, замачивание семян в культуральной жидкости в практике ограничено. Однако обработка семян овощных культур, а также семян при селекционной работе не вызовет особых затруднений.

Семена овощных культур принято перед посевом замачивать в воде. Вместо воды целесообразно использовать стимулирующие жидкости. Применение для этой цели культуральных жидкостей некоторых продуцентов витаминов (рис. 14) дало положительные результаты. Например, по данным Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии, урожай моркови Шантенэ, семена которой были замочены в культуральной жидкости, в условиях вегетационных опытов повысился на 17—30% (табл. 35) по сравнению с контролем. Опыты проводили в сосудах емкостью 7,5 *кг*, наполненных огородной почвой, в которую добавляли смесь удобрений — перегной, селитру и суперфосфат (соответственно 20 *т*+1 *ц*+3 *ц* на 1 *га*). Один раз за вегетационный период растения подкармливали

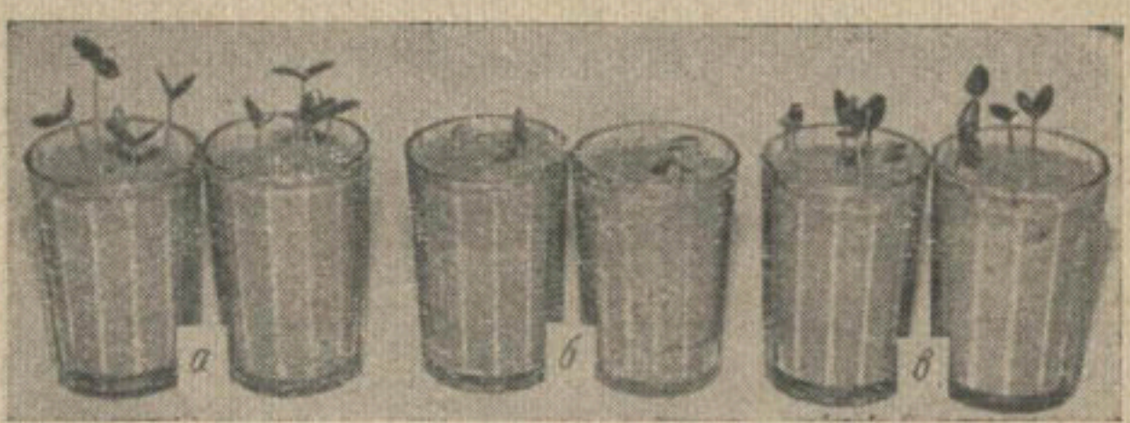


Рис. 14. Стимуляция прорастания семян огурцов культурой 426.

а — семена замочены в разведенной в 200 раз культуральной жидкости 426, *б* — в питательной среде (контроль), *в* — в суспензии клеток 426.

Таблица 35

Урожай моркови в вегетационных опытах с предпосевным намачиванием семян в культуральных жидкостях микробов-стимуляторов

В чем замочены семена	Степень разведения	Урожай корнеплодов (г) при повторности					Среднее	%
		1-й	2-й	3-й	4-й	5-й		
1960 г. (8 растений)								
Вода	—	312	323	342	365	372	342,8	100,0
К. ж. культуры: 171. . .	1 : 100	375	405	409	425	460	414,8	121,0
650. . .	1 : 300	384	411	420	422	423	412,0	120,1
1962 г. (8 растений)								
Вода	—	320	325	335	341	375	339,2	100,0
К. ж. культуры: 171 . . .	1 : 100	380	400	404	415	419	403,6	118,8
650 . . .	1 : 300	425	445	450	455	—	443,7	130,6
1964 г. (5 растений)								
Вода	—	245	295	300	310	—	287,5	100,0
К. ж. культуры: 171 . .	1 : 100	315	325	340	415	—	348,7	121,2
650 . .	1 : 500	310	335	335	370	—	338,4	117,9

аммиачной селитрой. Посев производили в мае, уборку — в октябре.

Стимулирование роста растений в условиях закрытого грунта может дать значительный экономический эффект. Так, семена огурцов сорта Муромский, замоченные в культуральной жидкости, высаживали в кварцевый песок, увлажненный питательной смесью Гельригеля. Рост проростков учитывали на 12-е сутки. Оказалось, что энергия прорастания семян, замоченных в стимулирующей жидкости, выше, чем в контроле. Особенно заметно стимулировался рост корней (табл. 36).

При выращивании огурцов сорта Многоплодный гидропонным способом на керамзите (700 $м^2$) в совхозе «Тепличный» Ленинградской области в 1966 г. была использована культуральная жидкость культуры 426. Увлажняли керамзит питательным раствором Чеснокова и Базыриной. Одновременно с опытной рассадой, выросшей из семян, замоченных в разведенной культуральной жидкости, на такой же площади высадили рассаду, по-

Таблица 36

Влияние микробных метаболитов на энергию прорастания семян огурцов

В чем замочены семена	Число повторностей	Вес 100 проростков (*мг*)			
		листья		корешки	
		$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Вода	20	2200±50	100	600±30	100
Питательная среда (1:200)	20	2100±60	95	600±20	100
К. ж. культуры 426 (1:200)	20	2400±20	109	1218±2	203
Суспензия клеток культуры 426 . . .	20	2400±30	109	1200±50	200
Вода	9	2000±63	100	700±63	100
К. ж. культуры 426 (1:200)	9	2300±11	115	1600±51	228
Суспензия клеток культуры 426 . . .	9	2400±62	120	1500±62	214
Фугат к. ж. 426 (1:200)	9	2166±75	108	1450±10	207
Смесь витаминов группы В	9	1970±81	98	1270±75	181

лученную из семян той же партии, но обработанных в течение 24 часов раствором янтарной кислоты (17 *мг* на 1 *л* воды). Применение янтарной кислоты в качестве стимулятора роста является в совхозе обязательным мероприятием, поэтому с ней и сравнивалась испытуемая культура.

Рассаду высаживали в фазу 4—5 настоящих листьев. Наблюдения показали, что в обоих вариантах растения развивались равномерно и начали плодоносить в один и тот же срок. Урожай учитывали по декадам в течение двух месяцев и определяли по сумме сборов с 28 стеллажей для каждого варианта (табл. 37). Судя по результатам опыта, предпосевное обогащение семян метаболитами микроорганизма — продуцента витаминов — дало по сравнению с контролем прибавку урожая огурцов в среднем за 2 месяца 530 *кг*, или 18%.

Приведенные результаты опытов показали, что при предпосевном замачивании семян в заранее подобранных оптимальных концентрациях культуральных жидкостей микроорганизмов можно получить прибавки урожая овощных культур до 20%.

Таблица 37

Влияние предпосевного замачивания семян огурцов в культуральной жидкости микроба-стимулятора 426 на урожай плодов в условиях гидропонной теплицы

Месяц учета опыта	Декада	Урожай огурцов с 28 стеллажей при замачивании семян в растворе			
		янтарной кислоты		культуральной жидкости	
		кг	%	*кг*	%
Май	I	181	100	238	131
	II	586	100	752	128
	III	674	100	760	114
	Всего	1441	100	1750	124
Июнь	I	459	100	522	114
	II	434	100	521	117
	III	575	100	648	112
	Всего	1468	100	1691	115
	Всего за 2 месяца	2909	100	3441	119

Следует отметить, что стимуляция роста овощных культур микробными метаболитами влияет и на качество урожая. Так, в моркови повышалось содержание каротина с 64 до 99 *мкг* на 1 *г* сырого веса. В опытах с салатной Пекинской капустой в ней увеличивалось содержание аскорбиновой кислоты с 36 до 66 *мг*%.

В условиях закрытого грунта, кроме овощных культур, в совхозах и колхозах выращивают в осенне-зимний период богатые витаминами зеленые подкормки для животных на водно-минеральных растворах. Добавление в кормовой рацион небольшого количества (10 *г* — для птицы и 50 *г* — для поросят) зеленых проростков прекращает авитаминозы, снижает отход молодняка, ускоряет его рост, улучшает усвоение корма (Ю. П. Васютинский и Ф. Шагоян, 1963; Е. П. Овчаренко и О. А. Никифоров, 1964 и др.). В цехах витаминных кормов при подготовке к проращиванию зерно замачивают в воде. В период наклевывания в зерне активируется

ряд ферментативных биохимических процессов. При искусственном стимулировании этих процессов микробными метаболитами наблюдалось увеличение содержания витаминов в зеленой массе, сокращение срока ее выращивания.

Последнее можно подтвердить тем, что за 8 дней из стимулированных семян можно получить такой же урожай, как за 10 дней из обычных (Ю. С. Осledкин, 1968).

Стимуляцию роста растений и улучшение качества урожая подтверждают следующие опыты. Так, часть семян замачивали в микробных метаболитах, а часть для сравнения — в воде. Некоторым отступлением от общепринятой технологии выращивания зеленых подкормок явилось удлинение срока первоначального замачивания семян.

Например, семена кукурузы вместо 8 замачивали 12—14 часов, а семена ржи и ячменя вместо 2 замачивали 10 часов. Количество семян брали из расчета на 1 $м^2$ полезной площади: кукурузы — 5 *кг*, ржи и ячменя — по 3 *кг*. Использовали питательную смесь, приготовленную «Зооветснабом». Подкормку растений в лабораторных опытах проводили 3—4 раза в день по 30 минут. Замоченное зерно проращивали в темноте трое суток, а проростки выращивали на свету в течение 6—7 суток. Для каждого варианта брали по 250 *г* (на поддон площадью 314 $см^2$) семян кукурузы сорта ВИР 42 со всхожестью 92%. Полученные результаты показали, что из семян, замоченных в культуральных жидкостях микроорганизмов, проростки росли энергичнее; особенно значительно стимулировался рост корней (рис. 15, табл. 38).

Лабораторные данные получили подтверждение и в опытах, поставленных в условиях производства — в цехах витаминного корма племптицесовхоза «Большевик» Ломоносовского района и совхоза «Культура» Тихвинского района Ленинградской области. Микроорганизмы для обработки семян выращивали в жидкой питательной среде в колбах в течение 8 суток. Полученную культуральную жидкость разводили в 200 раз. Семена ячменя замачивали 12 часов, после чего высыпали в пластмассовые поддоны размером 83×40×7 *см*, по 1 *кг* в каждый (площадь трех поддонов составляет 1 $м^2$).

Таблица 38

Влияние микробов-стимуляторов на рост проростков ржи и кукурузы при их выращивании в лабораторных условиях на водно-минеральном растворе

Растение	В чем замочены семена	Количество проросших семян	Сырой вес					
			корней		зеленой массы		всех проростков	
			г	%	г	%	г	%
Рожь	Вода	3042	62	100,0	145	100,0	207	100,0
	К. ж. культуры:							
	171	2991	89	143,5	140	95,8	229	110,6
	650	3097	71	114,5	162	111,7	233	112,5
	426	3075	126	203,2	170	117,2	296	142,9
Кукуруза	Вода	487	55	100,0	108	100,0	163	100,0
	К. ж. культуры:							
	171	504	67	121,8	127	108,3	194	119,0
	650	628	83	150,9	144	133,3	227	140,4
	426	578	87	158,1	195	180,5	282	172,9

Поддоны с зерном помещали для проращивания в специальный шкаф, имеющий 8 ярусов и закрытый от света. Через 3 дня, когда семена дали ростки длиной 3—4 *см,* их выставили на стеллажи, освещаемые лампа-

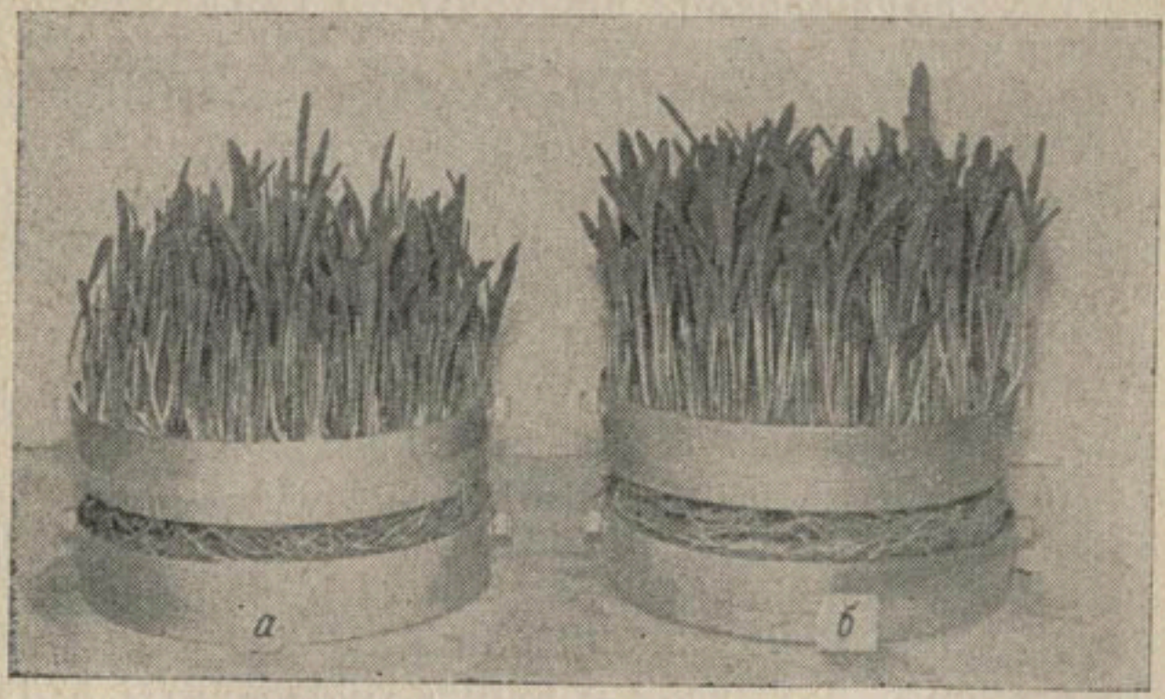


Рис. 15. Стимуляция роста проростков кукурузы при выращивании гидропонным способом в лабораторных условиях. *а* — семена замочены в воде, *б* — в культуральной жидкости 426, разведенной в 200 раз.

ми дневного света, и периодически подкармливали питательным раствором. Урожай учитывали на 10-й день после замачивания семян (табл. 39).

Таблица 39

Влияние замачивания семян в культуральной жидкости микробастимулятора (культура 426) на урожай проростков ячменя, выращенных на водно-минеральном растворе в условиях производства (совхоз «Большевик» Ломоносовского района)

Что учитывали	Сырой вес (*кг*)				Процент к контролю
	с одного поддона		с трех поддонов (1 $м^2$)		
	контроль	обработка стимулятором	контроль	обработка стимулятором	
Зеленую массу:					
с 1-го поддона	1,5	2,4	4,5	6,5	144,4
со 2-го »	1,3	2,1			
с 3-го »	1,7	2,5			
Корни+семена:					
с 1-го поддона	2,9	4,4	9,8	13,3	135,7
со 2-го »	3,2	4,7			
с 3-го »	3,7	4,2			
Общий урожай:					
с 1-го поддона	4,4	6,8	14,3	19,8	138,4
со 2-го »	4,5	6,8			
с 3-го »	5,4	6,2			

Приведенные в табл. 39 данные показывают, что стимуляция семян микробными метаболитами дает возможность увеличить урожай. Этот результат получается без дополнительной затраты труда на выращивание подкормок. Стимулирующее действие микроорганизмов на семена проявляется с самого начала их прорастания. Установлено, что уже через 24 часа после замачивания значительно усиливается дыхание семян, а следовательно, обмен веществ. В результате повышается потребление элементов из питательного раствора, активнее происходит процесс образования тканей.

Большое значение имеют зеленые подкормки как источник каротина. Анализ проростков, выросших из обработанных метаболитами семян кукурузы, показал, что

они на 7-й день содержали больше каротина, чем контрольные. На 10-й день содержание каротина в них составляло 26,53 *мкг* на 1 *г* сырой массы против 22,39 *мкг* в контроле.

Применение продуцентов каротина из эпифитной микрофлоры. В последние годы в разных учреждениях СССР и за рубежом проводится работа по выделению и отбору микроорганизмов — продуцентов каротина — с целью изучения возможности их использования для организации микробиологического синтеза этого вещества в промышленных масштабах или для создания на их основе препаратов для скармливания животным. Например, изучается культура гриба Blakeslea trispora из семейства мукоровых, которая является весьма перспективной, т. е. способна активно синтезировать каротиноиды (A. Ciegler, M. Arnold, R. Anderson, 1959 и др.). Отобран продуцент каротина из группы оранжевых актиномицетов — Actynomyces aureoverticillatus (Н. А. Красильников с сотр., 1962; А. И. Кореняко с сотр., 1963). Разрабатывается метод получения каротина из водоросли Dunaliella salina, размножающейся в естественных водоемах (В. П. Вендт, 1963; Ю. Ф. Гелескул, 1964 и др.). Изучается способность каротинообразования у культур Neurospora crassa, Rhodotorula rubra и mucilaginosa, Rhodopseudomonas spheroides, цветных аскомицетов у Sporobolomyces roseus и др.

Для скармливания животным могут быть использованы не химически чистые вещества, а нативные культуральные жидкости, особенно если в них наряду с каротином содержатся и другие витамины. Такие препараты более эффективны по своему физиологическому действию, чем отдельные витамины, и удобнее для скармливания.

По мнению Н. А. Красильникова, целесообразно использовать в качестве продуцентов каротина те организмы, которые не требуют дорогих питательных сред и технология выращивания которых не сложна. Он считает перспективными, с этой точки зрения, актиномицетов, проактиномицетов и микобактерии.

При изучении эпифитной микрофлоры обычно отмечалось, что на поверхности зеленых частей растений преобладают пигментные виды. Так, например, в одном из анализов из 47 видов 37 имели пигменты — оранжевые,

красные, розовые, желтые и только 10 были бесцветными. Из 21 вида, встречающегося на растениях в преобладающих количествах, 14 видов было пигментными (Ю. М. Возняковская, Я. П. Худяков, 1960).

Наличие в клетках эпифитных микроорганизмов пигментов, не диффундирующих в окружающую среду, очевидно является одним из основных условий устойчивости этих видов микроорганизмов к действию солнечной радиации. Эксперименты А. А. Имшенецкого, проведенные еще в 1946 г., подтверждают это. Автор считает, что пигменты типа каротиноидов, находясь в оболочке клетки или около нее, поглощают ультрафиолетовые лучи и этим защищают клетку от их вредного действия. Он установил, что после облучения смеси пигментных и беспигментных бактерий пигментных выживало в 6 раз больше, чем бесцветных.

Интересные данные по устойчивости эпифитных бактерий, имеющих разный цвет колоний, к ультрафиолетовым лучам получены О. Г. Широковым (1959). Он облучал суспензии бактерий лампой ПРК-2 на расстоянии 1 *м* в течение двух минут и показал, что оранжевых культур выживало 63,6%, желтых — 24,7%, а бесцветных — всего 5,2% от общего количества бактерий, имевшихся до облучения.

Оказывается, что способность к биосинтезу каротиноидных пигментов сапрофитных микобактерий усиливается на свету.

Исходя из этих данных, можно было предположить, что среди оранжевых культур эпифитных микроорганизмов имеются такие, которые способны наряду с физиологически неактивными пигментами синтезировать и накапливать в клетках каротиноиды. Для выяснения этого вопроса Ю. М. Возняковская и А. В. Хотянович (1965) отобрали из коллекции эпифитов 31 культуру, имеющую яркий оранжевый, красно-оранжевый или желто-оранжевый цвет колоний. Из них 24 относились к бактериальным видам и 7 —к дрожжевым.

Все изучаемые культуры высевали в чашки Петри на поверхность агаризованной капустной среды, которая применяется для выращивания эпифитных микроорганизмов.

Потенциальная способность микроорганизмов к биосинтезу ряда веществ лучше проявляется в присутствии

предшественников этих веществ. Обычно в качестве предшественника каротина к питательной среде, на которой выращивают продуцент, добавляют β-ионон (A. Ciegler и др., 1959, 1962).

Известно, что молекула каротина состоит из длинной алифатической цепи, ограниченной с обоих концов β-иононовыми кольцами. Кроме того, известно, что при окислении каротина хромовым ангидридом можно получить несколько молекул уксусной кислоты.

Исследованиями И. Вивалько и других (1956) было показано (с помощью C^{14}), что уксусная кислота принимает участие в синтезе каротиновых пигментов в растениях; следовательно, она также может быть предшественником каротина (Л. О. Шнайдман, 1958). Исходя из этого, в качестве предшественника каротина к питательной среде добавляли 0,2% уксуснокислого натрия. Выросшие на поверхности этой среды колонии осторожно снимали шпателем и делали навески бактериальной массы по 1 *г*. В каждой навеске для выявления каротина исследовали состав пигментов методом бумажной хроматографии по Д. И. Сапожникову с некоторыми изменениями *.

Проведенные исследования позволили отобрать из 31 культуры 10 культур, способных к биосинтезу β-каротина (табл. 40).

Данные табл. 40 показывают, что ясно выраженной способностью синтезировать β-каротин при культивировании на данной питательной среде обладали 2 вида оранжевых микобактерий — Myc. phlei и Myc. lacticolum.

В отсутствии предшественника каротин в клетках этих микроорганизмов накапливался в меньших количествах.

Синтез каротиноидов в микробной клетке на разных питательных средах происходит неодинаково, поэтому он может быть выявлен наиболее полно только при культивировании микроорганизмов в разнообразных условиях. Эти условия в данном опыте не соблюдались.

У Myc. lacticolum свойство синтезировать каротин выражено значительно слабее, чем у Myc. phlei. Количество β-каротина у Myc. phlei (штамм 171) составляло в

---

* Описание метода определения каротина см. на стр. 210.

Видовой состав эпифитных микроорганизмов, проверенных на способность к биосинтезу β-каротина на капустной среде с уксуснокислым натрием

Коллекционный №	Вид	Цвет колоний	Количество β-каротина (*мкг* на 1 *г* сырого веса клеток)	Откуда выделена культура
171	Myc. phlei	Желто-оранжевый	54,80	Лист проростка ржи
339	То же	То же	47,00	Колос озимой пшеницы
1016	»	»	39,65	Лист проростка овса
1023	»	»	20,97	То же
1045	»	»	25,00	»
1366	»	»	29,85	Семена ячменя
1367	»	»	20,62	То же
90	Myc. lacticolum	Оранжевый	17,13	Колос пшеницы
92	То же	»	Следы	Колос озимой пшеницы
1155	»	»	11,0	Корень проростка пшеницы
309	Ps. resinacea	Оранжево-коричневатый	0	Корни яблони
844	То же	То же	0	Лист кукурузы
1306	»	»	0	Лист проростка ячменя
1000	Ps. rubra	Красно-оранжевый	0	Лист магнолии
1208	То же	То же	0	Семена проса
1273	»	»	0	Цветок гвоздики
1385	»	»	0	Лист люцерны
650	Chr. aurantiacum (и ее разновидности)	Желтый	0	Колос озимой пшеницы
1242	То же	»	0	Почки березы
1356	»	»	0	Семена овсяницы
1377	»	»	0	Семена кукурузы
1378	»	»	0	То же
1381	»	»	0	Семена пшеницы

Продолжение

Коллекционный №	Вид	Цвет колоний	Количество каротина (*мкг* на 1 *г* сырого веса клеток)	Откуда выделена культура
137	Chr. rheni	Темно-желтый	0	Корни пшеницы
1166	Rhodotorula aurantiaca	Оранжевый	0	Лист вереска
1276	То же	»	0	Цветок ромашки
1014	Rhodotorula glutinis	Розовато-оранжевый	0	Лист проростка овса
1058	Shorobolomyces	То же	0	Лист мятлика
1124	»	»	0	Лист щавеля
1266	»	»	0	Цветок тысячелистника
1295	»	»	0	Цветок гвоздики

пересчете на сухой вес клеток около 24 *мг*%. Наличие изомеров каротина у Мус. phlei было описано в 1933 г. E. Chargaff (по Б. Г. Савинову, 1948), а затем Шлегелем (по Н. А. Красильникову, 1966).

При изучении состава пигментов, содержащихся в клетках культуры 171, выращенной на разных средах, обнаружили 5 различных по цвету полос, имеющих разную величину *Rf*.

Цвет полос на капустной среде	*Rf*	*Цвет полос на капустной среде+0,2% уксуснокислого натрия*	*Rf*
Желтая	0,98—1,00	Желтая	0,99
Красно-оранжевая	0,87	Темно-желтая	0,75
Желто-оранжевая	0,49	Синеватая	0,46
Синеватая	0,18	Розово-желтая	0,28
Красно-оранжевая	0,12	Оранжевая	0,09

При исследовании на спектрофотометре бензольных вытяжек из вырезанных из хроматограмм полос с *Rf* 0,99 и *Rf* 0,75 для подтверждения наличия изомеров каротина в числе разделившихся на хроматограмме

пигментов были обнаружены спектры поглощения для элюата первой желтой полосы с максимумами 465 и 492 mμ, которые характерны для β-каротина. Максимумы поглощения для элюата из второй полосы 435, 460 и 490 mμ характерны для γ-каротина (рис. 16). Следовательно, желтые пигменты, накапливаемые культурой 171 в клетках, при наличии в среде уксуснокислого натрия относятся к физиологически активным изомерам каротина, являющимся провитаминами А. Путем калориметрирования элюатов из верхних полос и общей вытяжки из клеток установлено, что содержание β-каротина в сырых клетках составляет 54,8 *мкг* на 1 *г*, или 12% от общего количества пигментов, а γ-каротина — 103,5 *мкг* на 1 *га*.

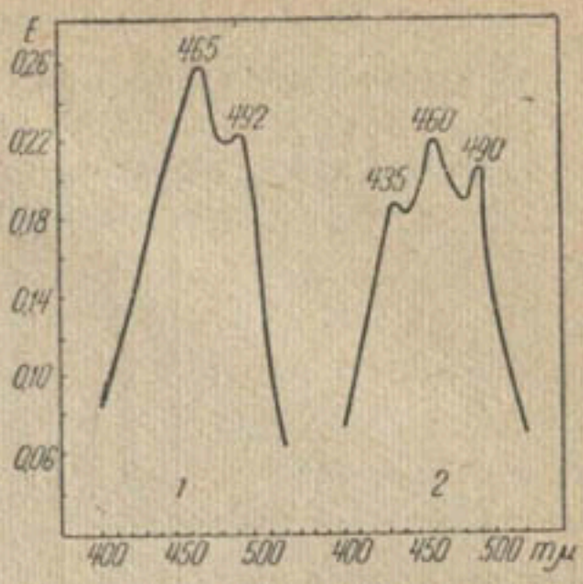


Рис. 16. Спектры поглощения желтых пигментов.
1 — *Rf* — 0,99, *2* — *Rf* — 0,75.

Эпифитная микобактерия Myc. phlei оказалась способной к биосинтезу каротиноидных пигментов: β-каротина, γ-каротина, ликопина, зеаксантина, ксантофилла, количество которых на оптимальных средах достигает 15—20 *мг* на 1 *л* среды, а также некоторых витаминов группы В — тиамина, пиридоксина, пантотеновой кислоты, никотиновой кислоты, биотина, инозита, витамина B_{12} (см. табл. 20).

Как показали исследования А. И. Поздняковой и С. Б. Элькина (1964—1968), Myc. phlei неприхотлива к составу питательной среды и хорошо размножается на среде из мелассы (3—8%) и кукурузного экстракта (1—3%) с добавлением уксуснокислого натрия (0,2%). На этой среде за 3—4 суток выращивания накапливается 60—90 *г* биомассы (сырой вес) в 1 *л*.

В опытах с цыплятами установлена безвредность культуры для животного организма и ее стимулирующее влияние на рост птицемолодняка, т. е. доказана принципиальная возможность использования микробного неочищенного витаминного препарата для подкормки животных (табл. 41).

Таблица 41

Влияние комплексного витаминного препарата из Myc. phlei на рост цыплят

(Пушкинская лаборатория сельскохозяйственных животных)

Вариант опыта	Количество цыплят	Продолжительность опыта (суток)	Живой вес одного цыпленка (г)		Среднесуточный привес (г)	Общий вес всех цыплят (кг)	Процент увеличения привеса
			в начале опыта	в конце опыта			
Без подкормки витаминным препаратом (контроль) . .	240	50	81,89	812	14,6	194,68	100,0
Подкормка витаминным препаратом .	240	50	82,48	920	16,7	220,80	114,3

ЗНАЧЕНИЕ ЭПИФИТОВ-АНТАГОНИСТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В связи с открытием и успешным применением антибиотиков в медицинской практике возрос интерес к микробам-антагонистам и у фитопатологов. Расширились исследования по выяснению путей и возможностей использования живых культур микробов-антагонистов и продуктов их жизнедеятельности (антибиотических веществ) для борьбы с болезнями растений.

Еще в 30-х годах были открыты антагонисты фитопатогенных грибов — миколитические бактерии (Я. П. Худяков, 1935). Испытания этих бактерий в борьбе с грибными заболеваниями растений дали обнадеживающие результаты (Е. Ф. Березова, 1939; Е. Т. Никитина, 1958).

Выделенные из почвы различные антагонисты испытывались против возбудителей грибных болезней растений.

Так, несколько видов споровых и неспоровых бактерий — антагонистов гриба Botrytis cinerea — испытывали для борьбы с гнилью листьев салата; в результате заболеваемость снизилась (F. Newhoock, 1951).

Разновидность Bac. mesentericus использовали для борьбы с зараженностью сахарной свеклы кагатной гнилью; заболеваемость снизилась с 21,4 до 15,6%

(Е. Г. Харитон и И. А. Геллер, 1958). Сильно выраженный антагонизм к возбудителю головни проса был обнаружен у Ps. fluorescens и у Trichoderma lignorum. Эти антагонисты вызывали полное растворение хорошо развитых колоний головни (Sphacelatheca panici miliacei) в течение 7—10 дней. При внесении антагонистов на семена процент заражения в полевом опыте снижался с 57,9 до 26,2.

Распространение в почвах антагонистов грибов определяют фунгистатические свойства почвы. Наличие таких свойств было доказано следующими экспериментами. Фитопатогенный гриб Pythium вносили в нестерильную почву, однако его рост не проявлялся даже при добавлении к почве питательных веществ; если же почву прогревали для уничтожения бактерий, гриб в такой почве быстро разрастался (L. Luna, R. Hine, 1964).

В другом опыте тот же гриб Pythium внесли в колбы со стерильной и нестерильной почвой и после этого посеяли в них семена хлопчатника. Оказалось, что в колбах, где почва была простерилизована, все всходы погибли, тогда как в обычной почве растения росли нормально, хотя туда тоже был внесен патогенный гриб (Л. А. Незговоров и Ш. И. Ибрагимов, 1964).

Подобные факты наблюдались с разными видами патогенных грибов, которые чувствительны к фунгистатическим веществам, образуемым в почве бактериальной флорой. Например, если на влажную почву помещали целлофановые пластинки, на которые затем наносили микросклероции гриба Verticillium dahliae, то прорастание склероциев на целлофане, находившемся в контакте с нестерильной почвой, резко подавлялось, в то время как стерильная почва такого действия не оказывала (И. М. Поляков, В. И. Попов, 1966). Рост грибов Fusarium oxysporum и Penicillium, внесенных в верхний слой почвы, сильно угнетался, а Helmintosporium и Verticillium dahliae вообще не сохранялись (П. С. Скилягина, 1967).

Приведенные выше данные объясняют наблюдаемый в практике сельского хозяйства факт оздоровления полей при наличии севооборота. Дело в том, что наиболее вредоносные возбудители заболеваний приспособлены к определенным видам растений, и если растение-хозяин в течение одного или более вегетационных периодов отсут-

ствует, то гриб-паразит постепенно погибает под влиянием антагонистической почвенной микрофлоры. Это наблюдается, например, при введении люцерны в хлопковый севооборот.

При монокультуре возбудитель накапливается в грунте, чему способствуют корневые выделения растения-хозяина и корневые остатки его, где клетки патогена лучше выживают. Так, выделения томатов, внесенные на целлофановые диски, разложенные на почву, способствовали прорастанию микросклероций гриба Verticillium albo-atrum, патогенного для томатов. Процент проросших кондиций на целлофане без почвы был 92,4, на почве — 14,9, в контакте с корневыми выделениями растения-хозяина (томатов) — 83,5, с корневыми выделениями пшеницы — 6,2 (L. Schreber, R. Green, 1963).

Большое значение для защиты растений от заболеваний имеет ризосферная и эпифитная микрофлора, которая тесно связана с растениями. Присутствие бактерий-антагонистов вблизи растения может сдерживать размножение в ризосфере фитопатогенных видов, а также может отражаться на сопротивляемости растений к заболеваниям, так как доказана способность растений всасывать через корневую систему антибиотики, образуемые ризосферными бактериями (Н. А. Красильников, 1951). Миколитические бактерии более обильно размножаются в ризосфере растений, чем в междурядьях, что также способствует оздоровлению почвы (Е. Ф. Березова и А. Н. Наумова, 1939; А. Турсунходжаев, 1965).

Среди ризосферных бактерий-антагонистов в большинстве случаев обнаруживаются широко распространенные виды — Ps. fluorescens и Ps. liquefaciens.

Антагонистические свойства корневых бактерий к некоторым фитопатогенным грибам изучались В. В. Михалевой, Ф. Е. Смирновым и др. (1965). Они установили, что из 67 культур разных видов корневых бактерий 39 культур, или 58%, угнетали рост гриба Verticillium dahliae, а 20 культур, или 30%, оказались антагонистами к грибу Fusarium vasinfectum.

Из 103 культур денитрифицирующих бактерий, выделенных с корней разных растений, обладали антагонистическими свойствами к грибу Fusarium lini 32 культуры. В большинстве случаев антагонисты грибов, обнаруженные этими авторами, относились к широко распро-

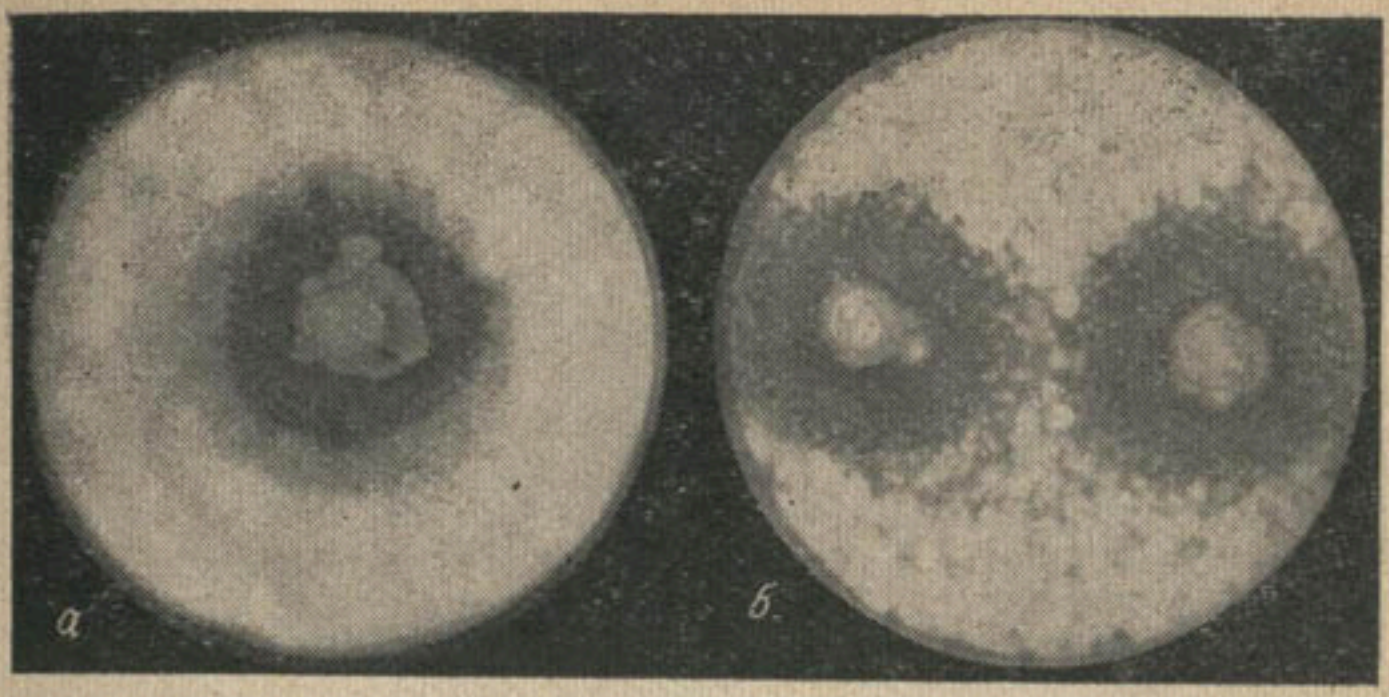


Рис. 17. Зоны отсутствия роста грибов вокруг агаровых блоков культуры антагониста (по М. С. Шкляр).
а — Fusarium oxysporum, *б* — Verticillium dahliae.

страненным на корнях видам — Ps. fluorescens, Ps. radiobacter, Ps. aurantiaca.

В 1961 г. М. С. Шкляр и Л. А. Халимовой (1962) была выделена из прикорневой зоны бобовых растений неспоровая бактерия, обладавшая широким антигрибным спектром действия. По совокупности морфолого-культуральных и биохимических признаков она оказалась близка к Ps. mycophaga. Авторы выделили ряд штаммов этого вида, и все они активно угнетали рост грибов на сусло-агаре при исследовании методом наложения блоков (рис. 17). Оказалось, что выделенная бактерия часто встречается в ризосфере различных бобовых растений — люцерны, люпина, клевера, акации желтой и др.

Ниже приведены данные по антигрибной активности штамма 2 этой бактерии.

Тест-культура	*Зона отсутствия роста (мм)*	*Тест-культура*	*Зона отсутствия роста (мм)*
Aspergillus niger	22	Fusarium culmorum	20
Penicillium crustosum	19	» moniliforme	18
» glaucum	28	» granulatum	26
» italicum	26	» oxysporum	9
» multicolor	30	» vasinfectum	10

Тест-культура	Зона отсутствия роста (мм)	Тест-культура	Зона отсутствия роста (мм)
Penicillium rumosus	26	Sclerotinia libertiana	20
» album	30	» bataticola	30
» martensii	40	Alternaria citri	14
Mucor racemosus	15	Botrytis allii	25
Mucor mucedo	19	» fabae	20
Trichoderma lignorum	18	» cinerea	18
Cladosporium sp.	19	Verticillium dahliae	24
Basisporum gallarum	10	Nigrospora oryxae	40
Rhizoctonia solani	36	Ascochyta citri	20
Fusarium avenaceum	20	Helmintosporium sativum	30
» alternaria	20	Stemphylium allii	20

Из литературы известно, что в ризосфере бобовых миколитические бактерии и другие микробы-антагонисты распространены в значительно больших количествах по сравнению с ризосферой других видов растений. Так, на корнях люцерны и вики было обнаружено 25—95 тыс. миколитических бактерий Ps. fluorescens на 1 *г* почвы, лизирующих гриб Fusarium lini, а на корнях тимофеевки и овсяницы — только 1—9 тыс. (Е. Ф. Березова, А. Н. Наумова, 1939).

В казахстанских почвах активные миколитические бактерии гриба Fusarium oxysporum lini находили в больших количествах в ризосферной почве бобовых растений — люцерны, клевера и эспарцета. Эти бактерии относились к виду Ps. mycophaga. В почве из-под люцерны их было в 10 тыс. раз больше, чем в почве из-под огурцов и капусты (Е. Т. Никитина, 1958). По наблюдениям А. Турсунходжаева (1965), количество миколитических бактерий на корнях льна при посеве его по клеверищу увеличилось в 15—20 раз по сравнению с их количеством в монокультуре.

Э. К. Африкян с сотрудниками (1963) сравнивали распространение бактерий-антагонистов в ризосфере люцерны и в ризосфере хлопчатника. Проверив 300 почвенных образцов, они установили, что в ризосфере двухлетней люцерны общее количество бактерий было 80 тыс. на 1 *г* почвы, из них антагонистов 14%, а под хлопчатником общее количество бактерий составило только 16—30 тыс., из них антагонистов 2—9%.

Многочисленные наблюдения показывают, что накопление антагонистов под бобовыми травами оказывает

оздоравливающее влияние на почву, благодаря чему культуры, высеваемые в севообороте по пласту многолетних трав или по обороту пласта, меньше страдают от грибных заболеваний. Это относится к таким распространенным болезням растений, как вилт хлопчатника, увядание картофеля, фузариозное увядание льна и др. В ряде случаев искусственное обогащение ризосферы антагонистами, выделенными в чистую культуру или накопленными в почве, способствовало снижению процента заболеваемости растений (табл. 42).

Таблица 42

Снижение заболеваемости хлопчатника вертициллезным вилтом в условиях Азербайджанской ССР при обработке семян антагонистами

(по М. С. Шкляр, А. А. Пантелеезу)

Вариант опыта	1965 г. (площадь делянки 10 $м^2$)				1968 г. (площадь делянки 21,6 $м^2$)			
	больных растений (%)	отклонение от контроля (%)	средний урожай с делянки (кг)	урожай по сравнению с контролем (%)	больных растений (%)	отклонение от контроля (%)	средний урожай с делянки (кг)	урожай по сравнению с контролем (%)
Семена замочены в воде (контроль) .	83,1	—	2,89	100,0	67,6	—	4,38	100,0
Семена замочены в к. ж. культуры:								
2	51,5	38,1	3,35	115,9	32,9	51,4	5,53	126,0
22	60,4	29,8	3,00	104,0	39,1	42,2	4,88	111,0
51	63,3	26,3	3,11	107,5	35,9	46,9	5,14	117,0

Примечание. Опыт достоверен, если прибавки урожая больше, чем наименьшая средняя разность между вариантами — $НСР_{0,95}$, равная 0,155 в опыте 1965 г. и 0,436 в опыте 1966 г. Опыт точен, если $m\% < 5$ (о вычислении см. на стр. 219—221).

В связи со сказанным считается перспективной разработка способов применения микробов-антагонистов в практике сельского хозяйства (Н. А. Красильников, 1958 и др.). При этом использование антагонистов из эпифитной микрофлоры, для которой растение является

естественным местом обитания, более эффективно, поскольку они значительно лучше приживаются на растениях, чем представители других экологических группировок.

Размножаясь на растениях, антагонисты и другие эпифиты могут угнетать прорастание грибных спор, снижать активность размножения патогенных видов, конкурировать с ними за питательные вещества, а также, стимулируя обмен веществ растения, повышать его устойчивость к заболеванию.

Попытки выделить антагонистов с поверхности растений увенчались успехом. Ряд штаммов Ps. fluorescens, Ps. liquefaciens, Myc. globiforme, Bac. mesentericus и Bac. megaterium оказались антагонистами грибов Fusarium culmorum и Fusarium lini. Так, нанесение их на семена пшеницы и льна снижало фузариозное увядание растений с 22,7 до 7,0% (А. Д. Налбандян, 1960).

На опытной станции в Охио (Колумбия) Лебеном и Дафтом (C. Leben, G. Daft, 1964, 1965) проведена большая работа по изучению роли эпифитной микрофлоры в защите растений от заболеваний. Ими выделены со здоровых листьев огурцов 230 культур бактерий, 186 из которых проверены на наличие антагонистических свойств к некоторым грибам и бактериям.

Каждую из испытуемых культур высевали штрихом на поверхность питательного агара и через 2 дня подсевали к ним перпендикулярными штрихами тест-культуры: 3 бактерии — Bac. subtilis, E. coli и X. vesicatoria и 3 гриба — Alternaria solani, Colletotrichum lagenarium и Glomerella cingulata. Через 4 дня учитывали зоны угнетения роста тестов. В результате было обнаружено, что 43% из 186 проверенных культур оказались антагонистами одного или более тестов, в том числе угнетали рост грибов 34 культуры, рост бактерий — 17, рост грибов и бактерий — 30. Не угнетали роста ни грибов, ни бактерий 105 культур.

Из выделенных культур, обладавших противогрибными свойствами, была отобрана одна, наиболее активная — А-180.

Эта культура при нанесении на листья огурцов в виде суспензии отмытых клеток предохраняла сеянцы от заражения антракнозом в условиях вегетационного опыта. Эффективность увеличивалась, если

растения находились во влажной атмосфере или если бактериальную суспензию наносили вместе с питательными веществами с раствором Дифко, отваром из соевой муки или с раствором глюкозы. При таких условиях размножение бактерий на растениях усиливалось и в связи с этим увеличивалось накопление выделяемых ими продуктов жизнедеятельности. Позднее из n-бутанольной фракции культуральной жидкости А-180 был выделен антибиотик. Он оказался хроматографически идентичным комирину, представляющему из себя стабильный антигрибной пептид, ранее выделенный из Ps. antimycetica.

Некоторые другие авторы также изучили возможность использования эпифитных микроорганизмов для борьбы с фитопатогенными грибами и бактериями. Так заболеваемость фасоли бактериальным ожогом снизилась при обработке семян (штаммом s4) Ps. fluorescens (M. Theliz-Ortiz, W. Burkholder, 1960).

Эпифиты-антагонисты гриба Mildium, нанесенные на растущие листья винограда, снижали заболеваемость виноградной лозы.

Эпифиты-антагонисты гриба Sclerotinia, вызывающего гниль моркови, нанесенные на корнеплоды, предохраняли последние от порчи (Г. К. Жильцова, Я. П. Худяков, 1960).

Типичным представителем эпифитной микрофлоры является Ps. herbicola. Считается, что присутствие этой бактерии на зерне служит одним из показателей его доброкачественности. Однако взаимоотношения Ps. herbicola с другими микроорганизмами мало изучены. При исследовании этого вопроса методом подсева штрихов к гигантским колониям трех разновидностей Ps. herbicola — Ps. aureum, Ps. agglomerans и Ps. trifolii — оказалось, что из 30 проверенных культур эпифитных микроорганизмов большинство (28 культур) не реагировали на присутствие в среде продуктов обмена Ps. herbicola. Они дали такой же хороший рост вблизи гигантской колонии, как и в отдалении от нее. Только 2 вида — Sarc. flava и дрожжеподобный гриб Trichosporon — не росли вблизи колонии Ps. herbicola, а дали рост на расстоянии 1,0—1,5 *см* от нее (Ю. М. Возняковская).

Влияние разновидностей Ps. herbicola на некоторые грибы изучалось методом наложения блоков. Ps. herbi-

cola выращивали несколько дней на капустно-агаровой среде, в которой накапливались продукты жизнедеятельности этого микроорганизма. Затем из агара вырезали блоки и накладывали на газоны грибов: Fusarium vasinfectum, Fusarium epyspora, Alternaria, Botrytis cinerea, Verticillium dahliae, Penicillium. Ни в одном случае не было обнаружено зон отсутствия роста грибов вокруг наложенных блоков. Это показало отсутствие антагонистических свойств у Ps. herbicola к данным видам грибов.

Изучалось также действие нескольких штаммов Ps. herbicola по сравнению с действием некоторых других эпифитных микроорганизмов на возбудителя мягкой гнили овощей Erwinia carotovora. Всего было испытано 87 культур, выделенных с листьев, цветков и семян разных растений.

Взаимоотношения между микроорганизмами изучались методом наложения блоков. Результаты учитывались по наличию или отсутствию зон роста Erw. carotovora вокруг агаровых блоков 10-суточных культур эпифитов, выращенных на капустной среде.

Из 87 изученных культур 11 проявили антагонистическое действие к Erw. carotovora (табл. 43).

Таблица 43

Антагонистическое действие некоторых эпифитных микроорганизмов на возбудителя мягкой гнили овощей Erwinia carotovora

Культура	Откуда выделена культура	Зона отсутствия роста (*мм*)
Ps. herbicola aureum	Семена фенхеля	40
Ps. herbicola trifolii	» ячменя	45
Ps. herbicola agglomerans	» »	40
Ps. fluorescens	Почва	11
Ps. fluorescens	Семена овса	14
Chr. aurantiacum	» кукурузы	20
Chr. aurantiacum	Цветок гвоздики	12
Ps. carnea	Семена овсяницы	11
Pullularia pullulans	Цветок тысячелистника .	17
Ps. gracilis	Цветок ноготка	18
Rhodotorula	» гвоздики	17

Результаты, приведенные в табл. 43, показывают, что из многих проверенных на антагонизм к Erw. carotovora культур наибольшей активностью обладали штаммы, принадлежащие к виду Ps. herbicola.

Таким образом, факты показывают, что многие эпифитные микроорганизмы обладают антагонистическими свойствами по отношению к ряду фитопатогенных бактерий и грибов. Массовое внесение таких антагонистов на растения или на прорастающие семена может привести к вытеснению патогенных видов с растений и оздоровлению последних.

МЕТОДЫ ОТБОРА И ИЗУЧЕНИЯ ПОЛЕЗНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ЭПИФИТНОЙ МИКРОФЛОРЫ

Использование полезных свойств эпифитных микроорганизмов для повышения продуктивности растений не может быть достаточно успешным без конкретных знаний о составе этой микрофлоры, о ее свойствах и выделяемых продуктах жизнедеятельности.

Для того чтобы отобрать микроорганизмы, обладающие полезными свойствами, необходимо выделить и изучить большое количество культур. Только обширная коллекция дает возможность проводить сравнительное изучение культур. Это имеет значение и потому, что виды у микроорганизмов полиморфны и состоят из ряда соподчиненных таксономических единиц.

Изучение культур должно включать следующие этапы: 1) определение культуральных и морфологических признаков; 2) установление биохимических свойств; 3) выяснение влияния продуктов жизнедеятельности данного вида на растение.

Для установления широты распространения разных видов микроорганизмов на растениях необходимо при учете результатов анализа образцов (корней, листьев, семян) производить дифференцированный подсчет колоний на чашках и учитывать их соотношение (см. табл. 44).

ВЫДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ С РАСТЕНИЙ

Состав питательной среды играет решающую роль для обнаружения всего разнообразия микроорганизмов при их выделении из субстратов или с живых расте-

ний. Проявление характерных культуральных особенностей микроорганизма — строение и окраска колоний, образование слизи и другие — также зависит от состава питательной среды.

Для выявления эпифитов и культивирования их в пробирках в коллекции живых культур можно рекомендовать 2 питательные среды, приготовленные из растительных отваров.

1. Капустная среда № 19. Готовят среду на капустном отваре, для получения которого берут свежую капусту (100 *г* на 1 *л* воды), нарезают ее не очень мелко, заливают водопроводной водой и кипятят в течение 30 минут. Затем отвар фильтруют через бумажный фильтр или через чистую гигроскопическую вату, после чего вновь доливают кипяченую воду до первоначального объема. К капустному отвару добавляют 2,5% пивного сусла (крепостью 8—10 баллингов) и 0,125% кукурузного экстракта. После этого среду подщелачивают до pH 7,0—7,2 и добавляют к ней 1,5—2,0% агара. Стерилизуют в автоклаве 20—30 минут при давлении 0,5 *атм.* Повторная стерилизация среды не допускается. Состав среды № 19: капустный отвар — 1 *л,* сусло пивное — 25 *мл,* кукурузный экстракт — 1,25 *мл,* агар — 20 *г.*

2. Фасолевая среда № 23. Готовят среду на фасолевом отваре. Для получения отвара берут белую фасоль — 50 *г* на 1 *л* водопроводной воды — и кипятят 30 минут. Отвар отфильтровывают через вату или бумажный фильтр и доводят до исходного объема кипяченой водой. После этого в отвар добавляют 0,25% пептона, 1% сахара, 0,1% фосфорнокислого аммония, 0,125% кукурузного экстракта и 1,5—2,0% агара. pH среды устанавливают 7,0—7,2. Среду стерилизуют в автоклаве 20 минут при давлении 1 *атм.* Состав среды № 23: фасолевый отвар — 1 *л,* пептон — 2,5 *г,* сахар — 5 *г,* $(NH_4)_2HPO_4$ — 1 *г,* кукурузный экстракт — 1,25 *мл,* агар — 20 *г.*

Кукурузный экстракт — компонент для улучшения питательной ценности среды. Он представляет собой побочный продукт, вырабатываемый при производстве кукурузного крахмала путем выпаривания воды, в которой кукурузное зерно замачивалось перед дроблением. При замочке кукурузы в теплой воде, содержащей сернистую

кислоту, в раствор переходит около 7—8% сухих веществ зерна. Кукурузный экстракт получил широкое применение в медицинской промышленности при производстве пенициллина и других препаратов (БСЭ, т. 24).

В практике работы с различными микроорганизмами отмечается стимулирующее действие малых доз кукурузного экстракта при прибавлении его в обычные питательные среды. В большой степени ценность кукурузного экстракта зависит от содержания в нем набора аминокислот. С помощью автоматического аминокислотного анализатора Т. П. Ефимова обнаружила в составе кукурузного экстракта 16 аминокислот. Количество связанных аминокислот составляло 362 *мг* на 1 *г* сухого вещества, а свободных — 101,8 *мг*. Содержание сухого вещества в кукурузном экстракте 48,7%, а общего количества азота — 7,96 мг%. Установлено, что разные партии кукурузного экстракта различаются по своему качеству (А. Н. Климов, Т. П. Ефимова, 1965).

Для выделения микроорганизмов с растений делают поверхностный посев из смывов с корней, листьев и пр. Смыв как исходный материал для посева получают путем энергичного встряхивания в стерильной воде навески растительного материала (1—5 *г* в 100 *мл* воды). Предварительно можно исследуемый образец слегка растереть в ступке в небольшом количестве воды для лучшей смываемости бактерий. Чтобы получить на чашках не слишком густой рост колоний и не допустить их сливания между собой, необходимо сделать разведение посевного материала. Если исходный смыв в колбочке принять за разведение 1 : 100, то при анализе надземных частей растений его следует довести до 1 : 1 тыс., а для корней — до 1 : 10 тыс.

Посев производят следующим образом: 0,05 *мл*, или 1 каплю, посевного материала переносят пипеткой на поверхность агаровой питательной среды, налитой в чашки Петри. Эту каплю тщательно растирают шпателем Дригальского, а затем этим же шпателем производят посев, т. е. растирание по поверхности агара, последовательно еще на 2 чашки.

При выделении культур с растения лучше пользоваться питательной средой № 19, так как на фасолевой среде бактерии образуют слишком много слизи. Агар следует наливать в чашки не очень горячим, чтобы из-

бежать намокания его поверхности конденсационной водой, образующейся из пара, при застывании агара. При большом количестве влаги вырастающие колонии могут расплываться или сливаться; такие чашки необходимо выбраковывать. Чашки выдерживают в термостате при 24—26° 3—6 суток. Последние 2 дня их оставляют на столе при дневном освещении для лучшей пигментации колоний.

Подробное и точное описание внешнего вида колоний при идентификации культур имеет большое значение как весьма характерный признак для каждого вида микроорганизмов. Желательно колонии зарисовать и показать цветными карандашами их окраску. Это в дальнейшем облегчает работу по определению вида.

Описывать колонии следует всегда с одной и той же питательной среды. При описании колонии отмечают: ее цвет, величину (крупная, средняя, мелкая), форму (выпуклая, плоская и т. п.), консистенцию (слизистая, пастообразная), блеск, прозрачность и замеченные характерные особенности.

Определение вида нельзя начинать, пока не будет уверенности в абсолютной чистоте культуры. Поэтому из отдельных выросших на чашках колоний делают пересев в пробирки на поверхность скошенного агара. После появления роста культуру вновь рассевают на чашки. Если при этом вырастают однородные колонии, то культуру можно считать чистой. Если же вырастают 2—3 вида колоний и больше, то вновь отсевают на косой агар из одной колонии и снова повторяют посев для проверки чистоты культуры.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЫДЕЛЕННЫХ С РАСТЕНИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ

Для удобства работы по идентификации культур целесообразно принять единый принцип описания и изучения микроорганизмов. Так, при описании внешнего вида колоний следует производить посевы на одну и ту же питательную среду, так как известно, что вид колоний при выращивании культур на разных средах может резко различаться. Например, у Ps. herbicola на синтетической среде с глюкозой и азотнокислым калием колонии

очень слизистые, со светло-желтой серединой и водянистым краем, а на мясо-пептонном агаре они плоские, желтые, пастообразные и т. д.

При описании признаков и физиологических свойств микроорганизмов желательно придерживаться определенной последовательности: сначала охарактеризовать внешний вид колоний, затем морфологию культур и после этого — свойства, проявляющиеся на средах с разными источниками углерода и азота. При изучении морфологии культур следует обращать внимание на такие признаки, как наличие спор, форма и величина клеток, окраска по Граму, число и расположение жгутиков.

Изучение морфологических признаков является одним из первых этапов при идентификации культур и начинается с просмотра живых, неокрашенных препаратов под микроскопом обычно с фазово-контрастным устройством. Такой просмотр позволяет установить у них подвижность, наличие спор, характерное для микобактерий ветвление или расположение клеток, их размер. Кроме того, такой просмотр дает возможность отобрать микрококки, микококки, дрожжи и проактиномицеты.

Для просмотра под микроскопом необходимо использовать свежие культуры. Чтобы получать сравнимые результаты, обычно работают с культурами определенного возраста. Все культуры просматривают под микроскопом 2 раза — молодые (1—3-суточные культуры) и стареющие (7—10-суточные). Это позволяет отделить микобактерии, установить их морфологические особенности во вторую стадию развития (без чего их правильная идентификация невозможна), а также обнаружить образование спор у споровых видов. Только при таком двухступенчатом изучении морфологии культур возможно отличить некоторые микобактерии, имеющие клетки в виде палочек, от бактерий (например, Myc. globiforme) или микобактерии от микококков (например, Myc. brevicale). Для измерения величины клеток в окуляр микроскопа вставляют окулярную линеечку (окуляр-микрометр) и, зная размер одного ее деления (выраженный в микронах), измеряют величину каждой клетки.

Бактериальные клетки хорошо видны в микроскоп после их окрашивания. Окрашенные препараты можно рассматривать при большом увеличении микроскопа с иммерсионной системой, для чего кедровое масло нано-

сят непосредственно на окрашенный мазок. Для микрофотографии также удобно пользоваться окрашенными препаратами.

Существует ряд различных методов окраски бактерий и их жгутиков. Все эти методы описаны в практических руководствах по микробиологии. Из специальных методов окраски при классификации и определении видового состава микроорганизмов большое значение имеет окраска по Граму. Способность клеток окрашиваться по Граму объясняется особыми свойствами белков протоплазмы и оболочки, отражающими их биохимические различия, которые связаны с наличием в клетках рибонуклеиновой кислоты определенной структуры (J. Bartholomew, 1962). Сущность окраски заключается в различной способности клеток удерживать краску. Одни виды бактерий при промывании их после окраски спиртом отдают краску, другие ее удерживают. Виды бактерий, способные воспринимать и удерживать краску при окраске по Граму, красятся в фиолетовый цвет, остальные — в розовый.

Количество жгутиков и их расположение на клетке также является характерным признаком для каждого вида подвижных микроорганизмов. В определителе Н. А. Красильникова этот признак использован как один из основных при систематике бактерий. По расположению жгутиков и их количеству бактерии делятся на: монотрихи — имеющие на конце клетки один жгутик, лофотрихи — имеющие пучок жгутиков на конце клетки, перитрихи — у которых жгутики расположены по всей поверхности клетки. Диаметр жгутиков равен тысячным долям микрона, поэтому они становятся видны только в электронный микроскоп или после специальной окраски с применением протравителей, которые, осаждаясь на поверхности жгутиков, увеличивают их толщину.

Особенности роста микроорганизмов на специальных питательных средах, а также особенности их воздействия на эти среды являются весьма характерными для каждого вида. Специфика биохимической деятельности микроорганизмов зависит от имеющихся у них ферментов. Наличием ферментов определяется вся физиологическая деятельность данного вида, способность их усваивать различные питательные вещества, воздейство-

вать на внешнюю среду и т. д. Обычно для идентификации принято пользоваться определенным набором питательных сред, на которых проявляются характерные особенности роста данного микроорганизма, а также наблюдается изменение самих сред в процессе его выращивания.

Как минимум, для определения вида микроорганизма берут: 1) среды с разными источниками азота — органическими и минеральными; 2) желатину, которую способны разжижать организмы, обладающие протеолитическими ферментами; 3) молоко, которое одни культуры, способные сбраживать молочный сахар, подкисляют и свертывают, а другие — подщелачивают или, разлагая белки, пептонизируют; сгусток в молоке может образоваться и под действием ферментов типа сычужного; 4) питательный агар с крахмалом, который способны разлагать только виды, обладающие ферментом амилазой; 5) среды с нитратами, которые микроорганизмы восстанавливают в разной степени до нитритов или до газообразного азота; 6) набор сахаров, которые по-разному усваиваются и сбраживаются разными видами.

При определении вида микроорганизма необходимо учитывать, что стойкость ферментов у бактерий различна. Наряду с более стойкими имеются менее стойкие ферменты, так называемые адаптивные, которые при изменении условий внешней среды могут изменяться. Первые определяют характерные признаки вида. К характерным признакам можно отнести, как это указывается в определителе Н. А. Красильникова, отношение микроорганизмов к различным источникам азота (способность использовать его минеральные формы), способность разжижать желатину и изменять молоко. Менее стойкими свойствами являются способность гидролизовать крахмал, восстанавливать нитраты и сбраживать сахара. Эти свойства могут утрачиваться в процессе культивирования на искусственных питательных средах и колебаться у разных штаммов, несомненно относящихся по всем остальным признакам к данному виду.

Очень характерным для вида является способность образовывать определенные пигменты; цвет и локализация пигментов (выделение их в среду или накопление в клетках).

После того, как закончено изучение культур, т. е. описаны их культуральные особенности и морфология, а также установлены основные физиологические свойства (табл. 44), приступают к определению вида по определителю.

Все определители включают описание самых разнообразных микроорганизмов, относящихся к разным разделам микробиологии (медицинской, технической, почвенной, молочной и др.), поэтому ориентироваться в определителе, включающем тысячи названий, затруднительно. Для облегчения этой работы можно воспользоваться данными, обобщенными в табл. 45. В табл. 45 приведен перечень видов микроорганизмов, которые часто встречаются на растениях, а также перечислены их основные свойства. Микроорганизмы определены и описаны в соответствии с определителем бактерий и актиномицетов Н. А. Красильникова (1949).

Все микроорганизмы (75 видов) в табл. 45 разделены на группы в соответствии с внешним видом колоний. Форма и особенно окраска колоний позволяют на первом этапе определения без каких-либо дополнительных исследований отнести микроорганизм к той или иной группе. Внутри каждой группы, имея дело с небольшим набором видов, уже легче производить дальнейшую идентификацию культур.

В отдельные группы выделены культуры, имеющие следующий внешний вид колоний: 1) слизистые, бесцветные, 2) плоские, бесцветные или беловатые, 3) белые, 4) желтые, 5) лимонные (желто-зеленые), 6) оранжевые, красные и розовые, 7) с некоторыми характерными особенностями — лиловый пигмент, резиноподобная консистенция, образование спор, выделение синего пигмента в среду и пр.

МЕТОДЫ ОТБОРА МИКРОБОВ — СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ

Способы выявления стимулирующего действия микроорганизмов. Существует несколько методов, которыми пользуются для выявления микроорганизмов, способных стимулировать рост растений. Наиболее распространенным из них является метод воздействия продук-

тами жизнедеятельности микроорганизмов на прорастающие семена. Этим методом, начиная с 1939 г., пользовался Н. А. Красильников с сотрудниками, а затем и другие исследователи — Т. Е. Попова (1954), Д. Пантош (1956), М. Б. Петренко (1959), А. А. Образцова (1961) и др. Сущность этого метода заключается в том, что семена замачивают в суспензиях изучаемых бактерий, а затем учитывают длину проростков по сравнению с длиной проростков, выросших из семян, замоченных в воде.

Н. Д. Кофанова (1961, 1963) предложила замачивать семена не в суспензиях, а в водных вытяжках из агара, в котором в течение пяти суток накапливались продукты жизнедеятельности микроорганизмов, засеянных газоном на целлофановые пластинки, положенные на поверхность агара с питательной средой. Этим методом ею были отобраны стимуляторы прорастания семян кукурузы.

Кларк и Роллер (N. Clark a E. Roller, 1939) использовали в качестве тест-объекта при выделении микробов-стимуляторов не семена, а растение ряску (Lemma major). Ряска очень отзывчива на действие биотических веществ и в их отсутствии постепенно вырождается. Однако с ней неудобно работать из-за трудности получения монокультуры.

Практически удобнее оказался «метод хлореллы», разработанный Хата (K. Hata, 1962). Рост хлореллы в агаре стимулируется или подавляется в зависимости от состава метаболитов разных микроорганизмов, диффундирующих в агар из разложенных на его поверхность агаровых блоков или дисков фильтровальной бумаги, пропитанных культуральными жидкостями. Этим методом отобрана из 3300 культур почвенных микроорганизмов 81 культура (2,45%), оказавшая стимулирующее влияние на рост хлореллы. Используя Chlorella sp. в качестве тест-организма, С. Саоно (1966) методом раскладывания блоков отобрал из 388 культур дрожжей 55 культур, стимулирующих рост Chlorella. Все отобранные культуры оказывали стимулирующее действие и на рост проростков пшеницы.

В последнее время в микробиологии стали применять некоторые методы, которые приняты в семеноведении для определения энергии прорастания семян, например

метод Терроина (T. Terroin), описанный в книге В. Крокера и Л. Бартона (1955). Сущность этого метода заключается в том, что учитывают коэффициент перемещения веществ из семени в проростки.

Это перемещение устанавливается методом взвешивания семян после их прорастания, а также выросших корешков и ростков. Чем полноценнее семена, тем энергичнее идет их прорастание и тем больше будет вес проростков. Он выражается в процентах к общему весу, т. е. к весу проростков и весу остатков семян. Если семена дополнительно обогащать ростовыми веществами, то в большинстве случаев коэффициент перемещения веществ будет увеличиваться. В упрощенном виде этот метод применяется в практике семеноводства и семеноведения, причем энергия прорастания семян учитывается по весу 100 проростков.

В ряде случаев может быть использован метод определения силы роста семян В. Н. Прикладова (1962) на специальном, разработанном им приборе. На этом приборе учитывается сила механического давления растущих проростков, которая выражается в граммах. Сила роста проростков может учитываться также по методике Украинского ордена Ленина научно-исследовательского института растениеводства селекции и генетики им. В. Я. Юрьева (И. Г. Строна, 1962, 1964). При этом в одном случае рекомендуется учитывать способность проростков выходить на поверхность при глубокой заделке семян в песок или в почву (на 10—12 *см* крупных семян и 5—6 *см* мелких), в другом случае учитывают энергию прорастания, дружность прорастания и скорость прорастания семян.

Энергия прорастания — это процент проросших семян за первые 3 дня проращивания. Дружность прорастания — это отношение среднего числа проросших семян в пересчете на один день к общему числу проросших семян за весь срок проращивания. Скорость прорастания — это среднее число семян, проративших ежедневно в течение всего срока.

Для обнаружения способности микроорганизмов стимулировать ростовые процессы у растений можно ограничиться двумя методами: учетом влияния на прорастающие семена продуктов жизнедеятельности, накапливающихся в культуральных жидкостях, и учетом их стиму-

лирующего действия на корнеобразование у черенков фасоли.

Отбор микробов-стимуляторов по их влиянию на прорастание семян. Изучаемые микроорганизмы выращивают в жидкой питательной среде в течение 6—8 суток для накопления продуктов их жизнедеятельности. Затем культуральные жидкости в случае массового отбора культур разводят водопроводной водой в 50 раз. При более детальном изучении микроорганизмов берут несколько разведений культуральной жидкости, например 50, 100, 200, 400 и 600 — для установления оптимального разведения, при котором получается наибольший стимулирующий эффект. Исследуемые семена отсчитывают и помещают в бюксы или стаканы (по 50—100 шт. крупных или по 100—200 шт. — мелких) и замачивают в разведенных культуральных жидкостях. Чтобы семена не задохнулись, жидкость должна лишь слегка покрывать их. Для сравнения необходимо семена из той же партии замочить аналогичным образом в воде и в разведенной питательной среде, на которой выращивались микроорганизмы.

Замоченные образцы семян помещают в термостат на 20—24 часа при температуре 24—26°. В течение этого времени семена набухают, поглощая вместе с жидкостью содержащиеся в ней продукты жизнедеятельности изучаемых микроорганизов. Набухшие семена раскладывают в специальные растильни или в чашки Петри на фильтровальную бумагу, которая увлажнена 10 *мл* воды и под которую подложен тонкий слой ваты. В каждую чашку помещают по 25 крупных семян или по 50 мелких.

Таким образом, для одного образца семян имеют место 2—4 повторности, которые впоследствии учитываются отдельно. Чашки с семенами, закрытые крышками, ставят в термостат на 4 дня для проращивания. Учет результатов производят по весу выросших проростков и по их длине. Сырой вес проростков, отделенных от семян, учитывают на технических весах, а сухой вес — на аналитических. Проростки высушивают до постоянного веса при 50—60°.

Так как в чашке могут прорасти не все 100% семян, то для получения сравнительных данных по результатам взвешивания делают пересчет на одно проросшее

семя, а затем на 100 семян. Лучше устанавливать отдельно вес зеленых листьев и вес корешков. Обычно вес корешков является более показательным. Окончательный результат вычисляют в среднем из всех повторностей. Вес проростков (корешков и листочков) можно выражать в относительных величинах, например в процентах (табл. 46).

Таблица 46

Учет энергии прорастания различно обработанных семян кукурузы по весу проростков (I метод), по энергии роста колеоптилей и корешков (II метод)

В чем замочены семена	Количество семян		I метод			II метод						
			фактический вес проростков (г)	вес в пересчете на 100	вес (%)	вес после проращивания (г)			вес (%)		
	замочено	проросло				остатков семян	зеленых листочков	корешков	общий вес	листочков	корешков	всех проростков
Вода	25	23	0,4278	1,86	100	13,4050	0,5750	0,3779	0,9334	3,87	2,63	6,50
К. ж. культуры 650 (разведение 1:500)	25	24	0,6024	2,51	134,9	12,0573	0,6778	0,5777	1,2555	5,09	4,33	9,42

Отбор микробов-стимуляторов по их влиянию на корнеобразование у черенков фасоли. Для выявления в составе культуральных жидкостей микроорганизмов веществ, стимулирующих корнеобразование, можно

использовать метод Р. Х. Турецкой (1947). Этот метод основан на том, что в обработанных стимуляторами частях растений повышается интенсивность дыхания, к ним усиливается приток пластических веществ, в результате чего активизируются ростовые процессы. Автор предложила использовать срезанные черенки фасоли, которые опускают концами в испытуемый раствор, а затем учитывают количество образовавшихся на них корешков. Для этого берут семена фасоли одного (любого) сорта, замачивают их в воде и оставляют в теплом месте, чтобы они наклюнулись. После этого наклюнувшиеся семена высаживают в кюветы, заполненные увлажненным песком или почвой.

Растения выращивают на свету дней 10, пока они не достигнут высоты 13—14 *см*. Затем их срезают на расстоянии 0,5—1,0 *см* от поверхности субстрата и подбирают примерно одинаковые по длине и толщине стебля. Срезанные и отобранные растения ставят по 5—8 шт. в стаканы с разведенной культуральной жидкостью так, чтобы концы погрузились в нее на 4—5 *см*. Контролем служат растения, которые ставят на такой же срок в воду и разведенную питательную среду, служившую для выращивания бактерий. В каждый стакан наливают по 50 *мл* жидкости и оставляют в ней растения на 6—12 часов. Затем жидкость сливают и заменяют на 100 *мл* водопроводной воды, в которой черенки фасоли оставляют на 7 дней в условиях теплицы с лампами дневного света или оранжереи до образования на них корешков. Воду следует менять, чтобы на протяжении всего опыта она была прозрачной.

Корешки подсчитывают на каждом черенке отдельно, а потом вычисляют средние показатели для варианта и сравнивают их со средним количеством корешков, образовавшихся в контроле. Можно также рекомендовать взвешивание оторванных корешков, так как это даст возможность судить и об интенсивности их роста.

Метод отбора микробов-стимуляторов по их влиянию на энергию дыхания семян (манометрический метод Варбурга). При замачивании семян в культуральных жидкостях микробов-стимуляторов в них вместе с водой проникают стимулирующие вещества, которые влияют на биохимические процессы, протекающие в набухших

семенах, и на интенсивность их дыхания. Интенсивность дыхания можно определять с помощью респирометра Варбурга по количеству поглощенного семенами кислорода в единицу времени. Чем больше кислорода за час поглощает 1 *г* семян, тем, следовательно, энергичнее идет дыхание.

Принцип метода заключается в том, что семена, помещенные в рабочий сосудик, в процессе дыхания в замкнутом пространстве поглощают кислород, а выделяемая ими углекислота тут же связывается щелочью, налитой во внутренний цилиндрик. В результате уменьшается давление воздуха в сосудике и в связанном с ним правом колене манометра. Благодаря этому манометрическая жидкость Броди в правом колене манометра несколько поднимается, а в левом соответственно опускается (рис. 18). По шкале учитывают понижение уровня жидкости в левом колене по сравнению с первоначальной высотой столба за определенный промежуток времени — 30 минут или 1 час (В. В. Умбрейт, Р. Х. Буррис, Дж. Ф. Штауффер, 1951; О. А. Семихатова и М. В. Чулановская, 1965). Ход определения следующий.

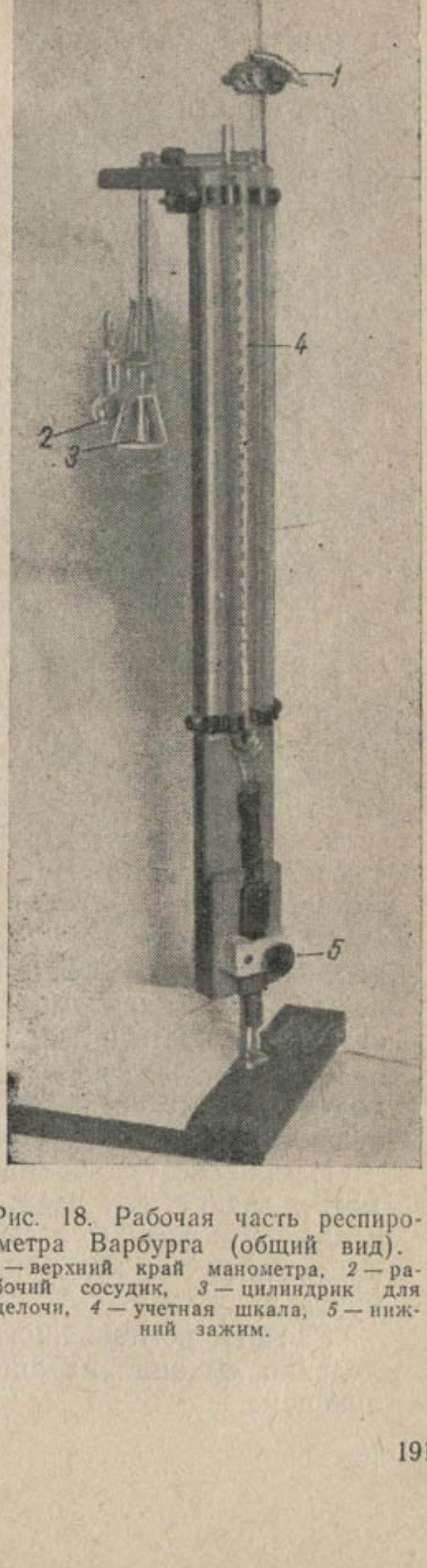


Рис. 18. Рабочая часть респирометра Варбурга (общий вид).
1 — верхний край манометра, *2* — рабочий сосудик, *3* — цилиндрик для щелочи, *4* — учетная шкала, *5* — нижний зажим.

1. Семена замачивают накануне определения на 24 часа в культуральной жидкости испытуемого микроорганизма, разведенной до оптимальной, ранее подобранной концентрации.

2. Перед определением включают аппарат Варбурга для подогрева в нем воды до постоянной температуры 25°.

3. В цилиндрик, имеющийся на дне рабочего сосудика, наливают пипеткой 0,2 *мл* 20%-ной щелочи (NaOH).

4. Делают навески испытуемых набухших семян на аналитических весах (около 1 *г* каждого образца) и переносят их в рабочие сосудики.

5. Сосудики с семенами закрепляют на манометрах.

6. К одному манометру присоединяют пустой сосудик, который является контрольным (так называемый термобарометр).

7. Все манометры с сосудиками вставляют в ванну аппарата с налитой в нее водой. Сосудики с семенами, погруженные в воду с температурой 25°, оставляют качаться 30 минут для их равномерного прогревания.

8. Вращением нижнего зажима манометра устанавливают уровень жидкости Броди в правом колене на отметке 150 и записывают при этом уровень жидкости в левом колене. Это проделывают со всеми манометрами по очереди.

9. Перекрывают верхние краны манометров и замечают время. Оставляют их качаться в аппарате в течение часа.

10. По истечении часа останавливают качание манометров, доводят уровень жидкости Броди в правом колене до 150 и записывают показания шкалы по высоте столба жидкости в левом колене. Таким образом, учитывают, на сколько делений опустилась жидкость в левом колене. То же самое отмечают и для контрольного сосудика.

Изменение показаний манометра у пустого сосудика может зависеть от разных причин, в том числе от изменения температуры в сосудике из-за его трения о воду при качании, от колебания температуры в приборе Варбурга и др.

Расчеты поглощенного кислорода (*мкл* O_2) при определении дыхания на аппарате Варбурга состоят в следующем.

Формула определения дыхания:

$$QO_2 = \frac{\text{const. } сосудика}{масса} \cdot h_2,$$

где: const. — константа сосудика вычисляется по формуле, приведенной ниже;

масса — чистый вес семян или другого объекта (в *мг*);

h_2 — показания манометра с поправкой на термобарометр (пустой сосудик).

Формула для определения const. (K):

$$K = \frac{(v - v_1) \cdot \frac{273}{T} + v_1 l}{P_0},$$

где: v — объем сосудика (известен для каждого аппарата);

v_1 — объем навески (равен ее весу) + объем добавленной щелочи (0,2 *мл*);

273 — абсолютная температура;

T — абсолютная температура + температура, при которой работает аппарат Варбурга (в примере 273° + 25°);

l — растворимость кислорода в щелочи (0,029) или в воде, содержащейся в семенах (0,028);

P_0 — давление жидкости Броди в *мм вод. ст.* (10 000).

Пример расчета O_2. Объем сосудика — 19,178 *см*³, навеска семян — 0,9684 *г*, объем щелочи — 0,2 *мл*, показание шкалы (высота столба в левом колене) — 78, начальное показание шкалы в левом колене — 148, в термобарометре — изменение 0.

$$v = 19{,}178 \cdot 1000 = 19\,178 \text{ } мм^3;$$

$$v_1 = 0{,}9684 + 0{,}2 = 1{,}1684 \text{ } см^3, \text{ или } 1168{,}4 \text{ } мм^3;$$

$$T = 273^0 + 25^0 = 298^0.$$

$$\frac{273}{T} = \frac{273}{298} = 0{,}916;$$

тогда

$$K = \frac{(19\,178 - 1168{,}4) \cdot 0{,}916 + 1168{,}4 \cdot 0{,}029}{10\,000} = 1{,}653;$$

$$QO_2 = \frac{1{,}653}{0{,}9684} \cdot (148-78) = 119{,}42$$ (мкл O_2 за 1 час на навеску семян 0,9684).

Пересчет на 1 *г*:

119,42—0,9684
x—1,0000 $x = 123{,}21$ мкл O_2 в 1 час.

ПРОСТЕЙШИЕ МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ МИКРОБОВ-АНТАГОНИСТОВ

Для определения способности микроорганизмов образовывать антибиотические вещества, подавляющие рост других видов бактерий и грибов, предложен ряд способов, основанных на качественных пробах. Наиболее распространенными из них являются метод штрихового посева, метод наложения блоков и метод колодцев (Н. А. Красильников, 1958; Н. С. Егоров, 1965). Для выявления антагонистических свойств лучше высевать микроорганизмы на питательные среды разного состава: с разными источниками азота и углерода, с добавлением микроэлементов, с различными pH и т. п. Это обусловливается тем, что антибиотическая активность микроорганизмов в разных условиях проявляется неодинаково.

Метод штрихового посева. Испытуемый микроорганизм засевают петлей на поверхность агара в центр чашки Петри или штрихом с одного края чашки и выращивают 4— 6 дней в термостате. За это время на месте посева образуется обильный рост микроорганизма и его продукты жизнедеятельности диффундируют в толщу агара. После этого к выросшей колонии или к штриху подсевают радиальными или перпендикулярными штрихами другие микроорганизмы, взаимоотношения с которыми изучают. По наличию или отсутствию их роста вблизи колонии судят о выделении антибиотических веществ к разным видам микробов.

Метод наложения блоков. Этот метод широко используется в работе при отборе микробов-антагонистов. Он заключается в том, что каждый исследуемый микроорганизм высевают сплошным посевом на агаризованную питательную среду, оптимальную для данного вида, и выращивают в течение нескольких дней для накопле-

ния в агаре микробных метаболитов. После этого из агара вырезают пробочным сверлом или другим способом блоки величиной около 1 $см^2$ и накладывают их на газоны различных тест-микробов — бактерий или грибов. Если в продуктах жизнедеятельности исследуемой культуры содержались антибиотические вещества, то они диффундируют в агар и подавляют рост тест-организмов. В результате вокруг блоков получаются зоны отсутствия роста (см. рис. 17). По величине стерильных зон вокруг блоков можно судить об относительной антибиотической активности микроорганизмов.

Метод колодцев. Метод основан на диффузии в агар антибиотических веществ, накапливаемых микроорганизмами в жидкой питательной среде. Для этого культуральную жидкость закапывают в специальные цилиндрики, расставленные на поверхности агара, или в колодцы, сделанные в агаре пробочным сверлом. Из цилиндриков или колодцев содержащиеся в жидкости антибиотики диффундируют в толщу агара, который предварительно засевают тест-культурой, в результате чего вокруг них образуются зоны отсутствия роста.

Если испытуемые микроорганизмы не являются антагонистами и не образуют антибактериальных или антигрибных веществ, то зон отсутствия роста вокруг их колоний, блоков или мест диффузии культуральной жидкости в агар не образуется.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В

Сущность методов. Определить способность микроорганизмов к биосинтезу витаминов группы В, так же как и их содержание в других объектах, можно качественным (чашечным) и количественным (с использованием жидкой питательной среды) методами. Оба метода основаны на учете интенсивности роста индикаторных организмов (тест-культур), которая зависит от количества витаминов, содержащихся в среде.

В настоящее время методом селекции отобраны специальные дрожжеподобные культуры, каждая из которых чрезвычайно чувствительна к содержанию в среде определенного витамина (Е. Н. Одинцова, 1959). Эти

культуры следующие: Debaryomyces disporus Dekker — используется для определения тиамина (B_1) и пиридоксина (B_6); Saccharomycodes Ludwigii K. M. — для пиридоксина и для пантотеновой кислоты (B_3); Saccharomyces cerevisea Ленинградская — также для пантотеновой кислоты и для β-аланина; Zigofabospora marxiana 734, Zigosaccharomyces 737 и Saccharomyces fragilis — для никотиновой кислоты (PP); Rhodotorula sp. № 45 — для фолиевой (B_9) и парааминобензойной (B_{10}) кислот; Saccharomyces carlsbergensis или Torulopsis dattila 375 — инозита (B_8); Zigosaccharomyces bisporus Dekker, Saccharomyces ellipsoideus или Candida tropicalis СК-4 — для биотина (B_7) и некоторые другие.

Индикаторные культуры хранятся на сусло-агаре.

В опытах в качестве основной безвитаминной среды используют среду Ридер следующего состава: $(NH_4)_2SO_4$ — 0,3%, или 3 *г/л*, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,07% (0,7 *г/л*), NaCl — 0,05% (0,5 *г/л*), KH_2PO_4 — 10% (1,0 *г/л*), $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ — 0,01% (0,1 *г/л*), глюкоза — 1,00% (10,0 *г/л*), вода дистиллированная — 1 *л*, агар-агар, тщательно промытый водой,— 20 *г/л*.

Фосфаты добавляют в виде раствора в последнюю очередь, чтобы избежать помутнения среды.

Стерилизуют в автоклаве 20 минут при давлении 0,5 *атм*. К среде Ридер добавляют набор витаминов, за исключением одного определяемого, в следующих количествах: инозит — 5,00 *мг* на 1 *л*, B_1 — 1,00, B_6 — 0,25, B_3 — 0,25, PP — 0,25, биотин — 0,002 *мг* на 1 *л*.

При определении витамина B_6 вместо витаминов можно добавлять специально приготовленный автолизат дрожжей, который готовят по методу М. Н. Мейселя и и Н. А. Помошниковой (1952). Разводку из 500 *г* дрожжей в 500 *мл* воды, кипяченной и остуженной до 60°, выдерживают при 45—50° 3—4 дня. Осадок промывают 250 *мл* воды и обе жидкости соединяют, фильтруют, нейтрализуют до pH 6,8. Автоклавируют 30 минут при 105°. Этот автолизат разводят водой до концентрации 10%, доводят pH до 7,0; разливают в чашки Петри по 10 *мл* и облучают 4 часа на расстоянии 25 *см* ртутно-кварцевой лампой ПРК-2. Испаряющуюся воду добавляют.

После облучения в автолизате разрушается пиридоксин (B_6), а все остальные витамины сохраняются.

Для определения количества витамина готовят среду Ридер и добавляют в нее автолизат 1—2% (10—20 *мл* на 1 *л*).

В некоторых случаях, особенно при качественном определении витаминов B_1 и биотина при использовании указанных выше тестов, а также инозита с тест-культурой T. dattila 375, можно пользоваться средой Ридер без добавления к ней витаминов.

В клетках тест-культур, хранящихся на сусло-агаре, обычно накапливается некоторое количество витаминов. Поэтому необходимо перед употреблением индикаторные культуры несколько раз (2—5 раз) пассировать на среде Ридер (агаровой или жидкой), не содержащей определяемого витамина.

Вся посуда для приготовления питательных сред и воды — чашки Петри, пробирки, пипетки, колбы — должна быть тщательно промыта хромовой смесью и прополоскана дистиллированной водой.

Качественный метод определения способности микроорганизмов синтезировать некоторые витамины (метод наложения блоков). Изучаемые микроорганизмы высевают сплошным газоном на поверхность агаровой среды, разлитой в чашки Петри. Используют синтетические среды, не содержащие витаминов. Если изучаемые культуры неспособны использовать минеральный азот, то к синтетической среде добавляют набор аминокислот (по 20 *мг* на 1 *л* каждой) или безвитаминный гидролизат казеина. Культуры выращивают в термостате в течение 5—7 суток. За это время в агаре накапливаются продукты обмена микроорганизмов, в том числе синтезируемые ими витамины. По истечении срока из агара с выросшей культурой вырезают блоки пробочным сверлом или иным способом и раскладывают их в чашки Петри на агаровую среду Ридер с добавлением к ней витаминов (с учетом потребности в них данного тест-организма), кроме определяемого. Предварительно поверхность среды Ридер засевают индикаторной культурой, пассированной на безвитаминной среде. Для контроля в те же чашки раскладывают агаровые блоки, вырезанные из незасеянной среды, на которой выращивался микроорганизм.

Результаты учитывают по росту тест-культуры вокруг блока. Он возможен только в том случае, если из

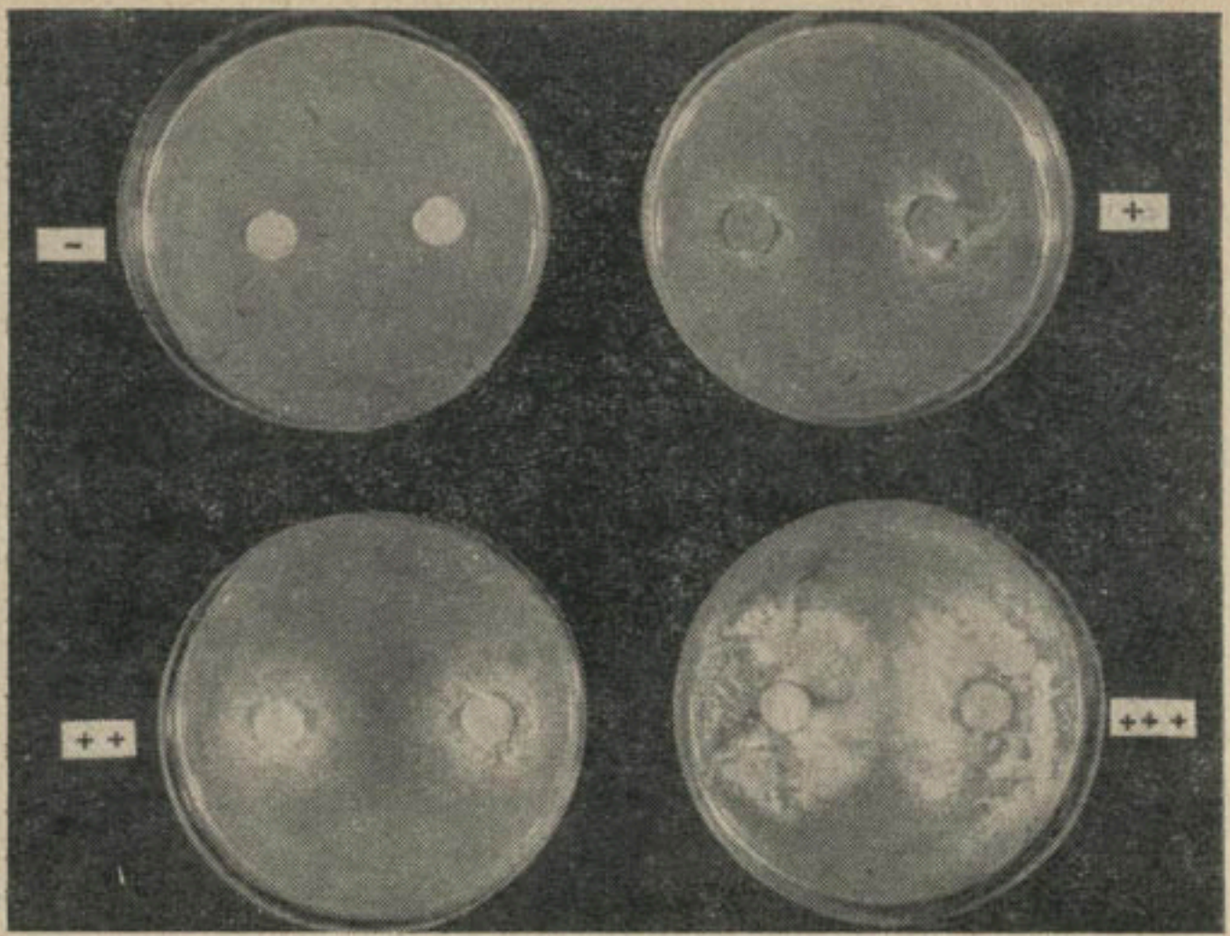


Рис. 19. Интенсивность роста тест-культуры в зависимости от количества витамина, диффундировавшего в среду.

блока в окружающую среду диффундировал витамин, необходимый для развития данного тест-организма.

Интенсивность роста индикаторных организмов вокруг блоков учитывают по трехбалльной системе (рис. 19).

Определение количества синтезируемых микроорганизмами витаминов*. Витамины, синтезированные микроорганизмами, можно определять в культуральной жидкости, в клетках, отделенных центрифугированием от питательной среды, и в фугате. Фугат используют без какой-либо дополнительной обработки, а клетки предварительно разрушают методом гидролиза или автолиза с целью освобождения витаминов из белковых комплексов и перевода их в раствор.

Подготовка образцов для исследования. Прежде всего получают автолизат бактериальных клеток. Для этого клетки, полученные центрифугированием культуральной

* При описании метода использованы работы Е. Н. Одинцовой (1959), Н. И. Коротченко (1963), Ю. Н. Карасевич и др. (1965), Н. М. Шемахановой и И. П. Бунько (1967).

жидкости или собранные с поверхности агаровой среды, высушивают при температуре 40—45°. Навеску сухих клеток разводят водой из расчета 1 : 10 и ставят на автолиз. Для получения автолизата к суспензии прибавляют несколько капель толуола в качестве антисептика для предохранения суспензии от загрязнения посторонней микрофлорой и помещают ее в термостат при температуре 45—48°. Температура выше 50° может привести к инактивации ферментов, вызывающих автолиз клеток. Образцы выдерживают в термостате 3—4 суток, после чего разводят водой до нужной концентрации и используют для определения витаминов.

Гидролизаты клеток готовят следующим образом. Для определения пиридоксина отвешивают на аналитических весах 0,3—0,5 *г* сухих клеток, приливают к ним 25 *мл* 0,1 н. H_2SO_4 и нагревают в течение 45 минут на кипящей водяной бане; затем в мерной колбе доливают гидролизат до 100 *мл* 0,1 н. NaOH и водой, чтобы pH был 5,5—6,0, фильтруют через бумажный фильтр и разводят водой до нужной концентрации (обычно из расчета 1 *г* клеток на 3—5 *л* воды).

Ферментный гидролиз для определения пантотеновой кислоты проводят так: навеску сухих клеток заливают водой и ставят на 10 минут на водяную баню (pH 7). После этого для выделения пантотеновой кислоты из связанного состояния клетки обрабатывают препаратом протеазы гриба Aspergillus terricola или же используют сухой мицелий Aspergillus oryzae.

Гидролизат для определения никотиновой кислоты получают из навески сухих клеток 0,1—0,5 *г*, которую заливают 10—20 *мл* 0,1 н. HCl и нагревают в автоклаве при давлении 1 *атм* в течение 20 минут. Полученный гидролизат нейтрализуют в мерной колбе 0,1 н. щелочью до pH 5,5—6,0, фильтруют через бумажный фильтр и разводят водой до нужной концентрации (примерно 1 *г* на 1—5 *л* воды).

Гидролизат для определения биотина приготовляют так: навеску сухих клеток 0,1—0,3 *г* растирают и заливают 10 *мл* 6 н. H_2SO_4 и гидролизуют в автоклаве в течение часа при давлении 1 *атм*. После этого нейтрализуют в мерной колбе 6 н. NaOH до pH 5—6, доливают водой до метки, фильтруют, разводят водой примерно из расчета 1 *г* сухих клеток на 1—6 *л* воды.

Разведение исследуемого материала. Способность разных микроорганизмов к биосинтезу витаминов неодинакова. Содержание витаминов в тех или иных субстратах также различно, поэтому нельзя установить для них общих оптимальных разведений исследуемого материала. Оптимальными разведениями считаются те, которые могут быть сравнимы с количествами чистых витаминов, взятых для построения стандартных кривых. Например, для Myc. phlei эти разведения оказались следующими.

Витамин	*Фугат*	*Сухие клетки*
PP	1 : 20	1 : 3000
B_3	1 : 200	1 : 3000
B_6	1 : 300	1 : 5000
Инозит	1 : 20	1 : 200
B_1	1 : 10	1 : 100
Биотин	1 : 100	1 : 1000

Для каждого образца берут ряд из 6—8 пробирок с последовательными разведениями, часть из которых можно будет сравнивать с показаниями шкалы, или проводят предварительное, ориентировочное исследование с целью подбора разведений.

Получение стандартных кривых. Стандартная шкала (кривая) нужна для того, чтобы сравнивать рост тест-культур в пробирках шкалы, содержащих известные количества витамина, с ростом тест-культур в пробирках, содержащих в качестве источника витамина испытуемый материал. Одинаковый рост указывает на то, что в пробирках содержится одинаковое количество витамина. Стандартная кривая строится на основании данных по размножению тест-культуры в пробирках шкалы, в которые к основной среде Ридер добавлены разные количества определяемого витамина. Интенсивность роста тест-культуры в пробирках определяется по мутности, которая измеряется в единицах оптической плотности на фотоэлектронефелометре или фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром (работают на правом барабане). В качестве примера оптическая плотность с разбавленным стандартным раствором PP при учете на ФЭК-М приведена в табл. 47.

Тогда стандартная кривая (построенная по данным табл. 47) для определения количества никотиновой кислоты будет следующая (рис. 20).

Таблица 47

Оптическая плотность при разных количествах витамина РР в пробирках (шкала, по которой строят кривую)

Разведение рабочего раствора витамина	Содержание витамина в пробирке (*мкг*)	Оптическая плотность в пробирке			
		1-й	2-й	3-й	средняя из трех пробирок
1:64	0,00025	0,011	0,015	0,019	0,015
1:32	0,0005	0,026	0,024	0,025	0,025
1:16	0,001	0,040	0,042	0,039	0,040
1:8	0,002	0,087	0,085	0,090	0,087
1:4	0,004	0,162	0,171	0,160	0,164
1:2	0,008	0,264	0,258	0,275	0,265

Для каждого витамина строится своя стандартная кривая. Чтобы приготовить шкалу, нужно иметь рабочие растворы витаминов. Они готовятся следующим образом. Берут навески витаминов в несколько миллиграммов, растворяют их в дистиллированной воде с таким расчетом, чтобы в 1 *мл* раствора содержался 1 *мг* витамина. Эти стандартные растворы разводят и получают рабочие растворы (табл. 48).

Приготовление шкал с витаминами заключается в том, что в стерильные пробирки, которых берут по три, параллельные для каждого разведения, наливают точно

Таблица 48

Рабочие растворы витаминов для приготовления шкал

Витамин	Стандартный раствор (*мг* в 1 *мл*)	Разведение стандартного раствора		Рабочий раствор (*мкг* в 1 *мл*)
		1-е	2-е	
B_6 . . .	1	0,1 *мл* до 100 *мл*	1 *мл* до 500 *мл*	0,002
РР . . .	1	0,1 » » 100 »	16 » » 100 »	0,16
B_3 . . .	1	0,1 » » 100 »	16 » » 100 »	0,16
B_1 . . .	1	0,1 » » 100 »	1 » » 500 »	0,002
Инозит	1	0,1 » » 10 »	5 » » 50 »	0,1
Биотин	0,01	0,1 » » 10 »	—	0,0001

по 2 *мл* среды Ридер (без испытуемого витамина). В 3 пробирки первого ряда наливают по 2 *мл* среды двойной концентрации, а в остальные — обычной. Пробирки подписывают (карандашом «стеклограф»), указы-

вая по порядку номера, соответствующие известным количествам микрограммов витамина, содержащимся в каждой из них. В первый ряд пробирок добавляют по 2 *мл* рабочего раствора витамина, при этом получается его разведение средой в 2 раза. После тщательного перемешивания содержимого каждой пробирки пипеткой из них берут по 2 *мл* жидкости и переносят в пробирки следующего ряда, опять перемешивают и вновь переносят по 2 *мл*. Так делают ряд последовательных разведений, в каждом из которых содержится витамина в 2 раза меньше, чем в предыдущем. Для того чтобы во всех пробирках был одинаковый объем жидкости (2 *мл*), из последних пробирок выливают по 2 *мл* лишних.

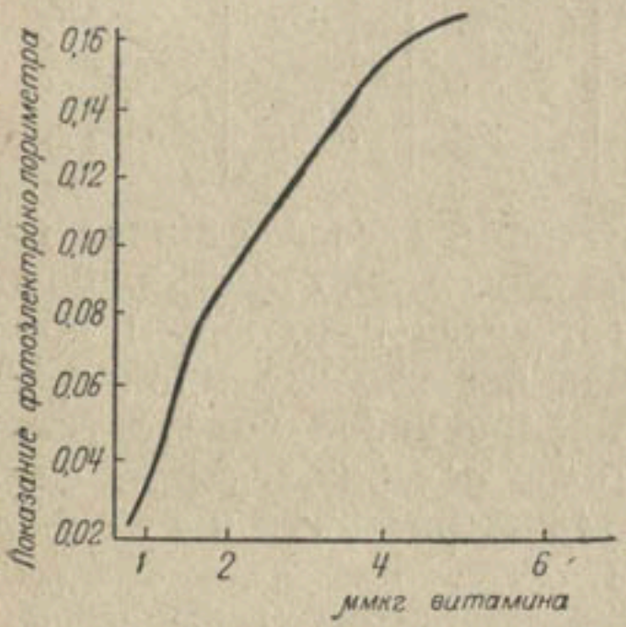


Рис. 20. Кривая определения количества никотиновой кислоты.

Схема расстановки пробирок для приготовления разведений при определении количества витаминов приведена на рис. 21.

Пробирки с приготовленными разведениями витамина стерилизуют в автоклаве 10 минут при 0,5 *атм*. В простерилизованные пробирки вносят по 1—2 капли 2-суточной суспензии тест-культуры, предварительно пассированной несколько раз на жидкой среде Ридер, не содержащей изучаемого витамина.

Рост тест-культуры перед ее использованием должен быть очень скудным, в виде слабого помутнения среды. Засеянные пробирки помещают в термостат при 28°.

Шкалы готовят для каждого опыта отдельно, так как он должен ставиться в абсолютно тождественных условиях параллельно с исследуемым материалом.

Порядок определения. Для работы используют пробирки, вымытые хромпиком, высушенные, закрытые ватными пробками и простерилизованные. Их расставляют в штативы так же, как и при приготовлении шкалы: по 7 рядов для каждого испытуемого образца, по 3 параллельных в каждом ряду. В пробирки разливают среду

Ридер по 2 *мл:* в первый ряд — двойной концентрации, в остальные — обычной.

Следует помнить, что для определения различных витаминов используют не одну и ту же среду Ридер. В каждом случае при добавлении набора витаминов исключают определяемый, а в некоторых случаях все, например при определении инозита, тиамина, биотина и других, как указано выше, в соответствии с потребностями в витаминах каждого теста.

Испытуемый материал (автолизат бактериальных клеток, культуральная жидкость или ее фугат, питательные среды и др.) разводят водой 1 : 10. Для клеток учитывают разведение, полученное при приготовлении автолизата. Это исходное разведение вносят в 3 пробирки первого ряда, по 2 *мл* в каждую.

На пробирках надписывают номер испытуемого образца, название определяемого витамина и порядковый номер разведения, начиная с 1-го, соответствующего разведению 1 : 20 или больше, в зависимости от цели исследования, и кончая 7-м. После этого делают разведения так же, как при приготовлении стандартной шкалы; затем пробирки стерилизуют и засевают тест-культурой, как описано выше. Скорость роста тест-культур неодинакова, поэтому засеянные пробирки оставляют в термостате на разные промежутки времени: например, при определении B_6 с Saccharomycodes Ludwigii — на 40 часов, B_6 с Zigosaccharomyces disporus D. — на 24 часа, PP с Zigosaccharomyces 737 — на 24 часа. B_3 с Saccharomyces cerevisea — на 24 часа, биотина (B_7) с Saccharomyces ellipsoideus — на 96 часов, инозита (B_8) с Saccharomyces carlsbergensis — на 96 часов.

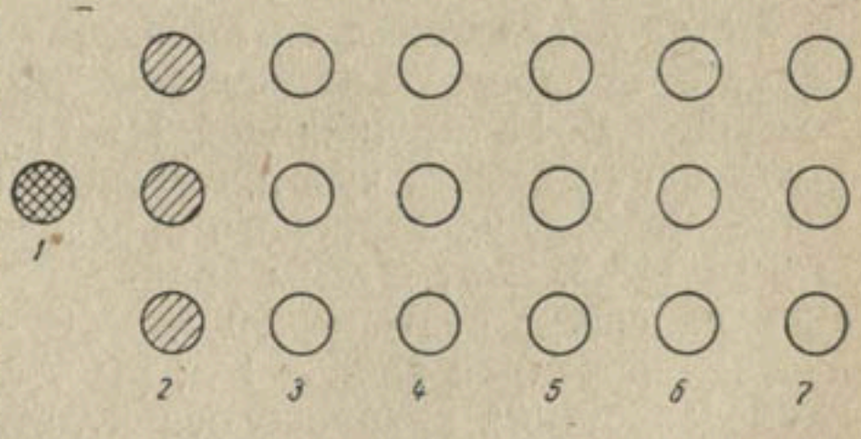


Рис. 21. Схема расстановки пробирок для приготовления разведений при определении количества витаминов.

1 — рабочий раствор витамина, *2* — среда Ридер двойной концентрации, *3* — *7* — среда Ридер нормальной концентрации, но с разными разведениями раствора витаминов (*3* — 1 : 4; *4* — 1 : 8; *5* — 1 : 16; *6* — 1 : 32; *7* — 1 : 64).

Учет интенсивности роста тест-культур производят на электроколориметре (нефелометре), на котором ноль устанавливают с кюветами, заполненными средой Ридер без испытуемого витамина, но засеянной тест-культурой или соответствующими разведениями испытуемой жидкости (если она имеет окраску).

Показания ФЭК (оптическую плотность) записывают в заранее разграфленные таблицы, по каждому витамину отдельно (табл. 49).

Таблица 49

Оптическая плотность и количество витамина РР в пробирках с разным содержанием испытуемого материала

Степень разведения испытуемого материала	Показания ФЭК				Содержание РР в пробирке по сравнению со шкалой	Количество РР		
	при 1-й повторности	при 2-й повторности	при 3-й повторности	среднее из трех повторностей		*мкг* в 1 *мл*		*мкг* в 1 *л*
						в пробирке	среднее	
1:1280	0,018	0,012	0,018	0,016	—	—		
1:640	0,028	0,022	0,022	0,024	0,0005	0,32		
1:320	0,048	0,032	0,040	0,040	0,0010	0,32		
1:160	0,066	0,075	0,075	0,072	0,0017	0,27	0,29	290
1:80	0,144	0,140	0,142	0,142	0,0032	0,26		
1:40	0,254	0,252	0,250	0,252	0,0072	0,29		
1:20	0,331	0,294	0,362	0,329				

Содержание витамина в пробирках устанавливают, сравнивая величину показаний ФЭК (оптической плотности) с его показаниями при добавлении в среду определенных количеств данного витамина. При сравнении используют стандартную кривую.

Количество витамина в 1 *мл* жидкости вычисляют умножением количества витамина в пробирке на разведение испытуемой жидкости.

Метод определения витамина B_{12} в микробных клетках. Метод определения витамина B_{12} описан С. М. Чайковской и Е. Н. Дружининой (1957). Он основан на использовании весьма чувствительного к наличию в среде витамина B_{12} индикаторного организма Escherichia coli, штамм 113-3. Этот штамм хранят в лабораторных условиях на среде: пептон — 20 *г*, NaCl — 5 *г*, агар — 18 *г*, дистиллированная вода — 1 *л*; pH 7,0. Перед употреблением (за сутки) хранившуюся культуру E. coli пересе-

вают в пробирки на свежеприготовленную питательную среду того же состава.

В качестве основной среды при анализе используют среду № 4, состоящую из NH_4Cl — 2 *г*, NaCl — 3, K_2HPO_4 — 0,4, лимоннокислого натрия — 3, лактозы — 3, глюкозы — 10, агара — 20 *г* на 1 *л*; pH среды 7,0. Стерилизация при 0,5 *атм* в течение 15 минут. Среду № 4 разливают в колбы по 100—200 *мл*.

Перед исследованием образец подготавливают. Для этого изучаемые микроорганизмы выращивают в чашках Петри на поверхности агаровой среды, затем клетки собирают шпателем и высушивают при температуре 45° в сушильном шкафу. На аналитических весах делают навески сухих клеток (около 25 *мг* каждая) и переносят в 1%-ный раствор лимоннокислого натрия, разлитый в пробирки по 5 *мл*. Перед стерилизацией в каждую пробирку добавляют по 0,5 *мл* 5%-ного раствора нитрита натрия. Стерилизуют при 0,5 *атм* в течение 15 минут.

В результате такой обработки клеток витамин B_{12} освобождается от белкового комплекса и переходит в раствор. Определение количества витамина B_{12} в микробных клетках состоит в следующем. Основную среду № 4 расплавляют на водяной бане и охлаждают до 50°, после чего на 100 *мл* среды вносят 1,5—2,0 млрд. клеток E. coli 113-3, смытых с агаровых косяков. Концентрацию взвеси устанавливают по бактериальному стандарту.

Среду с внесенной тест-культурой разливают в чашки Петри с ровным дном, примерно по 15 *мл* в каждую. После застывания агара на его поверхности расставляют цилиндрики (по 4—6 шт. на каждую чашку), в которые капают разные концентрации испытуемых вытяжек по 0,1 *мл* без разведения и разведенные 1 : 2 и 1 : 4.

Для сравнения в 2 цилиндрика на этой же чашке закапывают по 0,1 *мл* стандартного раствора витамина B_{12} в концентрации 0,05 *мкг* на 1 *мл*. Стандартный раствор получают разведением содержащегося в ампуле (аптечная упаковка) исходного раствора 1%-ным раствором лимоннокислого натрия до концентрации 1 *мкг* на 1 *мл*. Этот раствор разводят до концентрации 0,05 *мкг* на 1 *мл*. Жидкость из цилиндриков диффундирует в агар, и при наличии в ней витамина B_{12} в зоне диффузии появляется рост тест-культуры. Диаметр зон роста E. coli вокруг цилиндриков пропорционален

Таблица 50

Пример расчета количества витамина B_{12} с использованием таблиц Дмитриевой
(запись в рабочем журнале)

Объект исследования	Концентрация	Количество испытуемой жидкости (*мл*)	Диаметр зон				Вычисление по таблицам			
			в 1-й повторности	во 2-й повторности	в 3-й повторности	среднее из трех повторностей	поправка (*мк*)	диаметр зон с поправкой (*мк*)	разность диаметра зон (*мк*)	B_{12} по таблицам (*мкг*)	B_{12} в бактериальных клетках (*мкг* на 1 *г*)
Бактериальные клетки	25,2 *мг* в 5,5 *мл*	0,1	15	16,0	15	15,3	—	15,8	2,2	0,686	7,484
		0,05	12	13,3	14	13,1	—	13,6	—	—	—
Витамин B_{12}	0,05 *мг* в 1 *мл*	0,1	17	16,0	16,5	16,5	+0,5	—	—	—	—

логарифму концентрации витамина B_{12} в жидкости, налитой в данный цилиндрик.

После выдерживания чашек в термостате при 37° в течение 16—18 часов с них снимают цилиндрики и измеряют диаметры зон роста тест-культуры. Для расчета количества витамина B_{12} в испытуемой жидкости пользуются таблицами В. С. Дмитриевой (Н. С. Егоров, 1965), в которых за единицу принят диаметр зоны, получающейся от диффузии в агар 0,05 *мкг* на 1 *мл* раствора витамина B_{12}, равный при точном соблюдении методики исследования 17 *мм* (табл. 50). Диаметр зон испытуемого гидролизата без разведения — 15,3 *мм*, разведенного в 2 раза — 13,1 *мм*. Диаметр зоны стандартного раствора B_{12}—16,5 *мм*. Поправка на точность 17,0—16,5=0,5 *мм*. Диаметр зон с поправкой равен 15,8 (15,3+ +0,5) и 13,6 *мм* (13,1+0,5). Разность зон при разной концентрации гидролизата клеток и раствора

равна 2,2 *мм* (15,8—13,6). Находят таблицу, в заглавии которой указана нужная разность диаметров (в данном случае 2,2). В вертикальном столбце слева находят цифру диаметра зоны, полученной от испытуемого гидролизата (без десятых), т. е. для данного примера 15. В горизонтальной верхней строке находят цифру, соответствующую десятым долям, т. е. 0,3. В точке пересечения будет цифра 0,686, соответствующая количеству B_{12} в испытуемом гидролизате.

Пересчет на 1 *г* сухих клеток производят следующим образом. Содержание витамина в навеске 25,2 *мг* (*в*) вычисляется по формуле:

$$в = \frac{а \cdot б}{г},$$

где: *а* — количество B_{12} в 1 *мл* испытуемой жидкости (*мкг*);

б — объем жидкости в пробирке (*мл*);

г — разведение стандартного раствора витамина B_{12}.

Следовательно:

$$в = \frac{0{,}686 \cdot 5{,}5}{20} = 0{,}1886.$$

Тогда в 1 *г* содержание витамина (*х*) будет:

$$х = \frac{0{,}1886 \cdot 1000}{25{,}2} = 7{,}484 \text{ } мкг \text{ на 1 } г \text{ клеток.}$$

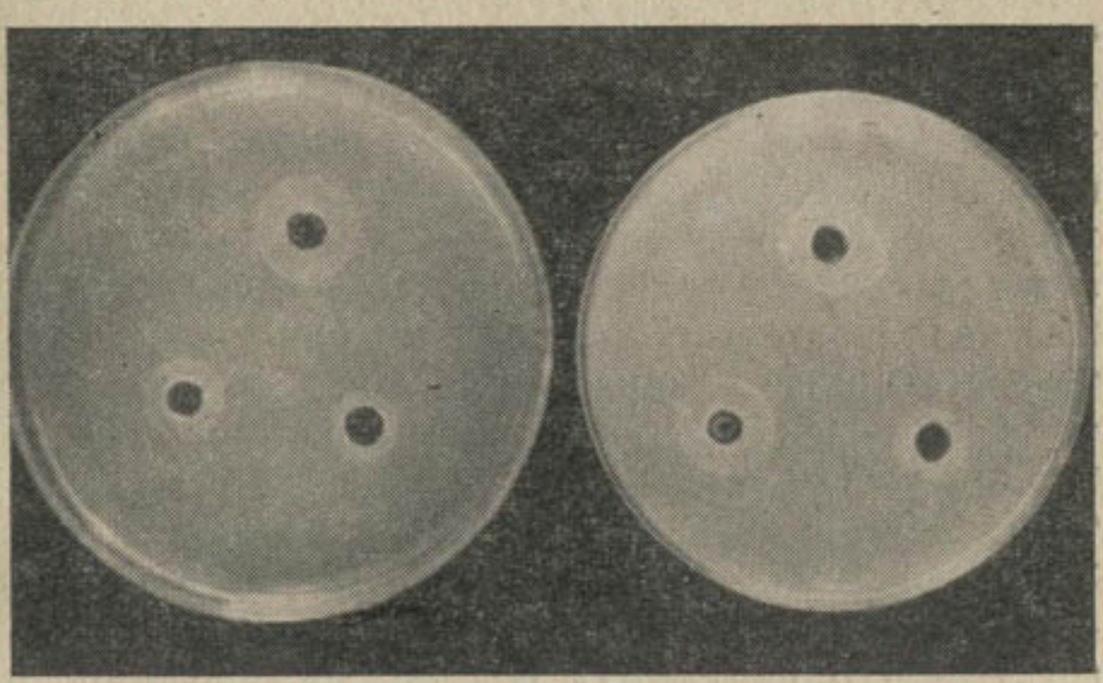


Рис. 22. Рост индикаторной культуры Escherichia coli 113-3 в зоне диффузии в агар витамина B_{12}.

При качественном определении способности микроорганизмов синтезировать витамин B_{12} можно ограничиться выяснением их способности давать зоны роста тест-организма. В этом случае вместо расстановки цилиндриков на агар можно делать пробочным сверлом колодцы в агаре и в них закапывать испытуемый гидролизат. По величине зон в сравнении с величиной зоны, полученной от стандартного раствора B_{12}, можно приблизительно судить о биосинтетической активности данного микроорганизма (рис. 22).

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕТЕРОАУКСИНА В КУЛЬТУРАХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Изучаемые микроорганизмы выращивают в жидкой питательной среде, разлитой в колбочки емкостью 250 *мл*, по 50 *мл* в каждую. Для эпифитных микроорганизмов можно использовать капустную среду № 19. Выращивание ведут в течение 10 суток. Полученную культуральную жидкость подкисляют 2 н. HCl до pH 1,0 по индикатору тимолблау. Индикатор не приливают к испытуемой жидкости, а определяют pH в отобранных пробах.

Для приготовления 2 н. HCl берут 73 *г* концентрированной HCl (уд. вес 1,09) и доводят водой объем до 1 *л*. Для приготовления индикатора тимолблау навеску вещества 0,04 *г* растворяют в 100 *мл* спирта. Раствор имеет красный цвет, который в кислой среде изменяется до желтого.

Подкисленную культуральную жидкость объемом 120 *мл* разливают тонким слоем в чашки Петри и выпаривают в сушильном шкафу при 40° до 20 *мл*. Для получения вытяжек гетероауксина к раствору после его выпаривания (20 *мл*) приливают 30 *мл* серного эфира и встряхивают в течение 4 часов на качалке в темноте. После этого жидкость отстаивают 12 часов на холоду; отстой эфира сливают, а в жидкость снова добавляют 30 *мл* эфира и повторяют тем же способом получение вытяжки и отстоя, т. е. снова встряхивают 4 часа, отстаивают в холодильнике 12 часов и сливают отстой.

Эфирную вытяжку (60 *мл*) разливают в фарфоровые чашки и ставят в вытяжной шкаф для испарения. По мере уменьшения объема жидкость сливают в одну маленькую фарфоровую чашку (диаметром 3 *см*), высушивают до получения сухого остатка, к нему приливают 0,1 *мл* воды, растирают стеклянной палочкой и наносят по 20 капель петлей (0,01 *мл*) на точку старта на хроматографическую бумагу. Бумагу берут сорта Ленинградская медленная и нарезают ее полосами 3,5×20,0 *см*.

Хроматограммы делают восходящие, т. е. полоски бумаги подвешивают на вешалку, а нижний конец опускают в чашечку с растворителем. Все накрывают стеклянным колпаком. Растворителем служит смесь н-бутилового спирта, аммиака и воды, взятых в соотношениях 40 : 10 : 50; их смешивают в делительной воронке и для разгонки используют только верхний, отстоявшийся слой. Хроматограммы разгоняют до тех пор, пока жидкость не поднимется по бумаге до самого верха, на что потребуется 2 дня. После этого бумагу снимают, сушат в вытяжном шкафу при комнатной температуре и проявляют, обрызгивая ее из пульверизатора проявителем так, чтобы она стала сырой. Проявителем служит смесь 5%-ной хлорной кислоты ($HClO_4$) и 0,05 М хлорного железа $FeCl_3$ (рыжего цвета) в соотношении 50 : 1 (100 *мл* 5%-ной $HClO_4$ + 2 *мл* 0,05 М $FeCl_3$)*.

Для приготовления 5%-ной $HClO_4$ нужно взять 56 *мл* продажного $HClO_4$ с удельным весом 1,54 и довести до 1 *л* водой. 0,05-молярный раствор хлорного железа получают разведением 8,125 *г* $FeCl_3$ в 1 *л* воды.

Хроматограмму, обрызганную проявителем, сушат в сушильном шкафу при 60°. В процессе сушки на ней проявляется пятно гетероауксина красно-фиолетового цвета. Контролем для каждого определения служат сделанные этим же методом хроматограммы стерильной питательной среды, используемой для выращивания опытных бактерий. По величине и интенсивности окраски пятен можно судить о количестве гетероауксина, синтезированного разными микроорганизмами. При этом пятна, полученные на хроматограммах при исследовании

---

* Можно использовать реактив Сальковского, который готовят в виде смеси из 200 *мл* 2,5%-ной $HClO_4$ и 0,5 *мл* 0,5 М $FeCl_3 \cdot 6H_2O$.

культуральных жидкостей, сравнивают с пятнами, полученными на хроматограммах после разгонки и проявления разведений чистого препарата гетероауксина. Шкала (рис. 23) составляется из разведений с содержанием гетероауксина от 1 до 20 *мкг* на 1 *мл* (0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 16; 20).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРОТИНА В КЛЕТКАХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Каротин определяют в сухих клетках или во влажной биомассе, полученной центрифугированием культуральных жидкостей или снятием клеток с поверхности агаровой среды.

Для исследования берут точно взвешенную навеску клеток, так как в дальнейшем количество каротина пересчитывают на 1 *г*.

Для исследования микробных пигментов и выявления в их составе β-каротина можно использовать метод бумажной хроматографии, разработанный Д. И. Сапожниковым с сотрудниками (1965) для растительных объектов и модифицированный А. В. Хотяновичем (1965) для анализа микроорганизмов. Порядок определения состоит в следующем. Навеску клеток

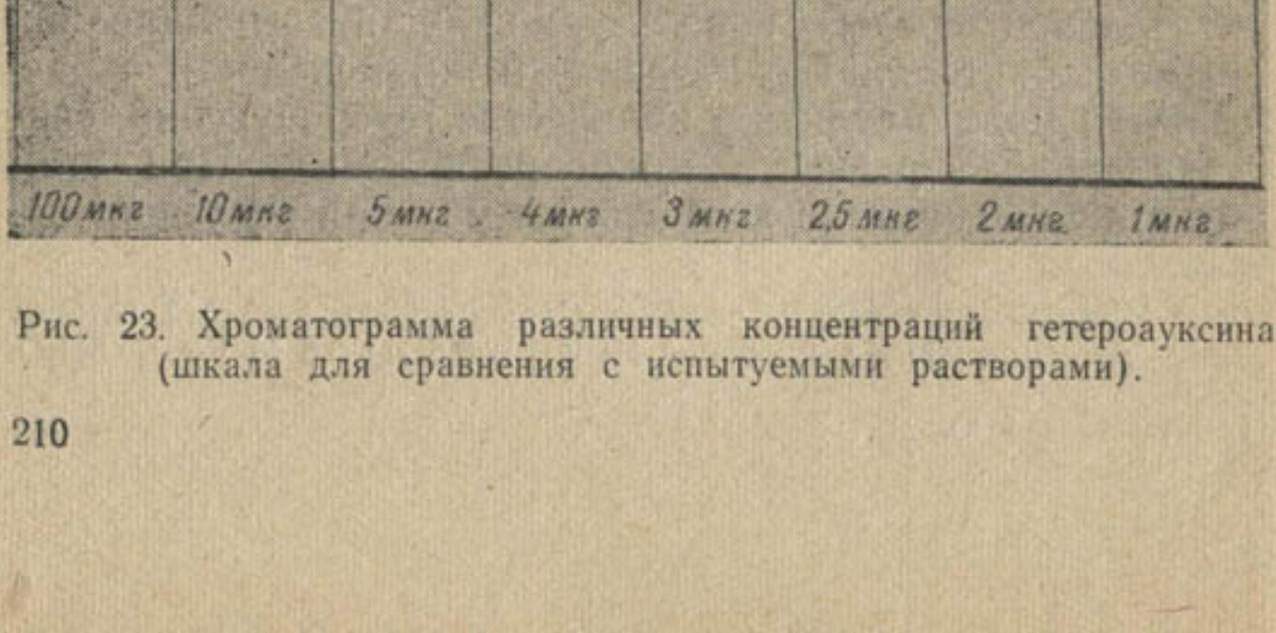


Рис. 23. Хроматограмма различных концентраций гетероауксина (шкала для сравнения с испытуемыми растворами).

переносят в фарфоровую ступочку и добавляют окись кальция (CaO) для быстрого высушивания биомассы. CaO в силу своей гигроскопичности быстро отнимает у бактериальных клеток воду, и поэтому можно исключить процедуру их предварительного высушивания в термостате.

Клетки тщательно растирают с толченым стеклом, постепенно добавляя растворитель. Каротиноиды извлекают вначале спиртом, а затем ацетоном. Общее количество растворителей составляет 10—20 *мл*. Полученную взвесь переносят в стеклянный стаканчик. Для получения экстракции пигментов стаканчик слегка нагревают, а затем экстракт выливают в шоттовскую воронку с фарфоровым фильтром № 3 или № 4. Фильтрат, содержащий пигменты, перешедшие в него из микробных клеток, измеряют в мерном цилиндрике. После этого 2—3 *мл* фильтрата наносят широкой полосой на нижний край хроматографической бумаги (сорта Ленинградская быстрая), нарезанной размером 15×15 *см*.

Нанесение жидкости производится при постоянном подсушивании бумаги теплым воздухом. Затем бумагу с нанесенным фильтратом ставят в стеклянный сосуд, на дно которого наливают растворитель — петролейный эфир и бензол в соотношении 1 : 15. Сосуды плотно прикрывают сверху стеклом и темным материалом и оставляют на $^1/_2$ часа для разгонки.

На восходящей хроматограмме пигменты четко разделяются, давая различно окрашенные полосы. Полоса β-каротина движется вместе с фронтом растворителя, располагаясь в самой верхней части хроматограммы, и имеет желтый цвет. Вслед за ней идет полоса желто-розового цвета — γ-каротин. По наличию этих полос на хроматограммах, полученных при разгонке экстрактов из клеток микроорганизмов, судят о их способности к биосинтезу β- и γ-изомеров каротина.

Для определения количества β- или γ-каротина, содержащегося в составе микробных пигментов, отрезают соответственно желтую или желто-розовую полосу (каждую в отдельности), измельчают их ножницами и заливают для элюции пигмента 4—6 *мл* спирта с ацетоном в соотношении 1 : 3. Объем элюата измеряют, а затем колориметрируют на фотоэлектроколориметре. Полученный результат пересчитывают на 1 *г* клеток, учитывая

объем экстракта из клеток и элюата из бумаги. При пересчете на сухой вес клеток учитывают влажность биомассы (табл. 51).

Таблица 51

Определение количества каротина в клетках микроорганизмов

Исследуемый образец	Навеска клеток (*мг* на 20 *мл*)	Объем экстракта из клеток (*мл*)	Объем, нанесенный на хроматограмму (*мл*)	Объем элюата из полос (*мл*)	Показание ФЭК*	Биомасса (*г* на 1 *л*)	Каротин	
							мкг на 1 *г*	*мкг* на 1 *л*
Культура:								
10	640	13	2	6,2	0,158	32,0	63,77	2040
157	930	10	2	5,2	0,324	46,5	58,06	2698

МЕТОДЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ СЕМЯН

Стерилизация семян перекисью водорода. Партию обрабатываемых семян делят на 2 части. Одну из них в марлевом мешочке погружают на несколько (3—5) минут в воду, затем вынимают и сразу же смешивают со второй половиной семян (сухих). Подготовленные таким образом семена покрывают влажной тряпкой и оставляют на 4—6 часов для оживления эпифитной микрофлоры, имеющейся на семенах. За это время микроорганизмы успевают выйти из состояния анабиоза, а споры — прорасти в вегетативные клетки. Оболочка семян набухает, в результате чего имеющиеся на ней поры приоткрываются. После этого семена помещают в специальную стерильную воронку (рис. 24) и заливают раствором перекиси водорода для стерилизации.

Для разных семян употребляют перекись водорода различной концентрации и выдерживают в ней семена разное время. Концентрация должна быть подобрана так, чтобы семена стали стерильными без снижения всхожести. Можно снизить концентрацию перекиси, но

---

* Показание ФЭК умножают на коэффициент 6,41 для пересчета по сравнению со стандартной кривой раствора каротина.

тогда следует удлинить срок обработки семян. Например, стерильность семян проса достигается или обработкой 15%-ным раствором перекиси в течение 30 минут, или обработкой 10%-ным — в течение 40 минут. Опытным путем установлено, что для достижения стерильности семена кукурузы следует обрабатывать 30%-ной перекисью водорода * 20 мин., семена проса 15%-ной — 30 мин., семена ячменя и овса 10%-ной — 30 мин., томата 20%-ной — 45 мин. и т. д.

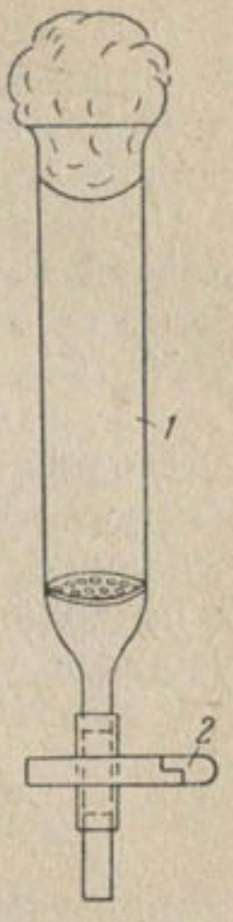


Рис. 24. Воронка для стерилизации семян.

1 — воронка для обработки семян, *2* — кран для слива жидкости.

После выдерживания семян в растворе перекиси ее сливают через нижнюю трубку, открывая зажим, и приступают к промывке семян стерильной водой. Воду наливают в воронку с семенами сверху и сливают снизу. Для соблюдения стерильности удобнее воронку присоединить резиновой трубкой с зажимом Мора к тубусу со стерильной водой. Промывают семена 6—8 раз. Для проверки стерильности их небольшими порциями помещают в пробирки с 1—2 *мл* жидкой питательной среды (не более), так как под высоким слоем жидкости семена могут задохнуться и потерять всхожесть. Те пробирки с семенами, в которых через 1—2 дня не появится помутнения, считают стерильными. Для работы используют наклюнувшиеся семена.

Стерилизация семян сулемой. При этом методе семена помещают в стерильную воронку и заливают раствором сулемы, концентрация которой для разных семян различна. Так, для овса и ржи степень разведения 1 : 1000, для кукурузы — 1 : 3000, для огурцов — 1 : 5000. Стерилизуют семена в течение 3 минут. Затем раствор сулемы сливают и семена один раз промывают стерильной водой. После этого их споласкивают (не более 30 сек.) абсолютным спиртом и промывают 10%-ным

---

* При разведении продажной перекиси водорода следует учитывать, что ее крепость равна 30%.

раствором спирта. Воду для приготовления этого раствора предварительно стерилизуют. Одну партию семян промывают 1 *л* спиртового раствора. Смену раствора в воронке производят через каждые 5—10 минут.

После промывки спиртом семена промывают 1 *л* стерильной воды тем же способом, как указано выше. Промытые семена раскладывают на капустный агар или среду № 19 в чашки Петри и проращивают в течение 1—2 суток. Такой прием необходим, ибо при этом не только контролируется полнота стерильности семян, но также снимается остаточная токсичность семян благодаря оттягиванию агаром остатков сулемы (катиона ртути) с их поверхности. Для работы используют только наклюнувшиеся семена.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ДОСТОВЕРНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПЫТА (МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ)

При изучении влияния тех или иных факторов на рост и урожай растений опыты обычно проводят с несколькими повторностями для того, чтобы получить средние данные из ряда варьирующих величин. Для биологических объектов это особенно важно, так как их признаки очень вариабельны. Однако среднеарифметические показатели даже при большом числе повторностей не всегда точно отражают различия между вариантами, особенно при значительных колебаниях данных внутри варианта между отдельными повторностями.

Для того чтобы установить наиболее вероятный результат, пользуются методами математической статистики (П. Ф. Рокицкий, 1964; Б. А. Доброхотов, 1965; Б. А. Доспехов, 1967 и др.). При этом можно вычислить показатели точности опыта и погрешностей при выведении средней.

Обычно вычисляют следующие показатели.

1. Среднее квадратическое отклонение от арифметического среднего (σ), показывающее среднюю величину, на которую может отличаться большинство измерений от среднего арифметического; этот показатель, выраженный в процентах, может являться показателем достоверности опыта.

2. Ошибка средней арифметической, или ошибка опыта *(m)*, — это вероятная ошибка измерения среднего (*M*), которая характеризует погрешности опыта. Выражается в тех же единицах, как и измеряемая величина, т. е. в *г, см, кг* и пр.

Относительный показатель точности опыта (*m*%) представляет собой процентное отношение ошибки опыта *(m)* к средней арифметической. В хорошо проведенном опыте он не должен превышать 5%.

3. Достоверность разницы между средними разных вариантов опыта *(t)* вычисляется как отношение разности между средними *(d)* к корню квадратному из суммы квадратов ошибок *(md)*. Это отношение называется критерием существенности разницы и показывает, во сколько раз разность (в урожаях) превышает ошибку разности.

Разность считается достоверной, если критерий *t* превышает табличное *t*.

Ниже приведены значения критерия существенности *(t)* для опытов с 2—12 повторностями и 95%-ным уровнем вероятности.

Повторность опыта *(n)*	2	3	4	5	6—7	8—12
Значение критерия *(t)*	4,3	2,8	2,4	2,3	2,2	2,1

Значения критерия *t* показывают, во сколько раз при данной повторности опыта разность между средними урожаями (или другими изучаемыми признаками) должна превосходить ошибку разности *(md)*, чтобы суждения были достоверны с 95%-ным уровнем вероятности. Это означает, что ошибочное заключение возможно лишь в 5 случаях из 100.

4. Вычисляют также наименьшую существенную разность ($НСР_{0,95}$). Это та минимальная прибавка урожая, которую можно считать достоверной для данного опыта с 95%-ным уровнем вероятности. Разность между средними урожаями (или другими признаками) считают существенной, если она равна или превышает значение $НСР_{0,95}$. Формула для вычисления наименьшей существенной разности следующая:

$$НСР_{0,95} = t \cdot md,$$

где: *t* — критерий существенности;
md — ошибка разности.

Все перечисленные основные показатели достоверности опытов вычисляют по формулам и методами, рекомендуемыми в курсах вариационной статистики. Ниже приводятся примеры обработки данных некоторых опытов.

Пример определения вероятности среднего в одном варианте. Вегетационный опыт с пшеницей поставлен в 8 повторностях. Учтенный урожай зерна и вычисление отклонения приведены в табл. 52.

Таблица 52

Вычисление основного отклонения (δ) и ошибки среднего (m)

№ сосуда	Урожай ($г$)	Отклонение от среднего (v)	Квадрат отклонений (v^2)
1	7,90	+0,36	0,1296
2	6,90	—0,64	0,4096
3	7,50	—0,04	0,0016
4	6,27	—1,27	1,6129
5	8,70	+1,16	1,3456
6	8,20	+0,66	0,4356
7	7,97	+0,43	0,1849
8	6,92	—0,62	0,3844
M (среднее) = 7,54		$\Sigma v = 5,18$	$\Sigma v^2 = 4,5042$

Квадратическое отклонение (δ) равно:

$$\delta = \pm\sqrt{\frac{\Sigma v^2}{n-1}} = \pm\sqrt{\frac{4,5042}{7}} = \pm\sqrt{0,6434} = \pm 0,80.$$

То же по упрощенной формуле:

$$\delta = \frac{\Sigma v}{n} \cdot 1,253 \text{ (коэф.)} = \frac{5,18}{8} \cdot 1,253 = \pm 0,81^*.$$

Ошибку опыта (m) вычисляют по формуле:

$$m\frac{\delta}{\sqrt{n}} = \frac{0,81}{\sqrt{8}} = \frac{0,81}{2,83} = 0,29 \text{ } г.$$

$$M \pm m = 7,54 \pm 0,29 \text{ } г.$$

---

* Данные показывают, что можно пользоваться упрощенной формулой, не вычисляя квадрата отклонений (по А. В. Соколову, А. И. Ахромейко, В. Н. Панфилову, 1938).

Для определения точности опыта при данной ошибке среднего ее вычисляют в процентах:

$$m\% = \frac{m \cdot 100}{M} = \frac{0{,}29 \cdot 100}{7{,}54} = 3{,}8\%.$$

Пример определения достоверности разницы между средними показателями урожая в различных вариантах. В вегетационном опыте сравнивается действие разных удобрений (NPK и навоза) на урожай пшеницы. Повторность 6-кратная.

В табл. 53 приведены урожай пшеницы при различных вариантах удобрения и отклонение от среднего.

Таблица 53

Урожай пшеницы в разных вариантах и повторностях и его отклонение от среднего

Повторность	NPK		Навоз	
	урожай (*г*)	отклонение от среднего (v_1)	урожай (*г*)	отклонение от среднего (v_2)
1	10,25	−0,30	9,50	+0,53
2	11,00	+0,45	8,57	−0,40
3	10,34	−0,21	8,57	−0,40
4	10,64	+0,09	8,56	−0,41
5	10,77	+0,22	9,12	+0,15
6	10,13	−0,42	9,60	+0,63
M_1 (среднее) = 10,52		$\Sigma v_1 = 1{,}69$	M_2 (сред.)=8,97	Σv_2=2,52

Достоверность разницы (t) вычисляют по формуле:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} = \frac{d}{md}.$$

$$\delta_1 = \frac{\Sigma v_1}{n} \cdot 1{,}253 = \frac{1{,}69}{6} \cdot 1{,}253 = \pm 0{,}35.$$

$$m_1 = \frac{\delta_1}{\sqrt{n}} = \frac{0{,}35}{\sqrt{6}} = \frac{0{,}35}{2{,}45} = \pm 0{,}14.$$

$$\delta_2 = \frac{\Sigma v_2}{n} \cdot 1{,}253 = \frac{2{,}52}{6} \cdot 1{,}253 = \pm 0{,}52.$$

$$m_2 = \frac{\delta_2}{\sqrt{n}} = \frac{0{,}52}{\sqrt{6}} = \frac{0{,}52}{2{,}45} = \pm 0{,}21.$$

$$t = \frac{10{,}52 - 8{,}97}{\sqrt{0{,}14^2 + 0{,}21^2}} = \frac{1{,}55}{\sqrt{0{,}064}} = \frac{1{,}55}{0{,}25} = 6{,}02.$$

В этом опыте разница между вариантами (M_1 и M_2) достоверна, так как критерий t (6,02) оказался больше значения критерия табличного t (при 6 повторностях равный 2,2).

Пример определения достоверности разницы между вариантами. Достоверность опыта с учетом критерия t можно вычислить при сравнении парных вариантов.

Был проведен опыт по влиянию обработки семян ржи микробами-стимуляторами на рост проростков. Семена были замочены в воде (контроль) и в разведенной в 400 раз культуральной жидкости культуры 426. Учтен сухой вес корешков у 4-суточных проростков. В опыте было 10 повторностей (по 100 семян в каждой) и сравнивались парные варианты (табл. 54).

Если фактическое t равно или больше табличного, то разницу между сравниваемыми средними разных вариантов, т. е. 284,5 и 332, можно считать существенной.

Таблица 54

Сухой вес (в *мг*) корешков 100 проростков ржи и вычисление достоверности разницы между вариантами

Повторность	Семена замочены		Разность d	d^2	Вычисления
	в воде	в культуральной жидкости			
1	239	385	+146	21,416	$\Sigma d^2 = 65\,038$
2	249	357	+108	11,664	$(\Sigma d)^2 = 224\,676$
3	257	342	+ 85	7,225	Стандартная ошибка:
4	268	321	+ 53	2,809	$Sd = \sqrt{\frac{\Sigma d^2 - \frac{(\Sigma d)^2}{n}}{n\,(n-1)}} =$
5	292	362	+ 70	4,900	
6	268	310	+ 42	1,764	$= \sqrt{\frac{65\,038 \frac{224\,676}{10}}{10 \cdot 9}} =$
7	348	312	— 36	1,296	
8	258	356	+ 98	9,601	$= \sqrt{473} = 21{,}75.$
9	308	270	— 38	1,444	
10	359	305	— 54	2,910	$t = \frac{47{,}4}{21{,}75} = 2{,}17$
Сумма	2846	3320	474	65,038	t табличное при $n=10-1$ равно 2,1,
Среднее	284,6	332	47,4	—	t фактическое = 2,17

Пример определения ошибки (m), точности опыта ($m\%$) и существенности разности между средними (HCP) методом дисперсионного анализа. Применяя метод дисперсионного анализа, можно установить степень влияния различных факторов на варьирование изучаемого признака, например урожая в полевом опыте. Это варьирование зависит: 1) от изменчивости урожаев на делянках, которая характеризуется суммой квадратов отклонений поделяночных урожаев (c_1) от среднего урожая по опыту (M); 2) от изменчивости вариантов и повторений, которая характеризуется суммой квадратов отклонений средних урожаев по вариантам (c_2) или отклонениями по повторениям (c_3) от среднего урожая по опыту (M); 3) от случайных ошибок. Сумму квадратов случайных ошибок составляет разность между изменчивостью общего урожая и изменчивостью вариантов и повторений (c).

Обработка данных опыта по влиянию удобрений на урожай пшеницы при 6-кратной повторности приведена в табл. 55 и 56 и ниже.

Таблица 55

Урожаи пшеницы
(в *кг* с делянки площадью 30 $м^2$)

Вариант опыта	y_1	y_2	y_3	y_4	y_5	y_6	Среднее арифметическое из повторностей	Сумма урожая по вариантам (S)
Без удобрений	7,30	8,21	7,44	7,60	7,77	7,25	7,60	45,57
NPK . . .	10,25	11,00	10,34	10,64	10,77	10,13	10,55	63,13
Навоз	9,50	8,57	8,57	8,56	9,12	9,50	8,97	53,82
NPK+навоз .	11,40	10,73	10,27	9,70	9,37	10,27	10,29	61,74
Суммы по повторностям ΣP	38,45	38,51	36,62	36,50	37,03	37,15	$\Sigma S = 224{,}26$	

Порядок вычисления точности опыта методом дисперсионного анализа следующий.

Находят средний урожай в опыте:

$$M = \frac{S}{n \cdot k} = \frac{224{,}26}{6 \cdot 4} = 9{,}34 \text{ кг с 1 делянки,}$$

где: n — число повторностей;
k — число вариантов.

Таблица 56

Вариант опыта	y_1^2	y_2^2	y_3^2	y_4^2	y_5^2	y_6^2	Квадраты суммы урожаев по вариантам (S^2)
Без удобрений	53,29	67,04	55,35	57,80	60,37	52,56	2076,62
NPK	105,06	121,00	106,92	113,21	115,99	102,62	3985,40
Навоз	90,25	73,44	73,44	73,27	83,17	90,25	2896,58
NPK+навоз .	130,00	115,13	105,47	94,09	87,80	105,47	3811,83
Суммы квадратов по повторениям ΣP^2	378,60	376,61	341,18	338,37	347,33	350,90	ΣS^2= =12770,44

Обозначения. y_1, y_2 и т. д. — урожаи по повторностям, S — сумма урожаев по вариантам, P — сумма урожаев по повторностям.

$\Sigma y^2 = 378{,}6 + 376{,}61 + 341{,}18 + 338{,}37 + 347{,}33 + 350{,}90 = 2132{,}99$ (сумма квадратов всех поделяночных урожаев).
$\Sigma P^2 = 38{,}45^2 + 38{,}51^2 + 36{,}62^2 + 36{,}50^2 + 37{,}03^2 + 37{,}15^2 = 8386{,}03$ (сумма квадратов урожаев по всем повторностям).

Определение корректирующего фактора, обозначенного буквой T:

$$T = \frac{\Sigma(S)^2}{n \cdot k} = \frac{224{,}26^2}{6 \cdot 4} = 2095{,}52.$$

$c_1 = \Sigma y^2 - T = 2132{,}99 - 2095{,}52 = 37{,}47$ (общее варьирование по опыту).

$$c_2 = \frac{\Sigma P^2}{k} - T = \frac{8386{,}03}{4} = 2095{,}52 = 0{,}98$$ (варьирование по вариантам).

$$c_3 = \frac{\Sigma S^2}{n} - T = \frac{12770{,}44}{6} - 2095{,}52 = 32{,}89$$ (варьирование по повторениям).

$c = 37{,}47 - (0{,}98 + 32{,}89) = 3{,}6$ (случайное варьирование).

Определение ошибки опыта (m):

$$m = \sqrt{\frac{c}{n(k-1)(n-1)}} = \sqrt{\frac{3{,}6}{6 \cdot 3 \cdot 5}} = \sqrt{0{,}04} = 0{,}2 \text{ кг с 1 делянки.}$$

Определение показателя точности опыта ($m\%$):

$$m\% = \frac{m \cdot 100}{M} = \frac{20}{9{,}34} = 2{,}14\%.$$

Определение наименьшей существенной разности ($HCP_{0,95}$).

$$HCP_{0,95} = md \cdot t,$$

где: m — ошибка опыта (0,2);

d — постоянный коэффициент ($\sqrt{2} = 1{,}41$);

t — критерий достоверности из таблицы при $(n \cdot k - 1)$.

$HCP_{0,95} = 0{,}2 \cdot 1{,}41 \cdot 2{,}1 = 0{,}59$ *кг* с 1 делянки.

$HCP_{0,95}$ примерно равна утроенной ошибке опыта $m = (0{,}2 \cdot 3 = 0{,}60$ *кг*).

Суждение о точности и достоверности опыта: опыт точен, если показатель точности $m\%$ не превышает 5%.

Разница между вариантами достоверна, если она равна или больше значения $HCP_{0,95}$. В нашем опыте прибавка урожая при удобрении делянок NPK составляла 10,55—7,60=2,95, при удобрении навозом 8,97—7,60=1,37, при удобрении смесью NPK и навоза 10,29—7,60=2,69. Все полученные прибавки урожая больше значения $HCP_{0,95} = 0{,}59$, следовательно, они достоверны.

Пример нахождения средней в вариационном ряду. Для нахождения статистически достоверной средней из большого числа измерений пользуются методом вариационных рядов.

Измерение длины корешков у 21 проросшего семени пшеницы дало следующие результаты (в *см*): 1,6; 2,0; 1,2; 3,0; 2,2; 3,6; 3,8; 4,2; 1,2; 2,6; 2,2; 3,2; 5,0; 4,0; 2,0; 2,8; 3,2; 4,2; 2,0; 3,4; 2,0.

Таблица 57

Распределение цифр длины корешков по вариационному ряду

Вариационный ряд длины корней	Частота встречаемости измерений в ряду (f)	Условные отклонения (a)	fa	Вариационный ряд длины корней	Частота встречаемости измерений в ряду (f)	Условные отклонения (a)	fa
1,2	2	—5	—10	3,2	2	+ 5	+10
1,4	—	—4	—0	3,4	1	+ 6	+ 6
1,6	1	—3	—3	3,6	1	+ 7	+ 7
1,8	—	—2	—0	3,8	1	+ 8	+ 8
2,0	4	—1	—4	4,0	1	+ 9	+ 9
2,2	2	—	—	4,2	2	+10	+20
2,4	—	+1	+0	4,4	—	+11	+ 0
2,6	1	+2	+2	4,6	—	+12	+ 0
2,8	1	+3	+3	4,8	—	+13	+ 0
3,0	1	+4	+4	5,0	1	+14	+14

Формула для нахождения искомой средней арифметической:

$$x = A + b,$$

где: A — примерная средняя арифметическая, взятая произвольно (в данном примере 2,2);
b — поправка для перехода от средней условной арифметической к искомой средней арифметической.

$$b = i\frac{\Sigma fa}{n},$$

i — интервал в ряду, равный 0,2;
f — частота встречаемости каждого измерения;
a — условные отклонения; при показаниях ниже среднего величина отрицательная (−), выше среднего — положительная (+);
n — количество измерений.

$$\Sigma fa = 57;\ b = 0{,}2 \cdot \frac{57}{21} = 0{,}54;\ x = 2{,}2 + 0{,}54 = 2{,}74.$$

Средняя, наиболее вероятная длина корней для данного образца семян оказалась 2,7 *см*, тогда как средняя арифметическая была бы равной 2,3.

ЛИТЕРАТУРА

Андреева Е. А., Щеглова Г. М. Использование растениями азота почвы и азота удобрений. «Агрохимия», № 10, 1966.

Андреюк Е. И., Владимирова Е. В. Образование гетероауксина почвенными актиномицетами. Мікробіологічний журнал, т. XXV, вып. 5, 1963.

Андрюк Е. И., Коган С. Б. Синтез витаминов группы В почвенными актиномицетами. «Микробиология», т. 36, вып. 2, 1967.

Африкян Э. К., Туманян В. Г., Бобикян Р. А. Применение антибиотиков и микробов-антагонистов в борьбе с некоторыми болезнями сельскохозяйственных растений. В кн. «Почвенная и сельскохозяйственная микробиология». Изд. АН УзССР, 1963.

Белов Е. А. Влияние органо-минеральных удобрений на микрофлору почвы и корневой системы растений. «Агробиология», № 2, 1959.

Березова Е. Ф. Бактеризация семян как метод борьбы с болезнями льна. «Микробиология», т. VIII, вып. 2, 1939.

Березова Е. Ф., Наумова А. Н. Миколитические бактерии в корневой системе растений. «Микробиология», т. 8, вып. 6, 1939.

Бершова О. И. Влияние микроэлементов на микроорганизмы ризосферы сельскохозяйственных растений. Автореферат диссертации. Киев, 1965.

Блузманас П. И. Влияние тиамина и никотиновой кислоты на рост и урожай культурных растений. «Витамины», сб. IV, Киев, 1959.

Блузманас П. И., Урбетите П. М. Влияние тиамина и гиббереллина на рост и цветение некоторых декоративных растений. В кн. «Физиологически активные вещества и их применение в растениеводстве». Вильнюс, 1965.

Бранцевич Л. Г. Влияние азотобактера на некоторые физиолого-биохимические особенности растений. Автореферат диссертации, 1963.

Былинкина В. Н. Влияние поливов на микробиологический режим предкавказского чернозема. Тр. ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, т. XIV, 1958.

Бычковская А. Л., Крутикова Л. П. Получение волокна из лубяных растений биологическим путем. В кн. «Использование микроорганизмов в сельском хозяйстве». Сельхозиздат, 1962.

Василенко И. И., Рыбакова В. Д. Научно-методическое совещание о повышении качества зерна колосовых культур. «Вестник сельскохозяйственной науки», № 2, 1967.

Васютинский Ю. П., Шагоян Ф. Гидропонный метод выращивания зеленых кормов. В кн. «Лекции по зоотехнии и ветеринарии». Кишинев, 1963.

Вендт В. П. Новый перспективный источник получения каротина (водоросль Dunaliella salina). В сб. «Витаминные ресурсы и их использование», № 6, 1963.

Вигоров Л. Н. О выделении веществ проростками пшеницы при гуттации. «Природа», № 2, 1954.

Власюк П. А., Манзон В. Л. Об участии микроорганизмов в питании растений. Изв. АН СССР, сер. биол., № 3, 1955.

Возняковская Ю. М. Влияние корневой системы пшеницы на микрофлору почвы. «Микробиология», т. XVII, вып. 6, 1948.

Возняковская Ю. М. Микрофлора здоровых растений. Автореферат диссертации. М., 1964.

Возняковская Ю. М., Жильцова Г. К. Видовой состав корневой микрофлоры некоторых растений. «Микробиология», т. XXVII, вып. 5, 1958.

Возняковская Ю. М., Нуржанов У. С. Влияние микробных метаболитов и гиббереллина на некоторые стороны обмена веществ кукурузы. Физиология растений, т. 12, вып. 4, 1965.

Возняковская Ю. М., Оследкин Ю. С. Использование микробов-стимуляторов для усиления роста проростков при выращивании зеленых подкормок гидропонным способом. Доклады ВАСХНИЛ, вып. II, 1965.

Возняковская Ю. М., Хотянович А. В. Отбор микробов — продуцентов каротина — из эпифитной микрофлоры. Прикладная биохимия и микробиология, т. I, вып. 3, 1965.

Возняковская Ю. М., Худяков Я. П. Видовой состав эпифитной микрофлоры живых растений. «Микробиология», т. XXIX, вып. 1, 1960.

Воронкевич И. В., Платонова Г. Г. О существовании фитопатогенных бактерий на поверхности зеленых растений. Научные доклады Высшей школы. «Биологические науки», № 1, 1963.

Гебгардт А. Г. Роль микробов в накоплении витаминов в почвах и поступлении их в растения. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. XI, 1961.

Гебгардт А. Г., Дацюк Н. М. Распределение ауксоавтотрофных микроорганизмов в ризосфере пшеницы. «Микробиология», т. XXXIII, вып. 1, 1964.

Гебгардт А. Г., Ковальчук С. И. Влияние внесения азотобактера на содержание витаминов в почве и в проростках овса. Микробиология, т. XXVII, вып. 3, 1958.

Геллер И. А. Влияние минеральных элементов питательного раствора на корневые выделения. «Физиология растений», т. II, вып. 2, 1955.

Геллер И. А., Табенецкий Д. А. Корневые выделения и питание растений. ДАН СССР, т. 115, № 2, 1957.

Горленко М. В. Бактериальные болезни растений. М., 1953

Горленко М. В. Краткий курс иммунитета растений к инфекционным болезням. М., 1959.

Гродзинский А. М. Выделительные функции растений. В кн. «Аллелопатия в жизни растений и их сообществ». Изд-во «Наукова думка», 1965.

Дацюк Н. М. Роль микроорганизмов в накоплении витаминов в прикорневой зоне и поступление их в растения. Автореферат диссертации, Киев, 1965.

Доброхотов Б. А. Методика полевого опыта. М., 1965.

Доросинский Л. М. Роль микроорганизмов в корневом питании растений. Тр. ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, т. XII, 1951.

Доросинский Л. М. Бактериальные удобрения — дополнительное средство повышения урожая. Россельхозиздат, 1965.

Доспехов Б. А. Основы методики полевого опыта. М., 1967.

Егоров Н. С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. «Высшая школа», 1965.

Елкина О. Г. Влияние разлагающихся корневых остатков в почве на денитрификаторов под хлопчатником. Тр. Среднеазиатского государственного ун-та, т. XVIII, 1950.

Замятина В. Б., Кореньков Д. А. Применение N^{15} при изучении азотных удобрений в почве и использование азота растениями. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 2, 1963.

Звягинцев Д. Г. Микрообитатели почвы. «Наука и жизнь», № 6, 1967.

Имшенецкий А. А. Экология пигментных микроорганизмов. I. О защитной роли каротиноидов. «Микробиология», т. XV, вып. 5, 1946.

Калныньш А. Д. Распространение клубеньковых бактерий клевера в почвах Латвийской ССР. В кн. «Получение и применение бактериальных удобрений». Киев, 1958.

Карасевич Ю. Н., Волкова Л. П., Кенинг Э. Г. Индикаторная культура для количественного определения инозита в естественных субстратах. «Прикладная биохимия и микробиология», т. I, вып. 5, 1965.

Карлинский О. А. Влияние условий питания яровой пшеницы на качество полученных семян. Записки ЛСХИ, т. 90, вып. 6, 1964.

Квасников Е. И. Биология молочнокислых бактерий. Ташкент, 1960.

Кизилова Е. Г., Овчаров К. Е. Биосинтез витаминов в разнокачественных семенах кукурузы и ответная реакция последних на обработку их витаминами. Физиология растений, т. 12, вып. 4, 1965.

Клинцаре А. А. Влияние стрептомицина на численность эпифитных и корневых микроорганизмов растений. В сб. «Микроорганизмы и растения». Изд. АН Латвийской ССР, XVIII, 1963.

Клинцаре А. А. Влияние некоторых эпифитных и корневых микроорганизмов на рост и развитие ячменя и люцерны. В сб. «Микроорганизмы и растения», вып. II. Изд. АН Латвийской ССР, 1964.

Колосов И. И. Поглотительная деятельность корневых систем растений. Изд. АН СССР, 1962.

Коротченко Н. И. Содержание и методы определения витаминов в кормовых дрожжах. Изд. Центрального ин-та технической информации и экономических исследований по лесной, бумажной и деревообделочной промышленности, 1963.

Котелев В. В. Значение микрофлоры почвы в передвижении и усвоении фосфора растениями при его очаговом внесении (методом P^{32}). Изв. Молдавского филиала АН СССР, № 1 (21), 1955.

Котелев В. В., Сабельникова В. И. Влияние бактерий, минерализующих органические соединения фосфора, на усвоение его растениями. Изв. Молдавского филиала АН СССР, № 1 (21), 1955.

Кофанова Н. Д. Метод первичного отбора микробов-продуцентов — стимуляторов роста. В сб. «Почвенная и сельскохозяйственная микробиология». Изд. АН УзССР, 1963.

Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд. АН СССР, М—Л., 1949.

Красильников Н. А. Усвоение корнями растений продуктов жизнедеятельности микробов. ДАН СССР, № 5, 1951.

Красильников Н. А. О значении почвенных микроорганизмов в питании растений. «Микробиология», т. XXVI, вып. 6, 1957.

Красильников Н. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. Изд. АН СССР, 1958.

Красильников Н. А. Влияние почвенных микроорганизмов на рост и урожайность растений. «Вестник МГУ», № 3, 1962.

Красильников Н. А., Леонов Н. И., Кореняко А. И. и др. Оранжевые актиномицеты как стимуляторы в подкормке птиц. Микробиология, т. XXXI, вып. 4, 1962.

Креслинь Д. Я. Эпифитная и корневая микрофлора некоторых зерновых и овощных культур. В кн. «Микроорганизмы и растения», вып. I. Изд. АН Латвийской ССР, 1964.

Кретович В. Д. Основы биохимии растений. «Высшая школа», 1964.

Крокер В. и Бартон Л. Физиология семян. Изд.-во иностранной литературы. 1955.

Круглов Ю. В. Влияние формы азота на взаимоотношения между бактериями и растениями. Бюлл. научно-технической информации по сельскохозяйственной микробиологии, № 7, 1960.

Круглов Ю. В., Сирота Л. Б. Влияние корневой микрофлоры на поступление фосфора в растение. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, т. XI, 1961.

Куликовская О. К. О новом психротолерантном возбудителе пектинового брожения Clostridium pskovianum. «Микробиология», т. 37, вып. 2, 1963.

Курсанов А. Л. Транспорт органических веществ в растениях. Изв. АН СССР, сер. биол., № 1, 1967.

Курсанов А. Л., Запрометов М. Н. Адсорбирующая способность протоплазмы как фактор, определяющий передвижение азотистых веществ в растении. ДАН СССР, вып. XIII, 1951.

Курсанов А. Л., Крюкова Н., Седенко Д. Адсорбция органических веществ и ее связь с дыханием у растений. Биохимия, т. 13 вып. 5, 1948.

Лазарева Н. М. Влияние спонтанных клубеньковых бактерий на эффективность нитрагина. Тр. ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, т. XV, 1958.

Лебен К. Эпифитная микрофлора растений. «Сельское хозяйство за рубежом», № 8, 1967.

Люкова Л. А. Влияние никотиновой кислоты на рост и урожай некоторых овощных растений. «Физиология растения», т. 5, № 1, 1958.

Макарова М. М. Микробиология силоса. Сельхозиздат, 1962.

Манзюк С. Г., Закревская Л. В. Подбор пар для скрещивания по физиологической разнокачественности самоопыленных линий кукурузы. «Вестник сельскохозяйственной науки». № 10, 1966.

Мацков Ф. Ф., Манзюк С. Г. О роли физиологически активных веществ типа фитогормонов и витаминов в явлениях гетерозиса у кукурузы. «Физиология растений», т. 8, вып. 1, 1961.

Мейсель М. Н. Особенности активирующего действия никотиновой кислоты на микробную клетку. ДАН СССР, т. 58, № 1, 1947.

Мейсель М. Н., Медведева Г. А. Летучесть некоторых витаминов и возможность их использования микроорганизмами из воздуха. «Биохимия», № 12, вып. 4, 1947.

Мейсель М. Н., Помошникова Н. А. Простой микробиологический метод определения пиридоксина (витамина B_6). «Биохимия», т. 17, вып. 5, 1952.

Межраупе В. А. Влияние корневых выделений многолетних луговых трав на развитие клубеньковых бактерий. В кн. «Микроорганизмы и растения». Изд. АН Латвийской ССР, 1963.

Мелькумова Т. А. Штаммовые особенности клубеньковых бактерий, выделенных из разных сортов люцерны. Изв. АН СССР, сер. биол., № 5, 1957.

Метлицкий Л. В. Биохимия на страже урожая. «Наука», 1965.

Мешков Н. В. Влияние корневых выделений гороха и кукурузы на развитие азотобактера и некоторых других почвенных микробов. «Микробиология», т. XIX, вып. 2, 1950.

Минкевич И. Е. Бактерии группы кишечной палочки как санитарно-показательные микроорганизмы. Медгиз, 1949.

Митрофанова К. С. К вопросу об урожайных качествах семян. Доклады ТСХА, вып. VIII, 1949.

Михалева В. В. Синтез витаминов B_3 и B_6 истинными денитрифицирующими бактериями. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 12, 1959.

Михалева В. В., Лупанова Н. Б. О совмещении свойств аммонификации и денитрификации у истинных денитрифицирующих бактерий. В кн. «Роль микроорганизмов в плодородии почвы и повышении эффективности удобрений». «Колос», 1964.

Михалева В. В., Смирнов Ф. Е., Турсунходжаев А. С., Захарова С. Н. Некоторые корневые бактерии как антагонисты фитопатогенных грибов. «Агробиология», № 1, 1965.

Мишустин Е. Н. Достижения в области почвенной микробиологии. «Почвоведение», № 11, 1957.

Мишустин Е. Н. Фосфоробактерин и его эффективность. Изв. ТСХА, вып. 4, 1967.

Мишустин Е. Н., Прокошев В. Н. Изменение состава почвенной микрофлоры в результате длительного применения удобрений. «Микробиология», т. XVIII, вып. 1, 1949.

Мишустин Е. Н., Трисвятский Л. А. Микробы и зерно. Изд. АН СССР, 1963.

Мишустин Е. Н., Шильникова В. Н. Биологическая фиксация атмосферного азота. «Наука», 1968.

Мовчан Н. А. К изучению видового состава микрофлоры, минерализующей перегной. Бюлл. научно-технической информации по сельскохозяйственной микробиологии, № 2, 1956.

Мосолов И. В., Лапшина А. Н. Аминокислотный состав пасоки и листьев кукурузы при различных условиях питания азотом и фосфором. «Физиология растений», т. II, вып. 1, 1964.

Мосолов И. В., Мосолова Л. В. Действие гиббереллина на рост и развитие сельскохозяйственных культур. Изв. АН СССР, сер. биол., № 4, 1959.

Мосолов И. В., Ремпе Е. Х., Александровская В. А. О взаимоотношениях высшего растения и микроорганизмов. «Агробиология», № 3, 1959.

Муромцев Г. С. К вопросу об использовании воднонерастворимых фосфатов почвенными микробами. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 5, 1955.

Наумова А. Н. Минерализация фосфорорганических соединений ризосферными и почвенными бактериями. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. XI, 1961.

Наумова А. Н., Мишустин Е. Н., Марьенко В. М. Природа действия бактериальных удобрений (азотобактерина, фосфоробактерина) на сельскохозяйственные растения. Изв. АН СССР, сер. биол., № 5, 1962.

Незговоров Л. А., Ибрагимов Ш. И. Повышение полевой всхожести семян хлопчатника. В кн. «Биологические основы повышения качества семян сельскохозяйственных растений». «Наука», 1964.

Никитина Е. Т. Миколитические бактерии и возможность использования их в борьбе с фузариозным увяданием картофеля. Тр. Ин-та микробиологии и вирусологии АН Казахской ССР, т. 11. 1958.

Новикова А. Т., Иртуганова Л. Д. Образование гетероауксина почвенными микроорганизмами. «Микробиология», т. 35, вып. 4, 1966.

Новикова Н. С. Бактериальная флора надземных органов растений. Изд. АН УССР, 1963.

Новицкая Ю. Е. Выделение растениями минеральных органических веществ. Тезисы I Всесоюзного совещания физиологических основ формирования растительных сообществ. «Наука», 1965.

Новотельнов Н. В., Ежов И. С. О выделении фитонцидных веществ зернами злаковых культур. В кн. «Фитонциды и их роль в природе». Изд. ЛГУ, 1957.

Образцова А. А. О роли азотобактера в фосфорном питании растений. Тр. Ин-та физиологии растений СССР, т. VI, вып. 2, 1949.

Образцова А. А., Петренко М. Б., Клищевская М. С. Участие микроорганизмов ризосферы в питании и развитии сельскохозяйственных растений на мощном черноземе. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. XI, 1961.

Овчаров К. Е. Значение витаминов в жизнедеятельности растений. «Успехи современной биологии», т. 36, вып. 3 (6), 1953.

Овчаров К. Е. Роль витаминов в жизни растений. Изд. АН СССР, 1958.

Овчаров К. Е. Витамины растений. «Колос», 1964.

Овчаров К. Е., Кизилова Е. Г. Разнокачественность семян и продуктивность растений. «Колос», 1966.

Одинцова Е. Н. Микробиологические методы определения витаминов. Изд. АН СССР, 1959.

Оксентьян У. Г. Почвенные сапрофитные бактерии и заболевания сельскохозяйственных растений. В сб. «Микробиология на службе сельского хозяйства». Сельхозгиз, 1959.

Оследкин Ю. С. Использование микроорганизмов для повышения урожая и качества зеленой подкормки при ее гидропонном выращивании. Автореферат диссертации. Л., 1968.

Островская А. К. О действии меди и гетероауксина на прорастание семян. «Физиология растений», т. 3, вып. 1, 1956.

Перетц Д. Г. Значение нормальной микрофлоры для организма человека. Медгиз, 1955.

Петренко М. Б. Микрофлора ризосферы картофеля и влияние ее на развитие растений. Тр. Украинского НИИ овощеводства и картофеля, т. IV, 1958.

Пиковская Р. И. Мобилизация фосфатов в почве в связи с жизнедеятельностью некоторых видов микробов. «Микробиология», т. XVII, вып. 5, 1948.

Пидопличко Н. М. Грибная флора грубых кормов. Киев, 1953.

Подъяпольская О. П., Мирзоева В. А. Микрофлора пшеничного зерна и ее изменение под влиянием влажности и температуры. Тр. ВНИИ зерна, 1955.

Поляков И. М., Попов В. И. Особенности действия химических препаратов на возбудителя вилта хлопчатника. «Химия в сельском хозяйстве», т. IV, № 9, 1966.

Полянская Л. А., Носов А. К., Овчаров К. Е. Значение витаминов во взаимоотношениях растений и почвенных микроорганизмов. В сб. «Микроорганизмы в сельском хозяйстве». Изд. МГУ, 1963.

Попова Т. Е. Корневая микрофлора винограда на сероземных и луговых почвах Узбекистана. ДАН УзССР, № 5, 1954.

Попова Т. Е. О влиянии микроорганизмов корневой зоны хлопчатника на его развитие. Изв. АН СССР, сер. биол., № 4, 1957.

Прикладов Н. В. Новые представления о силе роста семян. В сб. «Научные вопросы семеноводства, семеноведения и контрольно-семенного дела». Киев, 1962.

Пронин В. А. Урожай и кормовое достоинство некоторых однолетних кормовых культур в связи с условиями развития прикорневой микрофлоры. Автореферат диссертации. М., 1965.

Прянишников Д. Н. Азот в жизни растений и в земледелии. Изд. АН СССР, 1945.

Ракитин Ю. В. Проблема стимуляции растений в связи с задачами сельского хозяйства. «Успехи современной биологии», т. 36, вып. 3(6), 1953.

Ракитин Ю. Ф., Овчаров К. Е. Влияние аденина и никотиновой кислоты на рост и плодоношение хлопчатника. ДАН СССР, т. 59, № 9, 1948.

Ратнер Е. И. Питание растений и применение удобрений. Изд. АН СССР, 1955.

Ратнер Е. И., Акимочкина Т. А., Самойлова С. А. О новом звене в системе питания трав в связи с задачей регулирования микробного состава в ризосфере культурного растения. ДАН СССР, т. XCI, № 2, 1953.

Ратнер Е. И., Доброхотова И. Н. О возможной роли витаминов, продуцируемых почвенными микроорганизмами, в корневом питании растений. Физиология растений, т. 3, вып. 2, 1956.

Ратнер Е. И., Колосов И. И. Корневое питание растений и новые методы его исследования. «Природа», № 10, 1964.

Ремпе Е. Х. Изучение роли корневой микрофлоры в питании растений на простерилизованных субстратах. «Агробиология», № 4, 1959.

Ремпе Е. Х. Влияние корневой микрофлоры на рост и развитие растений. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. XI, 1961.

Ремпе Е. Х., Калтагова О. Г. Влияние корневой микрофлоры на активность физиологических процессов в растениях. «Агробиология», № 6, 1962.

Ремпе Е. Х. и Калтагова О. Г. Влияние корневых микроорганизмов на развитие и почвенное питание растений. «Агробиология», № 5, 1965.

Рокитский П. Ф. Биологическая статистика. М., 1964.

Рубин Б. А. Курс физиологии растений. «Высшая школа», 1961.

Рыжкова А. С. Методика отличия клубеньковых бактерий от Pseudomonas radiobacter. В сб. «Фитонциды и их роль в природе». Изд. ЛГУ, 1957.

Сабинин Д. А. Физиологические основы питания растений. Изд. АН СССР, 1955.

Савинов Б. Г. Каротин. Изд. АН УССР, 1948.

Саляев Р. К. О механизме поглощения веществ корнями растений. «Физиология растений», т. 12, вып. 4, 1965.

Самцевич С. А. О влиянии условий внешней среды на взаимоотношения между микроорганизмами почвы и высшими растениями. Тр. Ин-та микробиология АН СССР, вып. XI, 1961.

Самцевич С. А. Активные выделения корней растений и их значение. «Физиология растений», т. 12, вып. 5, 1965.

Самцевич С. А. и Борисова В. Н. Действие удобрений на прикорневую микрофлору озимой пшеницы. «Микробиология», т. XXX, вып. 6, 1961.

Саникидзе Г. С. Микрофлора ризосферы лавра благородного и ее изменения в связи с внесением удобрений. Автореферат диссертации. Тбилиси, 1965.

Саоно С. Метод первичного отбора микробов-стимуляторов при помощи Chlorella. «Микробиология», т. 35, вып. 6, 1966.

Сапожников Д. И., Бронштейн-Попова И. А., Красовская Т. А., Маевская А. Н. Количественное определение основных каротиноидов зеленого листа с помощью бумажной хроматографии. «Физиология растений», т. 3, вып. 5, 1956.

Сатклифф Дж. Ф. Поглощение минеральных солей растениями (перевод с англ.). «Мир», 1964.

Семихатова О. А., Чулановская М. В. Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза растений. «Наука», 1965.

Скворцов С. С. Некоторые данные о составе и биологической роли летучих органических выделений (фитонцидов). В сб. «Фитонциды в народном хозяйстве». Киев, 1964.

Смалий В. Т. Образование биологически активных веществ бактериями ризосферы пшеницы. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. XI, 1961.

Смалий В. Т. Накопление витаминов (никотиновой и пантотеновой кислот) в ризосфере озимой пшеницы. Мікробіологічний журнал, т. XXVI, вып. 6, 1964.

Смалий В. Т., Бершова О. И. Образование гетероауксина в культурах азотобактера. «Микробиология», т. XXVI, вып. 5, 1957.

Сорокина Т. А. Приобретение патогенных свойств штаммами Ps. fluorescens в корневой системе кок-сагыза. Тр. ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, т. XV, 1958.

Сорокина Т. А. Изучение микрофлоры семян и корневой системы кок-сагыза и ее влияние на рост растений. Автореферат диссертации. М., 1960.

Старыгина Л. П. Исследование микрофлоры кормов и влияние этой микрофлоры на микрофлору молока. Вестник бактериолого-агрономической станции, № 24, 1926.

Старыгина Л. П. Антибиотические свойства Ps. fluorescens liquefaciens. «Микробиология», т. XXV, вып. 6, 1956.

Стоев К. Д., Мамаров П. Т., Бенчев И. В. Хроматографический анализ сахаров и свободных аминокислот пасоки виноградной лозы. «Физиология растений», т. 6, вып. 4, 1959.

Строна И. Г. К вопросу о разнокачественности семян и методах ее оценки. Тр. Украинского ин-та растениеводства, селекции и генетики им. В. Я. Юрьева, т. 7, 1962.

Строна И. Г. Общее семеноведение полевых культур. «Колос», 1966.

Тарасенко М. Т. Влияние регуляторов роста (ростовых веществ) на укоренение черенков вишни и сливы. Изв. ТСХА, № 4, 1959.

Гокин Б. П. Фитонциды. Госкультпросветиздат, 1952.

Тукей Г. Регуляторы роста растений в сельском хозяйстве. Изд-во иностранной литературы, 1958.

Тулабаев Б. Д. Влияние фосфорраствоpяющих бактерий, выделенных из почв Самаркандской области, на урожайность хлопчатника. Тезисы конференции по вопросам сельскохояйственной почвенной микробиологии. Ташкент, 1961.

Тулайкова К. П. Роль бактерий типа радиобактера в корневом питании растений. «Агробиология», № 1, 1958.

Турецкая Р. Х. Метод определения активности ростовых веществ по корнеобразованию. ДАН СССР, т. 57, № 3, 1947.

Турецкая Р. Х. Влияние обработки ростовыми веществами рассады овощных растений на их дальнейший рост и развитие. ДАН СССР, т. XI, № 6, 1948.

Турецкая Р. Х. Физиология действия стимуляторов роста при размножении растений черенками. «Успехи современной биологии», т. 40, № 1, 1955.

Турецкая Р. Х. Физиология корнеобразования у черенков и стимуляторы роста. Изд. АН СССР, 1961.

Турсунходжаев А. Распространение бактерий — антагонистов фузарима — в корневой системе льна. ДАН УзССР, № 9, 1965а.

Тырина В. А. О зимнем развитии почек. Физиология растений, т. V, вып. 2, 1958.

Умбрейт В. В., Буррис Р. Х., Штауффер Дж. Ф. Манометрические методы изучения тканевого обмена. Изд-во иностранной литературы, 1951.

Федоров М. В., Непомилуев В. Ф. Основные формы ризосферных бактерий клевера и их количественное содержание в ризосфере по фазам развития растения и года его жизни. «Микробиология», т. XXIII, вып. 4, 1954.

Халлер Э. К. Влияние условий среды прорастания на биохимические процессы в проростках и урожайность растений. В сб. «Биологические основы повышения качества семян сельскохозяйственных растений». «Наука», 1964.

Харитон Е. Г., Геллер И. А. Об антагонистических взаимоотношениях между некоторыми специфическими микроорганизмами сахарной свеклы. «Микробиология», т. XXVII, вып. 1, 1958.

Холодный Н. Г. Летучие выделения цветов и листьев как источники питания микроорганизмов. ДАН СССР, т. 43, № 2, 1944.

Холодный Н. Г. Атмосфера как возможный источник витаминов. ДАН СССР, т. 43, № 6, 1944.

Христева Л. А. Физиологическая роль гуминовых кислот и некоторых витаминов в жизни высших растений. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. XI, 1961.

Худяков Я. П. Литическое действие почвенных бактерий на паразитические грибы. «Микробиология», т. IV, вып. 2, 1935.

Худяков Я. П. Передача веществ на расстояние по гифам грибов и бактериальным цепочкам из-за пределов ризосферы к корням. Тр. конференции по вопросам почвенной микробиологии. Изд. АН СССР, 1953.

Худяков Я. П. Управление эпифитной микрофлорой. ДАН СССР. т. XCIII, № 5, 1953а.

Худяков Я. П. Современное состояние и задачи микробиологии почвы. «Микробиология», т. XXIII, вып. 3, 1954.

Худяков Я. П., Возняковская Ю. М. Микрофлора корней пшеницы и некоторые ее свойства. «Микробиология», т. XXV, вып. 2, 1956.

Худяков Я. П., Рыжкова А. С. Метод учета количества фитонцидоустойчивых бактерий в почве. В сб. «Фитонциды и их роль в природе». Киев, 1957.

Чайковская С. М., Дружинина Е. Н. Упрощенный чашечный метод определения концентрации витамина B_{12}. «Микробиология», т. XXVI, вып. 5, 1957.

Чайлахян М. Х. Гиббереллины растений. Изд. АН СССР, 1961.

Чайлахян М. Х., Некрасова Т. В. Влияние витаминов на преодоление полярности у черенков лимона. ДАН СССР, т. III, № 2, 1956.

Черник Т. П. Изучение бактерий типа Bacterium radiobacter, выделенных из корневой системы льна и пшеницы. Автореферат диссертации. М., 1955.

Шавловский Г. М. Участие микроорганизмов ризосферы в снабжении растений витаминами. ДАН СССР, т. XCV, № 5, 1957.

Шемаханова Н. М., Бунько И. П. Образование витаминов группы В активными и малоактивными штаммами клубеньковых бактерий. «Микробиология», т. 37, вып. 3, 1968.

Шестакова В. А. Изучение некоторых сторон взаимоотношений микроорганизмов с древесными растениями. Автореферат диссертации. М., 1961.

Широков О. Г. Устойчивость эпифитных микроорганизмов к ультрафиолетовым лучам. Бюлл. научно-технической информации по сельскохозяйственной микробиологии, № 6, 1959.

Широков О. Г. Взаимоотношения между микроорганизмами как фактор формирования эпифитной микрофлоры. В сб. «Микроорганизмы в сельском хозяйстве». Изд. МГУ, 1963.

Шкляр М. С., Халимова Л. А. О токсическом действии бактерий рода Pseudomonas на семена растений. Узбекский биологический журнал, № 5, 1962.

Щелокова С. С. Молочнокислые бактерии в почвах Узбекистана и их взаимоотношения с другими почвенными микроорганизмами. Автореферат диссертации. Ташкент, 1961.

Щелокова И. Ф. Дрожжи и дрожжеподобные грибы в эпифитной микрофлоре некоторых силосных растений. Мікробіологічний журнал, т. XXVI, вып. 6, 1964.

Якушкина Н. И. Влияние стимуляторов роста на распределение питательных веществ в растении. ДАН СССР, т. XIX, № 1, 1949.

Якушкина Н. И. Влияние стимуляторов роста на передвижение пластических веществ. Доклады ТСХА, вып. XIII, 1951.

Якушкина Н. И., Эрдели Г. С. К вопросу о физиологических изменениях, происходящих в зеленых черенках при их укоренении. Бюлл. Главного ботанического сада АН СССР, вып. 25, 1956.

Barnes E. H. Bacteria on leaf surfaces and in intercellular leaf speces. Science, v. 147, N 3662, 1965.

Bartholomew I. W. Variables influencing results and the precise definition of steps in gram staining as a means of standardizing the results obtaind. Stain Technol., v. 37, N 3, 1962.

Bonner J. The role of toxic substances in the interactions of higher plants. Botan. revue, v. 16, N 1, 1950.

Börner H. Die Ausscheidung organischer Verbindungen aus den Samen von Roggen, Weizen und Gerste während der Quellung. Die Naturwissenschaften Jahrg., 42, H. 2, 1955.

Boysen-Iensen P. Über Wachstumsregulatoren bei Bakterien. Biochem. zeitschr, Bd. 236, H. 1—3, 1931.

Brown M., Burlingsham S. K., Jackson R. M. Studies on azotobacter species in soil. III. Effect of artificial inoculation on crop yields. Plant and Soil, v. XX, N 2, 1964.

Broyer T. G. Further observations on the absorbtion and translocation of inorganic Solutes using radioactive isotopes with plants. Plant Physiol., v. 25, 1950.

Bürger K., Bukatsch L. Über die Wuchsstoffsynthese im Boden freilebender stickstoffbinder Bakterien. Zentrblatt für Bakt. Abt. II, Bd. 111, H. 1/5, 1958.

Burkhard F. Zur Abgabe von Aminosäuren und Amiden an das Nährmedium durch die Wurzeln von Helianthus Annus L. Planta archiv für wissenschaftliche Botanik, Bd. 49, H. 2, 1957.

Burri R. Die Bacterienvegetation auf der Oberfläche normal entwickelter Pflanzen. Zentrbl. für Bakt. Abt. II, Bd. X, 1903.

Ciegler A., Arnold M., Anderson R. Microbiological production of carotenoids IV. Effect of various grains on production of ß-carotene by mated strains of Blakeslea trispora. Applied Microbiol., v. 7, N 2, 1959.

Clark F. E. Azotobacter inoculation of crops. III. Recovery of azotobacter from the rhizosphera. Soil Science, v. 65, 1948.

Clark N. A. and Roller E. M. The stimulation of Lemna Major by organic Matter under sterile and non-sterile conditions. Soil Science, v. XXXI, N 4, 1939.

Cooke W. B. An ecological life history of Aureobasidium pullulans (de Bary). Mycopathologia et Mycologia applicata, v. 12, N 1, 1959.

Cook F. D., Lochhead A. G. Growth factor relationships of soil Microorganisms as affected by proximity to the plant root. Canad. Journ. Microb., v. 5, N 4, 1959.

Dommergnes Y. Influence de differents types de fumure sur l'aktivite bacteriologique du Sol. Soil and Fertilizers, v. XVII, N 3, 1954.

Duggeli M. Die Bacterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. Zentrbl. für Bact., Abt, II, Bd. XII, 1904.

Fraser M., Reid W., Malcolm J. The occuerence of coli-aerogenes organisms on plants. J. Appl. Bacteriol., 19, N 2, 1956.

Gerretsen F. C. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. Plant and Soil, v. 1, N 1, 1948.

Gräf G. Über den Einfluss des Pflanzenwachstums auf die Bacterien in Wurzelbereich. Zentrbl. für Bact., Abt. II, Bd. 82, 1930.

Haag F. Die saprophytischen Mycobacterium. Zentrbl. für Bakt., Abt. II. Bd. 71, N 1/7, 1927.

Hata K. Studies on Plant Growth Accelerating substances. Part. I. The Isolation Method of Soil Microbes which Produce Plant Growth Accelerating Substances. Agric. and Biol. Chem., v. 26, N 5, 1962.

Hiltner L. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem gebiete der Bakteriologie. Arb. Deutsch. Landw. Ges., 98, 1904.

Hubert J. The determination of auxin in soils including a note on synthetic growth substances. Analyst. v. 71, 1946.

James N., Wilson J. and Stark E. The Microflora of stored Wheat. Canad. Journal of Research. v. 24, N 5, section C, 1946.

Jansson S. L. Balance sheet and Residual Effects of fertilizer Nitrogen in a 6-year Study with N^{15}. Soil Science, v. 95, N 1, 1963.

Kandler O. Papierchromatographischen Nachweis der Aminosäureausscheidung in vitro kultivirter Maiswurzeln. Z. Naturforsch., 6, 1951.

Kaper J. M., Veldstra H. On the Metabolism of Triptophan by agrobacterium tumefaciens. Biochimica et Biophysica acta, v. 30, 1958.

Katznelson H. The «rhisosphere effect» of mangel on certain groups of soil microorganisms. Soil Science, v. 62, N 5, 1946.

Katznelson H., Bose B. Metabolic activity and Phosphatdissolving capability of Bacterien isolates from wheat roots, rhizosphere and non-rhizosphere soil. Canad. Journ. Microbiol., v. 5, N 1, 1959.

Katznelson H., Rouatt I. W., Rayne T. M. Liberation of amino acids by plant roots in relation to dessication. Nature, v. 174, 1954.

Kaunat H. Zum Problem der Spezifität der Rhizosphären mikroflora von Kulturpflanzen. Zbl. Bakteriol. Parasitenkunde, Infektionskrankh. und Hyg., Abt. II, Bd. 116, N 7, 1963.

Kerling L. C. P. De microflora op het blad van Beta vulgaris. Tijdschr. Plziekt, 64, 1958.

Kling E. Pseudomonas fluorescens, ein Boden und Wasserkeim II. Antibiotische Wirkungen unter Ps. fluorescens Stammen. Archiv. für Microbiol., Bd. 33, H. 4, 1959.

Last F. T. Seasonal incidence Sporobolomyces on cereal leaves. Transactions of the British Mycological Society v. 38. part. 3, 1955.

Last F. T. and Deighton F. C. The non-parasitic microflora on the surfaces of living leaves. The British Mycological Society Transactions, v. 48, part. 1, 1965.

Leben C. Microorganisms on cucumber seedlings. Phytopathology, 51, N 8, 1961.

Leben C., Daft G. C. Control of leaf diseases by a Bacterium. Phytopathology, v. 54, 1964.

Leben C., Daft G. C. Influence of an epiphytic Bacterium on Cucumber anthracnose, Early Blight of Tomato and Nirthern Leaf Blight of Corn. Phytopathology, v. 55, N 7, 1965.

Lederberg J. a. Lederberg E. M. Replica plating and indirectselection of Bacterial mutants. Journ. of Bacteriology, v. 63, N 3, 1952.

Leong P. C. Effect of soil treatment on the vitamin B_1 content of Wheat and Barley. The Biochemical Journ., v. 33, N 9, 1939.

Libbert E., Wichner S., Schiewer U., Risch H., Kaiser W. The influence of epiphytic bacteria on auxin metabolism. Planta, Bd. 68, H. 4, 1966.

Lochhead A. G., Burton M. O. Qualitative studies of soil microorganisms. XII. Characteristics of vitamin B_{12} — requiring bacteria. Canad. Journ. Microbiol., v. 1, N 5, 1955.

Lochhead A. G., Burton M. O. Qualitative studies of soil microorganisms. XIV. Specific vitamin requirements of the predominant bacterial flora. Canad. Journ. Microbiol., v. 3, N 1, 1957.

Lochhead A. G. and Chase F. E. Qualitative studies of Soil Microorganisms V. Nutritional requirement of the predominant Bacterial flora. Soil Science, v. 55, N 2, 1943.

Lochhead A. G. and Thexton R. H. Qualitative studies of soil microorganisms. VII. The «Rhizosphere effect» in relation to the aminoacid nutrition of Bacteria. Canadien Journ. of research, v. 25, N 1, 1947.

Lodder J. and Kreger-Van Rij M. The Jeastes a taxonomic study. Amsterdam, 1952.

Lucas R. L. Transport of phosphorus by fungal mycelium. Nature, v. 188, N 4752, 1960.

Luna L. V., Hine R. B. Factors Influencing Saprophytic Growth of Pythium aphanidermatum in Soil. Phytopathology, v. 54. N 8, 1964.

Mack E. Untersuchungen über Bacterium herbicola. Zentrbl. für Bakt., Abt. II, Bd. 95, N 9/12, 1936.

Macura J. Seed and soil bacteria in relation to the rhizosphere effect. Folia Biol., t. IV, F. 5, 1948.

Menna M. E. Some Phisiological characters of Yeasts from Soils and Allied Habitats. Journ. of Microbiology, v. 20, N 1. 1959.

Mundt I. O., Coggin I. H. and Johnson L. F. Growth of Streptococcus faecalis var. liquefaciens on Plants. Applied Microbiology, v. 10, N 6, 1962.

Newhook F. J. Microbiological control of Botrytis cinerea pers. I. The role of pH changes and Bacterial antagonism. The Annals of Applied Biology, v. 38, N 1, 1951.

Pantos G. Синтез витаминов основными формами бактерий, выделенных из ризосферы пшеницы и кукурузы. Agrokém. és talaj., 10, N 4, 1961.

Parkinson D. Liberation of amino-acids by oat seedlings. Nature, v. 176, N 4470, 1955.

Roberts Y. L. and Roberts E. Auxin production by soil Microorganisms. Soil Science, v. 48, N 2, 1939.

Rouatt I. W. Initiation of the rhizosphere effect. Canad. Journ. of Microbiology, v. 5, N 1, 1959.

Rouatt I. W., Katznelson H. The comparative growth of bacterial isolates from rhizosphere and nonrhizosphere soil. Canad. Journ. Microbiology, v. 3, N 2, 1957.

Rouatt I. W. and Lochhead A. G. Qualitative studies of soil Microorganisms. XIII. Effect of decomposition of various crop plants on the Nutritional groups of soil Bacteria. Soil Science, v. 80, N 2, 1955.

Rovira A. D. Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. I. The nature of root exudate from oats and peas. Plant and Soil, v. VII, N 2, 1956.

Rovira A. D. A study of the development of the root surface microflora during the initial stages of plant growth. Journ. Appl. Bacteriol., v. 19, N 1, 1956.

Rovira A. D. Root excrections in relation to the rhizosphere effect. IV. Influence of plant species, age of plant, leight temperature and calcium nutrition on exudation. Plant and Soil, v. 11, N 1, 1959.

Rovira A. D. Effects of Azotobacter, Bacillus and Clostridium on the growth of wheat. Plant Microbes Relationships. Prague Czechosl. Acad. Sci., 1965.

Ruinen J. The phyllosphere. IV. Cuticle decomposition by microorganisms in the phyllospere. Annal Inst. Pasteur, v. III, N 3, Suppl., 1966.

Russel H. L. Bacteria in their relation to vegetable tissue. Dissert. Johns Hopkins University, 1892.

Scharer K. und Preissner R. Der Vitamin B_1 — gehalt der Pflanze in Abhängigkeit von ihrer Ernährung. Ztschr. Pflanzen. D. Bodenk., Bd. 62, H. 2, 1954.

Schreber R., Green R. J. Effect of Root Exudates on germination of Conidia and Microsclerotia of Verticillium albo-atrum Inhibited by the Soil Fungistatic Principle. Phytopathology, v. 53, N 3, 1963.

Sergent E., Rougebief H. Des rapports entre les moncherons du genre Drosophila et les microbes du raisin. Annual de L' Institut Pasteur, t. 40, N 11, 1926.

Sobieszczanski Y. Role of Microorganisms in Life of Cultivated Plants. Acta Microbiologica. Polonica, 14. 1965.

Söding H. Über das Verhalten von Bakterien in lebenden Blättern. Archiv für Mikrobiologie, Bd. 34, H. 2, 1959.

Stoklasa J. Über den Einfluss der Bacterien auf die Knochenzersetzung. Zentrbl. für Bakt., Abt. II, Bd. 6, N 16, 1900.

Tardieux P., Chalvigac A., Charpentier M., Lajudie I., Tardieux A., Pochon I. Interactions microorganismes mais en culture hydroponique aux premiers stades de croissance. Annual Inst. Pasteur. t. 100. N 2, 1961.

Thomas S. B., Hobson P. M. Coli-aerogenes Bacteria isolated from ears and panicles of cereal crops. Proc. Soc. appl. Bact., 18, 1955.

Touzig S., Bracci-Orsengigo L. Sulla presenza di bacteri nei vari organi della piante saperiori. Nuovo giorn. bot. Ital., 62, N 1—2, 1955.

Tukey H. B. Sr. and Tukey H. B. Ir. The leaching of materials from leaves. Handbuch der Pflanzenernährung und Düngung, Springer-Verlag, Berlin, 1962.

Vágnerowá K., Macura J., Catska V. Rhizosphere Microflora of Wheat. II. Composition and Properties of Bacterial Flora during to the Vegetation Period of Wheat. Folia microbiologica, v. 5, 1960.

Vancura V., Macura J. The development of Azotobacter in the Oat Rhizosphere and Its Effect on the Iield. Brief Reportts Czechoslovak Acad. of Science, 1959.

Virtanen A., Synnove E., Karstrom H. Untersuchungen über die Leguminose Bakterien und Pflanzen. Bioch. Ztschr., Bd. 258, 1933.

Wallace R. H., King H. Nutritional groups of soil Bacteria on the Roots of Barley and Oats. Soil Science. v. 18, N 3, 1954.

Wallace R. H., Lochhead A. C. Qualitative studies of soil Microorganisms. IX. Amino-acid requirement of rhizosphere bacteria. Canad. Journ. of Research. v. 28, N 1, 1950.

Wasicky R. Heraus schwemmen von Substanzen aus Blättern und seine eventuelle biologische Bedeutung. Naturwissenschaften Yahrg., 46, H. 5, 1959.

Went F., Bonner J., Warner G. Aneurin and the rootings of cuttings. Science. v. 87, 1938.

Wöller H. Über die epiphytische Bakterienflora gesunder, grüner Pflanzen. Zentrbl. für Bact., Abt. II. Bd. 79, N 8/14, 1929.

Zagallo A. C., Katznelson H. Metabolic activity of bacteria isolates from wheat rhizosphere and control soil. Journ. Bacteriol., v. 73, N 6, 1957.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие 3

МИКРОФЛОРА НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ (ФИЛЛОСФЕРЫ)

Распространение микроорганизмов на зеленых растениях . 5
Источники питания эпифитной микрофлоры 9
Факторы, ограничивающие размножение микроорганизмов на поверхности здоровых растений 12
Источники эпифитной микрофлоры и способы ее распространения по поверхности растений 16
Характерные особенности микрофлоры филлосферы . . . 21
Состав микроорганизмов на надземных органах растений . 25
Значение микрофлоры зеленых растений для сельскохозяйственной практики 32

КОРНЕВАЯ МИКРОФЛОРА И ЕЕ РОЛЬ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ

Характер взаимоотношений между растениями и корневой микрофлорой 41
Количество и состав микроорганизмов на корнях растений . 45
Некоторые характерные черты корневой микрофлоры . . 53
Влияние корневых микроорганизмов на поступление питательных веществ в растения 62
Влияние условий выращивания на взаимоотношения растений с корневой микрофлорой 79
Бактерии-симбионты в корнях бобовых растений 92

НЕКОТОРЫЕ ПОЛЕЗНЫЕ СВОЙСТВА ЭПИФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ПУТИ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Микроорганизмы как продуценты витаминов и гетероауксина 99
Значение микробов-стимуляторов для растений 124
Использование микроорганизмов, повышающих энергию прорастания и урожайные качества семян 139
Значение эпифитов-антагонистов для защиты растений от заболеваний 162

МЕТОДЫ ОТБОРА И ИЗУЧЕНИЯ ПОЛЕЗНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ЭПИФИТНОЙ МИКРОФЛОРЫ

Выделение микроорганизмов с растений 172
Определение выделенных с растений микроорганизмов . . 175
Методы отбора микробов — стимуляторов роста растений 179
Простейшие методы выявления микробов-антагонистов . . 194
Микробиологические методы определения витаминов группы В 195
Хроматографический метод определения гетероауксина в культурах микроорганизмов 208
Определение каротина в клетках микроорганизмов . . . 210
Методы стерилизации семян 212
Определение степени достоверности результатов опыта (математическая обработка данных) 214
Литература 223

ВОЗНЯКОВСКАЯ
Юлия Михайловна

МИКРОФЛОРА РАСТЕНИЙ И УРОЖАЙ

Л., отделение издательства «Колос», 1969.
240 стр. с илл.

УДК 576.8:58.071+631.559

Редактор Т. Я. Кочегурова. Оформление художника А. И. Приймака. Художественный редактор О. П. Андреев. Технический редактор Л. Г. Баранова. Корректор Л. И. Смагина.

Сдано в набор 3/I 1969 г. Подписано к печати 24/V 1969 г. М-50450. Формат 84×108¹/₃₂. Печ. л. 7,5 (12,6). Уч.-изд. л. 13,20. Бумага тип. № 2. Тираж 3600 экз. Цена 1 р. 02 к. Заказ № 5224.

Отделение издательства «Колос», Ленинград, Д-186, Невский пр., 28.

Типография им. Смирнова Смоленского облуправления по печати, г. Смоленск, пр. им. Ю. Гагарина, 2.