

А. А. ЯЦЕНКО-ХМЕЛЕВСКИЙ и Л. М. ВАСИЛЕВСКАЯ
**РЕАКЦИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК СРУБЛЕННОЙ ДРЕВЕСИНЫ БУКА
НА РАСПРОСТРАНЕНИЕ В НЕЙ ГРИБА**

(Представлено академиком А. А. Рихтером 23 I 1940)

Распространение гриба в древесине представляет много особенностей, далеко еще полностью не изученных. Среди этих особенностей мало исследована реакция живых клеток древесины на внедрение гриба и связанные с ней превращения пластических веществ. Микроскопическая картина древесины, пораженной грибом, описывалась довольно часто. При этом обычно отмечалось в сосудах и живых (паренхимных) клетках наличие ряда веществ, большей частью буроокрашенных, различной конфигурации, происхождения которых связывается с деятельностью гриба. Наиболее распространенная точка зрения рассматривает эти вещества как результат окисления содержимого клеток под влиянием гиф⁽¹⁾. Образование в пораженной древесине тилл также обычно приписывается влиянию гиф гриба⁽²⁾, хотя в последнее время Эбес⁽³⁾ указал, что по его наблюдениям образование тилл в срубленной буковой древесине происходило с одинаковой интенсивностью как в здоровых, так и в инокулированных *Stereum purpureum* образцах. Наши наблюдения над «задыханием» бука^(4,5) показали, что внедрение гриба в древесину вызывает в последней ряд энергичных превращений содержимого клетки, отличающихся от превращений, происходящих в незараженной срубленной древесине при процессе «раневой реакции»^(6,7). Однако невыясненным оставался вопрос, в какой мере эти превращения осуществляются живой клеткой и в какой мере они являются постмортальными, т. е. вызванными ферментами гиф в уже умерщвленной клетке. Вопросы эти представляются имеющими не только теоретический интерес. В ряде случаев представляется чрезвычайно важным знать, произошло ли поражение в еще живой или в уже мертвой (высушенной) древесине, и очень желательно иметь возможность разрешать этот вопрос по микроскопической картине.

Опыты наши велись со срубленной древесиной бука. Задачей нашего исследования являлось установление различий между превращениями пластических веществ, во-первых, у здоровой срубленной древесины и у древесины, пораженной грибом, и, во-вторых, у мертвой и у живой древесины, инокулированной грибом. Одновременно было подвергнуто исследованию влияние гиф на образование тилл. Для получения образцов 20 III 1939 нами в окрестностях Тбилиси был срублен бук, из древесины которого на другой же день были изготовлены образцы для исследования размером примерно в $2,5 \times 2,5 \times 4$ см.

Основным затруднением, с которым мы встретились в наших опытах, была техника умерщвления древесины. После нескольких попыток мы остановились на погружении опытных образцов в растворы формалина и спирта. Часть образцов была помещена в колбу в пары формалина на 4 часа, после чего образцы были помещены на 40 мин. в жидкий 40%-ный

формалин. Другая часть образцов была погружена в 86% спирт на 4 часа. Отмывка образцов производилась струей воды в продолжение 4 час. и испарением под вакуумом в течение одного часа до потери образцами характерного запаха формалина или спирта. Полученные образцы вместе с живыми образцами (выпиленными из толщи бревна в день закладки) 23 III были заложены в колбы с грибницей *Fomes igniarius* Fr., выращенной на питательной среде агар-агар+пивное сусло. В каждую колбу помещалось 6 образцов: 2 живых, 2, обработанных формалином и 2, обработанных спиртом. Для контроля аналогичная серия образцов была нами заложена в стерильные колбы с агар-агаром и пивным суслом. Через 10, 20, 30, 50, 70 и 90 дней после начала опытов нами фиксировались в формалине образцы из двух колб с зараженными и контрольными образцами. Дополнительно к образцам первого срока I VII нами было взято второе дерево; выпиленные из него образцы в живом состоянии были также помещены в колбы с *Fomes igniarius* Fr. на срок в 20, 30 и 120 дней. Исследование всех образцов производилось микрохимическим способом, по обычной методике. Определялись крахмал, сахар, дубильные вещества, а также производилась окраска срезов сафранином и метиленблау для выявления продуктов деятельности гриба. Гифы грибов окрашивались раствором анилинблау в молочной кислоте по Курсанову.

Образцы, зафиксированные в день валки дерева, показали, что в момент начала опытов в живых элементах древесины присутствует в значительных количествах крахмал и «дубильное вещество»*. Контрольные живые, не зараженные образцы, находившиеся в колбах в течение 30 дней, показывают примерно ту же картину, что и образцы, взятые в день валки, осложненную незначительно продвинувшимся вперед процессом агрегации крахмала в результате наступления раневой реакции. Образование тилл в них совершенно замечено не было. Часть умерщвленных контрольных образцов оказалась в значительной степени зараженной бактериями, нарушившими нормальное состояние пластических веществ в них. Оставшиеся здоровыми отличий от первоначальных образцов не показали.

Все образцы, зараженные грибом, оказались насквозь пронизанными гифами и показали значительные изменения в составе и количестве пластических веществ, накопленных в паренхимных клетках. В образцах последних сроков уже заметны разрушения клеточных оболочек.

В образцах, обработанных формалином (6 сроков по 2 образца в каждом), нигде не было замечено образования тилл, что является косвенным доказательством того, что образцы были действительно формалином умерщвлены. Во всех образцах отчетливо прослеживается процесс постепенного исчезновения капель дубильных веществ, которые в образцах последних сроков почти совершенно отсутствуют, и крахмала. Исчезновение крахмала происходит значительно более медленно, и крахмальные зерна встречаются даже в образцах последних сроков. Исчезновение крахмала и дубильных веществ не сопровождается появлением каких-либо образований, различимых под микроскопом, и большинство паренхимных клеток представляется совершенно пустыми. Повидимому, крахмал, по крайней мере в некоторой своей части, переходит в сахар, который затем в той или иной форме потребляется грибом, так как количество его, довольно значительное в образцах первых сроков, к концу опыта в древесине падает. Древесина образцов сохранила свой нормальный цвет, и только в одном образце около поверхности были заметны бурые полосы и пятна. Под микроскопом это бурое окрашивание оказалось вызванным

* Под этим термином мы понимаем пластическое вещество, описанное Приходько⁽⁸⁾ под названием «маслообразное вещество», отмеченное в древесине и другими исследователями⁽⁹⁾ и дающее реакцию на дубильные вещества.

скоплением в сосудах гиф грибов, вместе с продуктами их деятельности— массой зернистого состава. В паренхимных клетках этого вещества не наблюдалось.

Древесина образцов, обработанных спиртом, оказалась убитой только по периферии, внутри же образцов было констатировано чрезвычайно энергичное тиллообразование, с несомненностью указывающее на сохранение древесиной своей жизнеспособности*. Вся внутренняя часть образцов потемнела, образовав бурое пятно, нигде не достигающее до края. Только в одном образце из 12 это пятно почти не замечалось, и образование тилла констатировано не было. Таким образом в каждом из этой серии образцов мы имели внешнюю убитую и внутреннюю живую часть древесины. Различия в состоянии пластических веществ в этих двух частях чрезвычайно резки. В убитой части образцов тиллы отсутствуют, и либо наблюдаются крахмал и капли дубильных веществ, либо же паренхимные клетки лишены содержимого—картина, напоминающая образцы, обработанные формалином. Некоторым отличием от этих последних является наличие процессов агрегации крахмала, являющихся, быть может, следствием продолжающейся в клетках, убитых спиртом, работы ферментов.

Во внутренней части образцов, наряду с энергичным процессом тиллообразования, отмечается превращение крахмала и дубильных веществ в буроокрашенное вещество, повидимому, более или менее жидкой консистенции, заполняющее всю полость паренхимных клеток. Это вещество, образуемое живыми клетками древесины под влиянием гиф грибов, мы провозимозов обозначаем термином «микоинфильтрат». В образцах различных сроков прослеживаются все стадии его образования из пластических веществ. Сначала капли дубильных веществ расплываются по всей клетке, не теряя при этом своих очертаний, крахмальные зерна сливаются, принимают каплеобразную форму и теряют способность давать реакцию с J-KJ. Затем капли все более и более расплываются, буреют и, наконец, заполняют всю клетку целиком. В некоторых случаях микоинфильтрат имеет зернистую консистенцию, но обычно он совершенно прозрачен. Окраска микоинфильтрата коричнево-бурая, от сафранина он окрашивается в красновато-бурый цвет. Это же вещество накапливается и в тиллах, а в местах максимального развития гриба заполняет полости волокон и, отчасти, полости сосудов. Пропитывая клеточные оболочки древесины, микоинфильтрат придает пораженной древесине характерный бурый цвет.

По внешнему виду микоинфильтрат отличается от «раневого вещества» (раневого гумми немецких авторов), образующегося в результате раневой реакции, так как не имеет каплеобразной формы и заполняет всю полость клетки целиком, в то время как «раневое вещество» обычно скопляется по углам клеток в виде каплеобразных масс^(6, 7).

Живые образцы, пораженные грибом, показали тот же процесс энергичного тиллообразования и превращения пластических веществ древесины в микоинфильтрат, совершенно подобный процессу, наблюдающемуся во внутренних частях спиртовых образцов, с появлением соответствующей бурой окраски. Все образцы, в том числе и живые, перед помещением на грибницу были обтерты ваткой, смоченной в спирте, который убил по периферии тонкий слой древесины. В этом слое наблюдается та же картина, что и в мертвых частях описанных выше образцов.

Химический состав микоинфильтрата остается для нас совершенно не выясненным. Испробованными анилиновыми красками он окрашивается относительно слабо, не исчезает под действием горячей воды, щелочей

* Повидимому, столь обычно применяемый для фиксации древесины спирт, не всегда достигает своей цели и должен быть заменен формалином.

и кислот; реакция на белок (Миллона) и дубильные вещества (Fe_2Cl_6) также не дает положительных результатов.

Резюмируем основные выводы нашего исследования.

1. При проникновении гриба в мертвую (умерщвленную формалином) древесину все пластические вещества постепенно исчезают. Сначала исчезают дубильные вещества и крахмал, переходя, повидимому, в сахар, затем исчезает (или, во всяком случае, уменьшается в количестве) и этот последний. Исчезновение крахмала и дубильных веществ совпадает с появлением первых признаков разрушения оболочек клеточных элементов древесины. В некоторых случаях в сильно пораженной древесине в сосудах наблюдаются скопления буроокрашенных гиф грибов и продуктов их выделений, вызывающих в древесине видимые микроскопически бурые полосы и пятна. Сплошная бурая окраска пораженной древесины на наших образцах ни разу не наблюдалась.

2. Проникновение гриба в живую древесину вызывает в ней быстрое (в наших опытах в образцах первого 10-дневного срока) превращение пластических веществ в буроокрашенное вещество жидкой консистенции, обозначаемое нами провизорным термином «микроинфильтрат», заполняющее всю полость живой клетки и инфильтрирующееся затем в полости волокон и сосудов. Накопление этого вещества и пропитывание им клеточных оболочек придают живой пораженной древесине бурю окраску. Образование микроинфильтрата является реакцией живой древесины на внедрение гриба, и в мертвой древесине нами ни разу отмечено не было.

3. В согласии со старыми авторами (2) и в противоречии с Эбесом (3) нами установлено, что энергичное тиллообразование наблюдается только в пораженной грибом живой древесине и отсутствует у контрольных, находящихся в тех же условиях температуры и влажности. Образование тилл в стерильной буковой древесине в процессе раневой реакции отмечалось нами и ранее (6), но оно происходит со значительно меньшей интенсивностью.

4. В соответствии со сказанным выше представляется вполне возможным судить по микроскопической картине древесины о том, поражена ли древесина грибом или только охвачена процессом раневой реакции, а также произошло ли заражение в живой или уже мертвой древесине, причем последний вопрос может быть разрешен на основании состояния пластических веществ в паренхимных клетках и при отсутствии тиллообразования.

5. Наши опыты проводились с древесиной бука, пораженной грибом *Fomes igniarius*. Не исключена возможность, что грибы иного физиологического типа вызывают в пораженной ими древесине превращения пластических веществ, отличающиеся от описанных выше.

Тбилисский ботанический институт
Грузинского филиала Академии Наук СССР

Поступило
26 I 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. И. Ванин, Курс лесной фитопатологии (1931). ² J. Tuzson, Anatom. und mycol. Untersuchungen über die Zersetzung und Konservierung des rotbuchen Holzes, Berlin (1905). ³ K. Ebes, Vorming van Thyllen in geveld blukenhout, Diss., Wageningen (1937). ⁴ А. А. Яценко-Хмелевский, ДАН, XVIII, 3 (1938). ⁵ А. А. Яценко-Хмелевский и Е. Л. Коношевская, ДАН, XX, 4 (1938). ⁶ А. Yatsenko-Khmélévsky et Н. Kоnischevskа, Rev. gen. Bot., 47 (1935). ⁷ А. А. Яценко-Хмелевский, ДАН, XIV, 1 (1937). ⁸ М. И. Приходько, Изв. Тифл. Гос. политехн. ин-та, III (1928). ⁹ М. А. Шапидзе и Т. А. Кезели, Бот. журнал СССР, 18, № 6 (1933).