

ФИТОПАТОЛОГИЯ

В. А. ЯБЛОКОВА

**ОТНОШЕНИЕ К УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ ЛУЧАМ МИЦЕЛИЯ ПЫЛЬНОЙ ГОЛОВНИ В ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ МИЦЕЛИЯ**

(Представлено академиком А. А. Рихтером 17 III 1939)

В задачу нашего исследования входило найти какой-то критерий для суждения о жизненном состоянии мицелия пыльной головни в зерне пшеницы при непосредственном наблюдении над паразитом в ткани растения-хозяина. Отыскание такого критерия вызывалось необходимостью иметь ключ при разработке новых методов борьбы с головней, которые могли бы проводиться до выращивания растений.

Применение для этой цели метода витальной окраски посредством нейтраль-рот не имело успеха. Типичная реакция (гранулообразование) для нормы клеток хотя и была нами получена, но она не дала возможности прижизненно дифференцировать гребницы паразита от ткани хозяина, так как реакция ткани зародыша зерна была аналогичной с реакцией мицелия. Поэтому мы прибегнули к весьма чувствительному и принципиально отличному способу флюоресцентно-микроскопического анализа.

В иностранной литературе уже имеются указания <sup>(1)</sup> на различный характер флюоресценции под воздействием ультрафиолетовых лучей содержимого клеток эпидермиса чешуи луковицы *Allium cepa* в зависимости от их состояния при пропитывании их флюоресцирующими веществами.

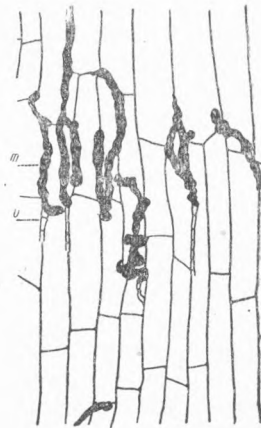
Руководствуясь этими указаниями, мы применили флюоресцентно-микроскопический способ к объекту нашего исследования. Для этой цели искусственно зараженное пыльной головней, обработанное мокрым термическим способом, а также и необработанное зерно пшеницы сортов Альбосар, Лютесценс 062 и Альбидум 721 оставлялось в термостате при 26—28° во влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри на срок от 4 до 6 суток. Затем производились продольные срезы через центр зародыша зерна, помещались на предметное стекло в каплю свежеприготовленного 0.005% раствора эозина (eosin gelbl. Kahlbaum) в 0.1 N KNO<sub>3</sub>. В таком виде срезы сохранялись в течение трех минут, после чего тщательно промывались дистиллированной водой. Затем препараты (первоначально без покрывания покровным стеклом) рассматривались в ультрафиолетовых лучах флюоресцентного микроскопа. Мы могли отчетливо наблюдать локализацию мицелия пыльной головни в зародыше прорастающего зерна. Мицелий имел характерную слабо извитую в очертаниях форму с характерными вздутиями при прохождении им межклетников и на концах гиф (см. фигуру) и располагался в виде обрывков или сплетений.

Если рассматривать срезы зерна пшеницы на предметном стекле

в капле воды без всякой окраски в ультрафиолетовых лучах флюоресцентного микроскопа, то можно видеть, что из всех тканей зерна только алейроновый слой\* и щиток зародыша имеют собственную флюоресценцию. Они флюоресцируют бледно-голубым цветом, между тем как ни эндосперм, ни остальная часть зародыша не флюоресцируют. Грибница пыльной головки также не обладает собственной флюоресценцией.

При пропитывании же срезов эозином можно наблюдать возникновение вторичной флюоресценции<sup>(2)</sup> у зародыша и эндосперма. Зародыш флюоресцирует в данном случае не ярко, зеленовато-желтоватым цветом, между тем как клейковинный белок эндосперма флюоресцирует желтым цветом. Крахмальные же зерна клеток эндосперма не флюоресцируют. Щиток зародыша и алейроновый слой не меняют цвета флюоресценции под влиянием эозина, так как они его повидимому не впитывают.

Мицелий же пыльной головки, проникший из щитка в почечку зародыша на срезе, обработанном эозином, флюоресцирует ярко, канареечно-желтым цветом, как и в эпителии щитка. Мицелий же, находившийся в паренхиме щитка и алейроновых клетках, флюоресцировал голубым цветом. Отклонение в цвете флюоресценции у мицелия паренхимы щитка от мицелия, находящегося в почке зародыша, зависело вероятно от затруднения в проникновении эозина в ткань щитка. Точно так же нельзя наблюдать желтой флюоресценции у гиф мицелия, клетки которого утратили протоплазму. Практическое же значение для наших наблюдений преимущественно имел мицелий, проникший в почечку зародыша.



Таким образом отдельные части зерна и даже зародыша с заключенным в нем мицелием гриба в зависимости от различий в их химическом составе флюоресцируют по-разному. Получаемые в результате картины слагаются из собственной флюоресценции и вторичной флюоресценции компонентов зерна и паразита.

Различить мицелий пыльной головки от окружающей его ткани зерна можно по более сильной флюоресценции его по сравнению с тканями растения-хозяина и по иному цвету флюоресценции. Видна ярко канареечно-желтая флюоресценция грибницы на фоне не ярко зеленовато-желтоватой флюоресценции почки зародыша.

Локализация мицелия в зерне проростков пшеницы от 1 до 6 дней упомянутых сортов, обработанных мокрым термическим способом, была аналогичной с таковой у мицелия, находящегося в непрогретом зерне.

На нашем материале мы наблюдали полное отсутствие мицелия в почке зародыша в первые дни прорастания зерна и, наоборот, разрастание мицелия в почке зародыша из щитка, начиная от трехдневных до шести- и семидневных проростков как прогретого (4 часа при 30° и 8 минут при 52°)\*\* зерна, так и контрольного.

Однако в некоторых случаях (при прогревании зерна в течение 7 мин. при 53° после 4-часового намачивания при 30°) можно было видеть на трехдневных проростках, что мицелий хотя и вошел в виде одиночных гиф

\* Оболочки алейроновых клеток флюоресцируют ярко светлоголубым, а содержимое этих клеток не ярко серовато-голубым. Оболочки же зерна флюоресцируют светлым тоном.

\*\* Стандартный способ мокрой термической обработки зерна пшеницы, очищающий ее посевы от пыльной головки.

в почку прорастающего зародыша, но клетки его были лишены протоплазмы. Последняя сохранилась только в верхушечных клетках, при помощи которых мицелий распространяется вглубь ткани и которые флюоресцировали матово-желтым цветом. На других же проросших зернах в тех же условиях можно было наблюдать, что мицелий, вошедший в почку зародыша, совершенно утратил протоплазму. Между тем в обоих случаях мицелий, находившийся в эпителии щитка, флюоресцировал матово-желтым цветом и сохранял свою морфологическую специфику, характерную для гиф, находящихся в эпителии щитка и сильно отличающихся от гиф других частей зародыша и зерна своим объемом и упитанностью.

Тот факт, что мицелий пыльной головки мог расти некоторое, хотя и короткое время, в почке зародыша прогретого зерна при прорастании последнего, говорит за то, что он не был убит. Однако интенсивность свечения этого мицелия была немного слабее по сравнению с контролем.

При испытании воздействия эозина на убитый мицелий пыльной головки в зерне однодневных проростков пшеницы, прогретом при более высокой (по сравнению со стандартом) температуре (до 55°), можно видеть более сильное угасание флюоресценции в протоплазме гиф с изменением их цвета в смысле утраты чистоты тона окраски. При применении других флюорохромов были получены положительные результаты с эритрозином. Однако принципиальных отличий по сравнению с эозином не наблюдалось.

Исходя из проведенного эксперимента, можно подойти к уточнению обоснования мокрой термической обработки, применяемой для освобождения посевов пшеницы от заболевания пыльной головней. Можно видеть, что сущность мокрой термической обработки заключается в повреждении мицелия пыльной головки в зерне пшеницы, а не в его непосредственной гибели. Хотя такой ослабленный мицелий при соответствующих благоприятных условиях и может некоторое время развиваться вместе с тканями прорастающего зерна, но в дальнейшем, быстро отставая в развитии от последнего, погибает. Отсутствие проявления пыльной головки на растениях, выращенных из зерна, обработанного мокрым термическим способом, и является следствием этого разрыва между паразитом и растением-хозяином и ухода последнего от поражения.

Флюоресцентно-микроскопический способ дал возможность не только дифференцировать грибницу от ткани хозяина вследствие иного цвета и интенсивности флюоресценции мицелия по сравнению с тканью зародыша прорастающего зерна. Самое существенное, что он дает возможность распознавать живой и мертвый мицелий в ткани растения-хозяина.

В силу этого флюоресцентно-микроскопический способ дает возможность не быть связанным с ограниченным во времени вегетационным периодом и ускоряет процесс работы. Он имеет неоспоримые преимущества перед другими способами прижизненных наблюдений, в данном случае вследствие большей контрастности, четкости и яркости наблюдаемых картин.

Необходимо отметить всю важность дальнейшей разработки и распространения флюоресцентно-микроскопического способа в научно-исследовательской работе дела защиты растений. В частности в некоторых случаях он может быть незаменим для прижизненных наблюдений над грибницей паразита в ткани растения-хозяина и ее изменений под влиянием повреждения или некроза.

Лаборатория патологической анатомии и физиологии.  
Всесоюзный институт защиты растений.

Поступило  
19 III 1939.

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> D ö r i n g H e l m u t, Ber. d. D. Bot. Ges., 53, H. 4 (1935). <sup>2</sup> Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Physikalische Methoden, Teil 3 (1 Hälfte), № 24 (1934).