

1948H  
691

X

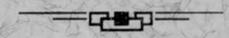
e 136

А. И. Лобикъ.

**О новомъ бактериозѣ картофельныхъ клубней,  
вызываемомъ *Proteus Nadsonii* n. sp.**

Съ 1 таблицей рисунковъ.

(Отдельный оттискъ изъ журнала „Болѣзни Растеній“, 1915, № 3.)



A. I. Lobik.

**De nouvelle bactériose des tubercules de la pomme de  
terre occasionnée par la bactérie *Proteus Nadsonii* n. sp.**

Avec 1 planche.

(Extr. du „Les maladies des plantes“, 1915, № 3.)



ПЕТРОГРАДЪ.  
1915.

ПРОВЕРЕНО

Т 1948Н  
691

Карело-Финская База  
Академии Наук СССР  
БИБЛИОТЕКА

А. И. Лобикъ.

## О новомъ бактериозѣ картофельныхъ клубней, вызываемомъ *Proteus Nadsonii* n. sp.

(Съ 1 таблицей рисунковъ).

Въ настоящей небольшой работѣ я постараюсь изложить результаты своихъ наблюдений надъ новымъ микробомъ *Proteus Nadsonii* n. sp. — типичнымъ возбудителемъ заболѣванія картофельныхъ клубней.

Обращаясь къ литературѣ по бактериальнымъ болѣзнямъ картофеля, мы находимъ первыя указанія въ этой области фитопатологiи, относящіяся къ концу 80-хъ годовъ прошлаго столѣтiя, и только затѣмъ появляется цѣлый рядъ обстоятельныхъ работъ въ этомъ направленiи. До настоящаго времени описано около 10—15 микробовъ, возбудителей различныхъ заболѣванiй, какъ клубней, такъ и самыхъ растений картофеля. Въ большинствѣ работъ авторы очень поверхностно описываютъ морфологическiя и биохимическiя свойства изслѣдованныхъ ими организмовъ и совершенно не затрагиваютъ вопросы о тѣхъ патолого-анатомическихъ измѣненiяхъ, которыя происходятъ въ тканяхъ заболѣвшихъ растений подъ влiянiемъ этихъ микроорганизмовъ. Последнее же является чрезвычайно важнымъ, такъ какъ въ противномъ случаѣ мы легко можемъ посмертное разрушенiе ткани принять за процессъ патологическiй и виновника подобнаго разрушенiя отнести къ организмамъ патогеннымъ.

Кромѣ того, общая неполнота описанія этихъ заболѣваній и даже отсутствіе въ описаніи многихъ морфологическихъ и біологическихъ признаковъ микробовъ, возбудителей этихъ бактериозовъ, не даетъ возможности сравнивать вновь найденный организмъ со многими уже ранѣ описанными.

Вся литература по бактериальнымъ болѣзнямъ картофеля указана въ работѣ И. Л. Сербинова „Бактеріальныя болѣзни картофеля“ (Журн. „Болѣзни Растеній“ 1915 г. № 1—2. стр. 13—43), къ которой я и отсылаю интересующихся, здѣсь же ограничусь указаніемъ на наиболѣе крупныя и новѣйшія работы по данному вопросу.

Прежде всего необходимо указать на трехтомный трудъ Smith'a „Bacteria in Relation to Plant Diseases“, Vol. I (1905), Vol. II (1911), Vol. III (1915), въ которомъ авторомъ собранъ весь матерьялъ и литература по бактериозамъ растений вообще; тотъ же авторъ подробно описалъ новаго возбудителя заболѣванія картофеля въ работѣ: „A Bacterial disease of the Tomato, Eggplant and Irish Potato (*Bacillus solanacearum* n. sp.)“ (U. S. Dep. of Agricult. Washington. Bull. № 12. 1896). Въ 1913 году вышла работа Appel'я „Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit und die durch Bacterien hervorgerufene Knollenfäule der Kartoffel“. (Arb. a. d. Biolog. Abth. f. Land- und Forstwirtschaft. am Kaiser. Gesundheits. III Bd., 1913), въ которой авторъ подробно описываетъ свои наблюденія надъ *Bacillus phytophthorus* Arr. Наконецъ, слѣдуетъ указать работу Pethybridge and Morphy, „A bacterial disease of the potato plant of Ireland“ (Proceedings of the Royl. Irish Academy, vol. XXIX, Sect. B, 1911, № 1), въ которой авторы описываютъ возбудителя „черной ножки“ — *Bacillus melanogenes* Peth. et M.

Кромѣ того, необходимо отмѣтить работу Lindau въ общемъ трудѣ Sorauer'a „Handbuch der Pflanzenkrankheiten“ Bd. II (1908) и И. Л. Сербинова „Бактеріальныя болѣзни картофеля“ (I. c.), въ которыхъ авторы приводятъ описаніе и критическую сводку литературы по бактериозамъ картофеля.

Въ октябрѣ мѣсяцѣ 1914 года на Центральную Фитопатологическую Станцію были доставлены клубни картофеля, пораженные сухой гнилью. Помѣстивъ эти клубни въ чашки Коха во влажныя условія, мы получили черезъ нѣсколько дней картину типичной мокрой гнили. Внешніе признаки заболѣванія были слѣдующіе: большая часть клубня рѣзко отграничена отъ здоровой темно фіолетовой каемкой; кожица въ мѣстѣ заболѣванія грязно бурога цвѣта, значительно темнѣе окрашенная, чѣмъ здоровая, ясно морщинистая, складчатая; на ощупь больная

часть клубня мягкая, рыхлая. Изъ трещинъ кожицы вытекаетъ жидкость ясно щелочной реакціи, противнаго запаха, быстро бурѣющая на воздухѣ.

На разрѣзѣ ткань клубня слегка буроватая съ большимъ количествомъ полостей, ясно мацерированная, кашицеобразная.

Ислѣдованіе этой кашицеобразной массы, предварительно окрашенной метиленовой синькой, по Giemsa-Romanowsk'ому и другими способами, подъ микроскопомъ, показало, что клѣтки и межклетники густо набиты микробомъ, этотъ же микробъ массами обнаруженъ въ жидкости, вытекающей изъ трещинъ кожицы больныхъ клубней.

Такимъ образомъ эти предварительныя данныя позволяли предполагать, что мы имѣемъ дѣло съ типичнымъ заболѣваніемъ клубня, возбудителемъ котораго является замѣченный въ ткани микробъ, а потому необходимо рѣшить прежде всего вопросъ о систематическомъ положеніи этого микроба, а также, для окончательнаго рѣшенія вопроса о его патогенности, произвести опыты искусственнаго зараженія имъ здоровыхъ клубней и ислѣдовать тѣ патологическія измѣненія, какія происходятъ въ зараженной ткани клубней картофеля. Для рѣшенія перваго вопроса, вопроса систематическаго положенія найденнаго микроба, мы прибѣгли къ обычному въ бактериологіи способу чистыхъ культуръ. Всѣ ислѣдованія нами велись при  $t^{\circ}$  18—20° C., въ тѣхъ случаяхъ, когда температурныя условія мѣнялись, нами эти измѣненія указываются.

Въ первыхъ разливахъ изъ больныхъ клубней обнаружилось присутствіе трехъ организмовъ: *Bacillus prodigiosus* (Ehrb.) Flügge, *Bacillus fluorescens* (разжижающій желатину, но ближе не ислѣдованный) и третій микробъ, оказавшійся, какъ мы увидимъ ниже, новымъ видомъ *Proteus*. Первые два микроба въ чашкахъ Петри встрѣчались въ небольшомъ количествѣ и не представлялись интересными, такъ какъ были, повидимому, простымъ загрязненіемъ клубней. Послѣдній же, встрѣчавшійся въ громадномъ количествѣ, обратилъ на себя наше вниманіе и дальнѣйшія наблюденія велись только съ этимъ организмомъ, новымъ видомъ *Proteus*, названнымъ нами *Proteus Nadsonii* n. sp. въ честь профессора Г. А. Надсона, много потрудившагося надъ этой группой организмовъ. Въ первыхъ разливахъ колоніи этого организма имѣли различную форму, то округлую, то лопастную, вторичныя разливы повторяли ту же картину.

Описаніе *Proteus Nadsonii* n. sp.: микробъ изъ суточной культуры на щелочномъ мясо-пептонномъ агарѣ представляетъ

подвижныя короткія палочки, одиночныя или соединенныя по двѣ, длина ихъ 1—2  $\mu$ , рѣже 2,8  $\mu$  и ширина до 0,7  $\mu$ ; палочки перитрихіальныя съ 5—7 жгутиками, длина послѣднихъ превышаетъ длину клѣтки въ 5—6 разъ (табл. II, рис. 9).

Въ болѣе старыхъ культурахъ встрѣчаются довольно длинныя нити, современемъ распадающіяся; въ мѣсячныхъ культурахъ эти нити встрѣчаются очень часто, кромѣ нитей наблюдаются клѣтки сильно вздутыя, округлой или грушевидной формы, ясно зернистыя (табл. II, рис. 10). Изъ 1 $\frac{1}{2}$ —2 мѣсячныхъ культуръ микробъ ни въ разливкахъ, ни при посѣвѣ на различныя жидкія и твердыя среды не развивается совсѣмъ. Споръ не образуетъ. Повторныя окрашиванія по Gram'у даютъ  $\pm$ .

При посѣвѣ въ конденсационную воду на щелочномъ мясо-пептонномъ агарѣ-агарѣ черезъ сутки микробъ образуетъ тонкія лопасти, поднимающіяся вверхъ по косою поверхности агара, часто надъ этими лопастями образуются „колоніи рои“ (табл. II, рис. 3).

При посѣвѣ чертой на тотъ же субстратъ, микробъ даетъ наложеніе по этой чертѣ, часто это наложеніе лопастное и образуются „колоніи рои“. Наложеніе это вначалѣ слегка сѣраго цвѣта съ металлическимъ блескомъ, позднѣе бурѣетъ и въ мѣсячныхъ культурахъ оно почти коричневаго цвѣта; одновременно съ побурѣніемъ наложенія, бурѣетъ и самый субстратъ.

Въ культурѣ уколомъ въ тотъ же субстратъ микробъ растетъ въ видѣ „гвоздя“. На поверхности субстрата образуется круглое или слегка лопастное наложеніе, внутрь субстрата по уколу развиваются колоніи въ видѣ мелкихъ точекъ, причѣмъ чѣмъ глубже, тѣмъ развитіе организма идетъ слабѣе. Постепенно весь субстратъ бурѣетъ.

При посѣвѣ чертой на щелочной мясо-пептонной 4% желатинѣ даетъ наложеніе по чертѣ, причѣмъ на вторыя сутки ясно замѣтно разжиженіе желатины, позднѣе образуется глубокій каналъ. При посѣвѣ уколомъ въ тотъ же субстратъ, микробъ развивается въ видѣ „гвоздя“, на третьи сутки разрываетъ желатину, позднѣе ее разжижаетъ, до конца желатина не разжижается.

На щелочной мясо-пептонной 10% желатинѣ при посѣвѣ чертой и уколомъ ростъ сходенъ съ ростомъ на 4% желатинѣ, но нѣсколько замедленъ.

Въ щелочномъ мясо-пептонномъ бульонѣ при 37° С. черезъ сутки замѣтна общая муть, позднѣе образуется сѣроватый осадокъ и складчатая пленка на поверхности, которая при встряхиваніи пробирки опадаетъ въ видѣ лоскутьевъ на дно.

Молоко на 4—5 сутки свертываетъ, но казеина не растворяетъ.

На щелочномъ мясо-пептонномъ агарѣ съ прибавленіемъ 5—10% сахара, даетъ болѣе пышный ростъ и обильно образуетъ „колоніи рои“.

На стерилизованныхъ ломтикахъ свеклы при посѣвѣ чертой замѣчается энергичный ростъ по всей поверхности ломтика, при этомъ наложеніе нѣсколько пѣнится отъ выдѣляющихся пузырьковъ газа и постепенно бурѣетъ, приобретаая вязкую, тягучую консистенцію.

На стерилизованныхъ ломтикахъ картофеля микробъ развивается слабѣе, чѣмъ въ предыдущемъ случаѣ, ростъ замѣчается только по чертѣ, также образуются пузырьки газа, наложеніе вначалѣ бѣлаго, затѣмъ сѣроватаго и наконецъ желтовато-бураго цвѣта. Окрашиванія самихъ ломтиковъ картофеля не наблюдается.

Въ укольныхъ культурахъ на различныхъ питательныхъ средахъ ростъ ближе къ поверхности субстрата всегда пышнѣе, чѣмъ внутри его.

Въ культурахъ въ слабо щелочномъ мясо-пептонномъ бульонѣ микробъ ясно выдѣляетъ  $H_2S$ , нѣсколько слабѣе  $NH_3$ . Реакціи на  $H_2S$  и  $NH_3$  производились свинцовой и лакмусовой бумажками. Реакція Kitasato-Salkowski на *индолъ* дала отрицательныя показанія: *индолъ* не выдѣляется.

На основаніи нашихъ наблюденій можемъ охарактеризовать изслѣдованный микробъ такимъ образомъ: главная особенность его полиморфность клѣтокъ и колоній, отсутствіе спорообразованія, образованіе сильно лопастныхъ наложеній съ „колоніями роями“, ростъ при посѣвѣ въ конденсационную воду въ видѣ лопастей вверхъ по агару — всѣ эти признаки заставляютъ отнести нашъ организмъ къ группѣ *Proteus*.

Сравнимъ морфологическія и біохимическія свойства нашего организма съ такими же свойствами другихъ представителей этой группы, для этого воспользуемся тѣми данными, которые имѣются въ монографіи Бердникова: „Группа бактерій типа „*Proteus*““. („Журналъ Микробиологіи“. т. I. 1914, № 3—5, стр. 298—312).

Морфологически, по формѣ клѣтки изъ 48 часовой культуры на желатинѣ при комнатной  $t^0$ , нашъ микробъ близокъ къ *Proteus vulgaris*, *Pr. mirabilis* (Kraus)<sup>1</sup>, *Pr. Zenkeri* (Kraus), такъ какъ имѣетъ мелкія полиморфныя палочки. Окраска по Gram'у

1) Въ скобкахъ указываются фамиліи авторовъ, отъ которыхъ Бердниковъ получилъ культуры.

сближаетъ его съ *Pr. mirabilis* (Омелянскій), для котораго показано ±.

Появленіе равномерной мути въ бульонѣ черезъ 24 часа при 37° С. указано для *Proteus vulgaris*, *Pr. mirabilis* (Кгаус), *Pr. Zenkeri* (Кгаус). Образование осадка и пленки на 4-е сутки при 37° С. является характернымъ для нашего организма, такъ какъ у Бердниковъ (I. с.) указана только общая муть и осадокъ. При посѣвѣ на косую 4% ясно щелочную желатину микробъ черезъ 48 часовъ ясно разжижаетъ субстратъ, что указано для *Proteus mirabilis* (Кгаус).

На агарѣ при 37° С. черезъ 48 часовъ при посѣвѣ въ конденсационную воду даетъ наложение на 2—3 снт. вверхъ по агару, что показано для *Proteus mirabilis* (Кгаус).

Индола микробъ не выделяетъ, такимъ образомъ приближается къ *Proteus mirabilis* (Омелянскій), *Pr. Zopfii* (Кгаус), *Pr. Zenkeri* (Надсонъ), *Pr. Zopfii* (Надсонъ).

Слабо выделяетъ  $\text{NH}_3$  и ясно  $\text{H}_2\text{S}$ ; выделение  $\text{NH}_3$  характеризуетъ всю группу *Proteus*,  $\text{H}_2\text{S}$  выделяютъ *Proteus vulgaris*, *Pr. mirabilis* (Кгаус), *Pr. Zenkeri* (Кгаус).

Такимъ образомъ мы видимъ, что нашъ микробъ, имѣя отдѣльные признаки общими съ каждымъ изъ видовъ группы *Proteus* съ одной стороны, съ другой же стороны значительно отличается отъ нихъ, а потому ни съ однимъ отождествленъ быть не можетъ. Кромѣ того, сравненіе свойствъ нашего организма съ уже описанными въ литературѣ микробами-возбудителями различныхъ заболѣваній картофеля не допускаетъ сомнѣнія въ томъ, что мы имѣемъ дѣло съ новымъ видомъ.

Представители изъ группы *Proteus* чрезвычайно широко распространены въ природѣ, они обнаружены всюду, гдѣ происходятъ процессы разложенія органическихъ веществъ, являясь въ однихъ случаяхъ вмѣстѣ съ другими организмами, въ другихъ вызывая эти процессы самостоятельно. Въ нѣкоторыхъ случаяхъ они являются возбудителями заболѣваній у животныхъ. Такимъ образомъ можно было заранѣе предполагать, что представители этой группы могутъ являться возбудителями заболѣваній у растений вообще и въ частности у картофеля.

Выяснивъ вопросъ систематическаго положенія изслѣдованнаго организма, перейдемъ къ рѣшенію вопроса о его патогенности, для чего обратимся къ опытамъ искусственнаго зараженія клубней микробомъ изъ чистыхъ культуръ.

Для опытовъ брались клубни совершенно здоровые, съ неповрежденной кожурой, предварительно эти клубни тщательно

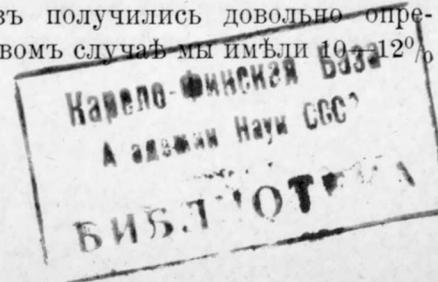
обмывались водой, частицы земли отчищались щеткой и затѣмъ клубни протравливались въ теченіе двухъ часовъ въ растворѣ формалина (1 часть продажнаго 40% формалина на 300 частей воды). Послѣ протравливанія клубни тщательно просушивались.

Зараженіе подготовленныхъ такимъ образомъ клубней производилось посредствомъ уколовъ платиновой иглой, на которой въ ранку вносился микробъ изъ суточной культуры на щелочномъ мясо-пептонномъ агарѣ.

Надо замѣтить, что чѣмъ ранѣе послѣ разлива изъ больного клубня брался микробъ для искусственныхъ зараженій, тѣмъ быстрѣ шелъ процессъ въ зараженныхъ клубняхъ и, наоборотъ, чѣмъ старше была культура, тѣмъ опытъ становился менѣе убѣдительнымъ. Этотъ фактъ показываетъ, что микробъ въ условіяхъ культуры на питательныхъ средахъ очень быстро теряетъ свою вирулентность. Поэтому дальнѣйшіе опыты производились съ 2—3 дневными культурами.

Для перваго опыта было взято 50 клубней картофеля, всѣ они были заражены описаннымъ способомъ. Послѣ зараженія эти клубни были помѣщены въ стеклянныя банки по возможности обезпложенныя, внутри выложенныя слегка смоченной дистиллированной водой фильтровальной бумагой, и прикрыты стеклянной пластинкой. На этихъ клубняхъ образованіе характерныхъ пятенъ удалось замѣтить на второй недѣли, причемъ пятна эти появились не на всѣхъ зараженныхъ клубняхъ, часть оставалась совершенно здоровой. Къ концу второй недѣли пятна обозначились вполне ясно и вокругъ больныхъ участковъ рѣзко обозначилась темно-фіолетовая каемка (табл. II, рис. 1), какую мы наблюдали на исходномъ матерьялѣ. По прошествіи мѣсяца часть клубней такъ и осталась совершенно здоровой.

Опытъ былъ повторенъ съ 100 клубнями, которые предварительно также были обработаны, какъ и въ первомъ случаѣ. Клубни эти были раздѣлены на 2 равныя части (по 50 клубней) и послѣ зараженія одна часть была помѣщена въ стеклянные цилиндры, также обезпложенные и выложенные сырой фильтровальной бумагой и прикрыты стеклянными колпаками; другая часть была помѣщена въ такіе же цилиндры, но цилиндры эти были закрыты притертыми стеклянными пластинками, смазанными вазелиномъ. Въ первомъ случаѣ картофель сохранялся въ условіяхъ средней влажности и хорошей вентиляціи, во второмъ случаѣ въ условіяхъ избыточной влажности и отсутствія вентиляціи. Результаты этихъ опытовъ получились довольно определенныя. Черезъ мѣсяць въ первомъ случаѣ мы имѣли 10%



заболѣвшихъ клубней, во второмъ случаѣ заболѣли всѣ клубни, причемъ на этихъ клубняхъ въ мѣстахъ уколовъ образовались пузыри (пѣна) газовъ, по всѣмъ вѣроятіямъ  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{CO}_2$ , водорода не выдѣлялось. Просматривая клубни изъ цилиндровъ подъ колпаками, гдѣ заболѣла лишь часть ихъ, можно было замѣтить, что одни изъ зараженныхъ клубней остались совершенно безъ измѣненія, въ другихъ же клубняхъ въ мѣстѣ уколовъ образовались полости, окруженныя пробковой тканью, этой пробкой клубень защитилъ глубже лежащую ткань отъ разрушительной дѣятельности микроба. Эти опыты показали, что въ тѣхъ случаяхъ, когда организмъ находится въ нормальныхъ условіяхъ, его главныя жизненныя функціи не нарушены, онъ сравнительно легко справляется съ проникшимъ въ его ткань микробомъ, или препятствуетъ тѣмъ или инымъ способомъ его развитію, въ тѣхъ же случаяхъ, когда микробъ началъ развиваться, выдѣляетъ защитную пробку, отграничивая очагъ заболѣванія отъ здоровой ткани.

Наоборотъ, когда мы помѣстили картофель въ условія, нарушающія жизнеспособность его, клубни не смогли бороться съ микробомъ и нацѣло погибли.

Вопросъ о вліяніи *Proteus Nadsonii* на различные сорта картофеля остается пока открытымъ; наши опыты велись съ „ревельскимъ“ и „мѣстнымъ“ сортами, подмѣтить какой либо разницы въ степени заражаемости того и другого сорта не удалось, повидимому оба эти сорта страдаютъ отъ названнаго микроба одинаково.

Опыты зараженія ягодъ томата показали, что микробъ легко ихъ заражаетъ, томаты на третій день мокро сгниваютъ. На земляную грушу, сельдерей, рѣпу, свеклу и морковь микробъ не дѣйствуетъ.

Теперь постараемся выяснитъ какимъ образомъ микробъ проникаетъ въ клѣтки и какія измѣненія въ тканяхъ происходятъ подъ вліяніемъ *Proteus Nadsonii*. Для этого мы брали небольшія кусочки ткани изъ больныхъ клубней въ началѣ заболѣванія, въ концѣ, когда начинаютъ образовываться полости, и, наконецъ, изъ тѣхъ клубней, которые выдѣлили защитную пробку.

Кусочки ткани фиксировались въ жидкости Флемминга, разбавленной водой на  $\frac{1}{2}$ , въ теченіе 24 часовъ, столько же времени промывались въ проточной водѣ, для уплотненія переносились въ спирты возрастающей крѣпости отъ  $45^\circ$  до абсолютнаго, затѣмъ черезъ ксилолъ переводились въ парафинъ. Толщина разрѣзовъ колебалась въ предѣлахъ 20—25  $\mu$ ; такъ какъ клѣтки картофеля очень крупныя, то при болѣе тонкихъ разрѣзахъ не

удается получить достаточно ясной картины. Срѣзы обычнымъ способомъ (бѣлкомъ) приклеивались къ предметнымъ стекламъ, парафинъ удалялся ксилоломъ и срѣзы промывались въ абсолютномъ алкоголѣ. Послѣ этой предварительной обработки срѣзы окрашивались. Окраска производилась двумя способами по Giemsa и по Pianese, послѣдній способъ былъ сообщенъ мнѣ И. Л. Сербиновымъ. Надо замѣтить, что по Giemsa очень хорошо красится самый микробъ въ клѣткахъ, весь срѣзъ красится въ одинъ тонъ, ядра совсѣмъ не выдѣляются. По Pianese слабо красится самый микробъ, но отлично дифференцируется ядро и крахмальные зерна. Такимъ образомъ комбинація этихъ двухъ окрасокъ дала возможность довольно подробно ознакомиться съ дѣятельностью микроба въ ткани больныхъ клубней.

Окраска по Giemsa производилась по способу, указанному Абелемъ („Бактеріологія. Краткое руководство для практическихъ занятій бактеріолог. въ лабораторіи“. 3 изд. 1912 г. стр. 152), съ той разницей, что на 1 кб. снт. воды бралась не 1, а 2 и 3 капли раствора „Giemsa-Romanovski“. Для окраски по Pianese приготавливался слѣдующій запасный растворъ:

1 гр. малахитовой зелени (Malachitgrün);

0,4 гр. кислаго фуксина (Saures Fuchsin);

0,1 гр. нигрозина (Nigrosin);

50 кб. снт. воды;

50 кб. снт. насыщеннаго раствора уксуснокислой мѣди въ абсолютномъ алкоголѣ.

Передъ употребленіемъ берется на каждые 10 кб. снт. воды — 20 капель запаснаго раствора, фильтруется полученный растворъ черезъ лучшую фильтровальную бумагу.

Срѣзы выдерживаются въ этой краскѣ 24 часа, можно и болѣе, затѣмъ слегка споласкиваются въ  $\frac{1}{2}\%$  уксусной кислотѣ, переносятся въ абсолютный спиртъ до полученія общаго розоваго тона, затѣмъ, слѣдя за дифференцировкой подъ микроскопомъ, срѣзы окрашиваются въ смѣси изъ 2 обемовъ ксилола и 1 объема абсолютнаго спирта, наконецъ переводятся въ ксилолъ чистый и заключаются въ канадскій бальзамъ.

Необходимо отмѣтить, что при окраскѣ по Pianese ядрышко должно краситься въ зеленоватый цвѣтъ, у насъ ядрышко всегда было темно лиловаго цвѣта; возможно, что причиной подобной окраски были какія либо упущенія съ нашей стороны при фиксаци и или окраскѣ, или же, что вполне возможно, ядрышки

въ больныхъ ядрахъ такъ и должны краситься; послѣднее болѣе вѣроятно, такъ какъ подобное окрашивание получалось у насъ постоянно.

На основаніи тѣхъ картинъ, какіе мы наблюдали на окрашенныхъ двумя указанными способами препаратахъ, можно съ большей долей вѣроятности утверждать, что микробъ, попавъ тѣмъ или инымъ путемъ въ ткань клубня, прежде всего растворяетъ межклеточное вещество, мацерация ткани наблюдается во всѣхъ больныхъ клубняхъ. Затѣмъ микробъ наблюдается во всѣхъ клеткахъ въ значительномъ количествѣ; какимъ образомъ проникаетъ онъ въ клетку, непосредственно наблюдать не удавалось, но, принимая во вниманіе то обстоятельство, что оболочка такихъ клетокъ совершенно не повреждена, необходимо предположить, что микробъ проникаетъ въ клетку черезъ поры въ оболочкѣ; подобное предположеніе вполне допустимо, если мы вспомнимъ, что размѣры микроба очень незначительны, толщина достигаетъ 0,7  $\mu$ . Въ клеткѣ микробъ прежде всего разрушаетъ протоплазму и ядро, особенно интересны тѣ измѣненія, которыя претерпѣваетъ послѣднее. Прежде всего въ больныхъ клеткахъ ядро теряетъ оболочку, сильно увеличивается въ размѣрахъ, вакуолизируется и затѣмъ постепенно разрушается, принимая причудливыя формы (табл. II, рис. 7), наконецъ ядро совершенно расплывается; ядрышко сохраняется все время и исчезаетъ послѣднимъ. Крахмалъ во всѣхъ клеткахъ остается неизмѣненнымъ, микробъ повидимому крахмалъ не разрушаетъ. По мѣрѣ использования содержимаго клетки начинаетъ измѣняться самая оболочка, она набухаетъ, постепенно растворяется (табл. II, рис. 8) и такимъ образомъ образуются полости, позднѣе видимыя невооруженнымъ глазомъ на разрѣзахъ больныхъ клубней (табл. II, рис. 2). Тѣхъ измѣненій въ клеткахъ и особенно въ ядрахъ, которыя наблюдались Smith'омъ, то есть многоядерныя клетки, съ нѣсколькими ядрышками, митотически дѣлящіяся ядра, въ нашихъ препаратахъ не замѣчалось; конечно, здѣсь надо принять во вниманіе, что Smith имѣлъ дѣло съ растеніями въ періодъ ихъ вегетации, клубни же картофеля являются стадіей покоя и, слѣдовательно, въ этотъ періодъ наблюдать дѣленіе клетокъ не приходится. Въ тѣхъ клубняхъ, которые образовали защитную пробку, можно наблюдать 2—3 слоя клетокъ, на границѣ здоровой части клубня и разрушенной микробомъ, съ опробковѣвшими облочками, которыя по Giemsa и по Pianese окрашиваются въ зеленый цвѣтъ. За этимъ защитнымъ слоемъ въ здоровыхъ клеткахъ микроба обнаружить не удавалось.

Такимъ образомъ на основаніи вышеизложенныхъ наблюдений необходимо заключить, что мы имѣемъ дѣло съ несомнѣннымъ патологическимъ процессомъ и организмъ, вызывающій подобныя измѣненія въ тканяхъ растенія, безусловно надо признать патогеннымъ.

Такъ какъ разрушительная дѣятельность *Proteus Nadsonii* при извѣстныхъ условіяхъ можетъ принять громадныя размѣры, въ нашемъ опытѣ при избыточной влажности и отсутствіи вентиляціи количество заболѣвавшихъ растеній доходило до 100%, слѣдовательно необходимо обратить самое серьезное вниманіе прежде всего на условія хранения клубней картофеля, затѣмъ по возможности удалять пораненные экземпляры и тѣмъ болѣе больные.

Наконецъ, считаемъ не лишнимъ привести краткія и лишь предварительныя наблюденія надъ вліяніемъ *Proteus Nadsonii* на теплокровныхъ животныхъ.

Для опыта нами были взяты только двѣ свинки. Обѣ онѣ передъ опытомъ въ теченіе недѣли выдерживались на картофелѣ и капустѣ. Затѣмъ одной изъ нихъ начали давать кормъ, облитый суточной бульонной разводкой микроба, другая же продолжала получать чистый кормъ. И той и другой свинкѣ была впрыснута въ брюшную полость при помощи шприца „Рекордъ“ бульонная суточная разводка микроба, кормившейся чистымъ кормомъ, 1½ кб. снт., а другой, кормившейся картофелемъ, смоченной разводкой микроба, 1 кб. снт. Обѣ свинки погибли на пятые сутки послѣ впрыскиванія. Вскрытіе показало, что въ мѣстѣ укола ясно выражена гиперемія и геморрагическія кровоизліянія. Селезенка у обѣихъ свинокъ сильно увеличена. Кромѣ того было обнаружено много перитонеальной жидкости. Въ мазкахъ изъ различныхъ органовъ замѣчено присутствіе микроба. Несмотря на то, что наши опыты ограничились лишь двумя названными животными, тѣмъ не менѣе они указываютъ, что данный микробъ для этихъ свинокъ былъ патогеннымъ, а поэтому является чрезвычайно важнымъ поставить эти опыты болѣе широко и по возможности выяснить картину патолого-анатомическихъ измѣненій у зараженныхъ животныхъ.

Работа эта выполнена въ лабораторіи Центральной Фитопатологической Станціи Импер. Ботаническаго Сада Петра Великаго подъ руководствомъ И. Л. Сербинова, за что и приношу ему мою искреннюю благодарность.

## Объяснение рисунковъ таблицы II.

- Рис. 1. Клубень картофеля искусственно зараженный бактеріей *Proteus Nadsonii* n. sp.; видны темныя каемки вокругъ уколовъ. Нат. велич.
- Рис. 2. Разрѣзъ искусственно зараженнаго клубня; видны полости въ побурѣвшей ткани клубня. Нат. велич.
- Рис. 3. Суточная культура микроба на щелочномъ мясо-пептонномъ агарѣ при посѣвѣ въ конденсационную воду. Нат. велич.
- Рис. 4 и 5. Типы поверхностныхъ колоній въ разливкѣ на щелочномъ мясо-пептонномъ агарѣ. Слабое увелич.
- Рис. 6. Глубинная колонія (чечевицеобразная), вышедшая на поверхность субстрата. Слабое увелич.
- Рис. 7. Различная форма ядеръ, измѣнившихся подъ вліяніемъ микроба; видны вакуоли и ясно очерченныя ядрышки. Сильное увелич.
- Рис. 8. Часть ткани изъ больнаго клубня; видны крахмальные зерна, группы бактерій въ плазмѣ и постепенное раствореніе оболочекъ кѣлѣтокъ. Сильное увелич.
- Рис. 9. *Proteus Nadsonii* изъ суточной культуры на щелочномъ мясо-пептонномъ агарѣ; окрашено по Loeffler'у. Рис. при масл. иммерз. сист.  $\frac{1}{12}$  и комп. ок. 18 Zeiss'a.
- Рис. 10. Микробъ изъ старой культуры; видны нити и утолщенныя кѣлѣтки. Рис. при масл. иммерз. сист.  $\frac{1}{12}$  комп. ок. 18 Zeiss'a.

A. I. Lobik.

De nouvelle bactériose des tubercules de la pomme de terre occasionnée par la bactérie *Proteus Nadsonii* n. sp.

(Avec 1 planche).

(Résumé).

L'auteur décrit une nouvelle maladie de la pomme de terre occasionnée par la bactérie *Proteus Nadsonii* n. sp. Les symptômes de cette maladie sont les suivants: la partie infectée du tubercule devient brune et se sépare de la partie saine avec un liséré violet-foncé; la peau est nettement ridée, de ses fissures écoule un liquide, qui se brunit rapidement à l'air; le tissu infecté est brun et alvéolaire. Les caractères distinctifs de ce nouveau microbe sont le

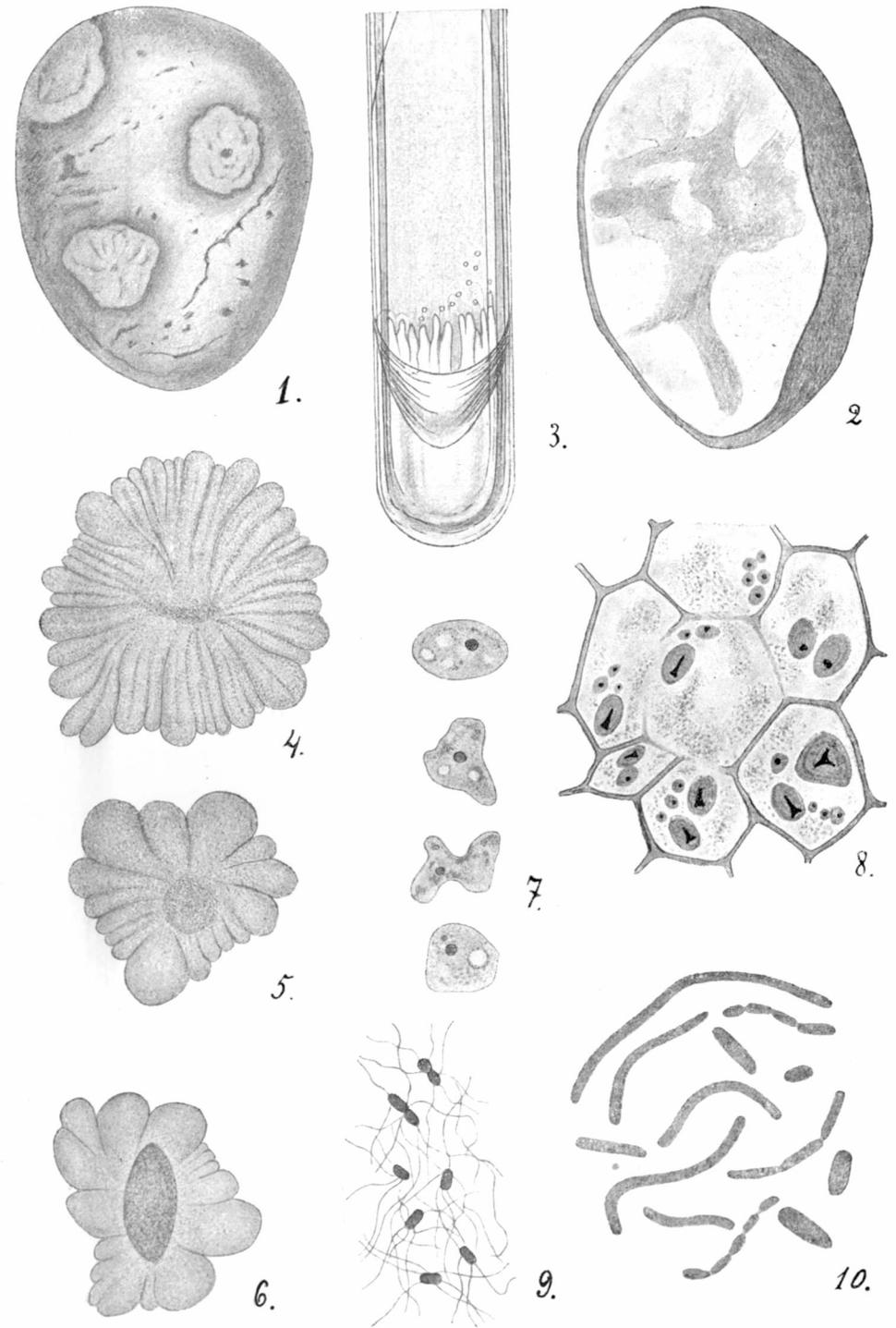


Рис. А. I. Лобикъ.

polymorphisme des cellules et des colonies dans les milieux nutritifs, l'absence de la sporulation, les colonies sur plaques fortement lobées; ensemencé sur l'eau de condensation le microbe croit en haut en forme des lobes. L'infection artificielle des tubercules de pomme de terre avec ce microbe a donné dans les conditions de moyenne humidité et de bonne ventilation 10—12% de cas de maladie, mais dans les conditions d'excessive humidité et d'absence de la ventilation tous les tubercules étaient malades. Les expériences avec les tomates démontrèrent que le *Proteus Nadsonii* facilement les infecte: les fruits pourrissent, le troisième jour après l'infection. La betterave, la carotte, le navet, le topinambour et le sélers ne s'altèrent pas sous l'action du microbe. Le microbe se rencontre dans toutes les cellules du tubercule infecté. En entrant dans le tissu le microbe avant tout dissout la matière intercellulaire, ensuite pénètre dans la cellule où il détruit le protoplasme, le noyau et la membrane de la cellule. L'amidon reste partout intact. Pour préserver d'infection avec ce microbe les tubercules de la pomme de terre l'auteur recommande 1) observer les conditions rationnelles de conservation des tubercules et 2) éloigner les tubercules blessés et surtout malades.

La Station Phytopathologique Centrale  
du Jardin Botanique Imperial de Pierre le Grand.

Petrograd, 25. VI. 1915.

### Explication des figures de la planche II.

- Fig. 1. Tubercule de la pomme de terre artificiellement infecté par le *Proteus Nadsonii* n. sp.; on voit les lisérés autour des piqûres. Grand. nat.
- Fig. 2. Section du tubercule artificiellement infecté; on voit les cavités dans le tissu brun du tubercule. Grand. nat.
- Fig. 3. Culture du *Pr. Nadsonii* sur gélose datant de 24 h. ensemencé sur l'eau de condensation. Gr. nat.
- Fig. 4 et 5. Colonies superficielles sur gélose. Gross. faibl.
- Fig. 6. Colonie profonde, montée à la surface du milieu. Gross. faibl.
- Fig. 7. Noyaux des cellules malades, vacuolisés sous l'action du *Pr. Nadsonii*; on voit des nucléoles à l'intérieur. Très agrandi.
- Fig. 8. Une partie du tissu de tubercule malade; on voit les grains d'amidon intacts, les groupes des bactéries dans le plasma et la dissolution successive des membranes des cellules. Très agrandi.

Fig. 9. *Proteus Nadsonii*, provenant de la culture sur gélose datant de 24 h., coloré d'après Loeffler (immersion à l'huile, système  $\frac{1}{12}$  et oculaire compensateur 18 de Zeiss).

Fig. 10. Le microbe, provenant de la culture vieille sur gélose; on voit les filaments et les cellules grossies (immersion à l'huile, syst.  $\frac{1}{12}$  et ocul. compens. 18 de Zeiss).

