

ФИТОПАТОЛОГИЯ

Я. Е. ЭЛЛЕНГОРН и Е. Г. ГИКАШВИЛИ

О ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЯХ В ЛИСТЕ СВЕКЛЫ, ПОРАЖЕННОМ  
*CERCOSPORA BETICOLA*

(Представлено академиком Н. В. Цициным 16 XII 1947)

Задача настоящей работы заключается в том, чтобы уловить изменения, которые вызывает грибок *Cercospora beticola* в тканях листа свеклы, поражая его. Были использованы различные методы, но все они были направлены к тому, чтобы изучить физиологическое состояние клеток в случае поражения свеклы церкоспориозом.

I. Цитофизиологическая характеристика нормального эпидермиса листа свеклы. Для работы мы пользовались небольшими кусочками эпидермиса, содранного с листа. Эта ткань состоит из довольно крупных 6—4-угольных клеток, среди которых расположены эллипсоидальные клетки устьиц.

Исследование на темном поле вскрывает следующее. Протопласт собственно эпидермальных клеток оптически пуст. В замыкающих клетках устьиц плазменные коллоиды светятся на темном поле диффузным сиянием. Клетки травмированные обладают некоторым свечением на темном поле, но также диффузным и, несмотря на желатинизацию плазменных коллоидов, наступающую при травме, никаких органоидов в данных клетках не видно; случай этот далеко не общий (1).

Окрашивая эпидермис нейтральной красной, можно отметить наличие двух типов клеток: с кислой внутриклеточной реакцией — они окрашены в малиново-розовый цвет, и с нейтральной реакцией — они окрашены в буроватый цвет. Замыкающие клетки устьиц всегда имеют кислую реакцию. Повышенную кислотность замыкающих клеток устьиц в открытом состоянии отметил впервые Пекарек (5). Прат (7) справедливо полагал, что в открытых клетках устьиц должна быть более кислая внутриклеточная реакция. Очень часто околоустьичные клетки (морфологически здесь не дифференцированные) также имеют кислую реакцию. Околоустьичные клетки и их физиологические особенности были изучены Лилиенштерн (4) у *Tradescantia*, но там они выражены и морфологически. У нашего объекта околоустьичные клетки выделяются физиологически повышенной кислотностью. Окрашивание происходит диффузно и гранулообразование в норме не идет.

Рассматривая эпидермис, окрашенный нейтральной красной на темном поле, можно наблюдать следующее: кислые замыкающие клетки устьиц сохраняют свои характеристики — они не светятся на темном поле. Следовательно, окрашивание замыкающих клеток устьиц не повлекло за собой заметного изменения их коллоидов. Собственно эпидермальные клетки, имеющие реакцию около pH = 7,0, будучи окрашены нейтральной красной, начинают сильно светиться на темном поле.

Происходит, повидимому, падение степени дисперсности плазменных коллоидов. Кислые околоустьичные клетки, даже и будучи окрашенными, своего свечения не меняют и остаются оптически пустыми. Нейтральные клетки наиболее лабильны в отношении коллоидного состояния их. В старых листьях (даже в умирающих) рН сдвигается именно в нейтральную сторону. Старение листьев сопровождается падением внутриклеточной кислотности в клетках эпидермиса. Вероятно, коллоиды стареющих клеток также менее устойчивы. Появление нейтральной реакции в клетках эпидермиса определяет подверженность их поражению грибами.

Опишем теперь реакцию, которую мы обнаружили, изучая окрашенные клетки эпидермиса свеклы при обработке их гипертоническим раствором  $\text{KNO}_3$ . Окрашивание эпидермиса происходит диффузно. Но если окрашенные нейтральной красной клетки поместить в молярный раствор  $\text{KNO}_3$ , то в них выпадают „гранулы“. В травматической зоне — около обрыва эпидермиса (т. е. в тех клетках, где имеется раневое раздражение) сразу же вместо гранул выпадают маленькие кристаллики нейтральной красной. Скорость появления нейтральной красной в форме кристаллов различна для разных клеток. В живых клетках сначала появляются „гранулы“, а затем с той или иной скоростью они превращаются в кристаллы. Явление это очень подробно было изучено в 1937 г. Боррисом <sup>(3)</sup> и Пекареком <sup>(6)</sup>. Ими установлено, что при обработке эпидермисов, окрашенных витально, гипертоническими растворами клеточные оболочки обесцвечиваются и образуется коллоидальный гель краски, который выпадает в форме „дисков“ или „гранул“, постепенно переходящих в кристаллы.

Переход геля краски из „гранул“ в кристаллы тесно связан с физиологическим состоянием протопласта. В клетках травмированных, но еще живых, это происходит очень быстро — в 3—4 мин., а в нормальных клетках значительно медленнее — в 10—15 мин. Скорость исчезновения „гранул“ и появление на месте их кристаллов соответствует активности жизненных процессов в клетке. В клетках травматической зоны переход „гранул“ в кристаллы происходит быстрее, тогда как в отдалении от обрыва — медленнее. Скорость проникновения  $\text{KNO}_3$  в плазму, очевидно, будет различна. Она больше в клетках травматической зоны, которые имеют и более щелочную реакцию. Измеряя скорость превращения „гранул“ в кристаллы, мы тем самым определяем устойчивость клетки к внешним воздействиям. Мы определяем скорость проникновения  $\text{KNO}_3$  в клетку и образование геля краски, который сначала выпадает в форме „гранул“, а затем кристаллизуется.

Чем же может определяться скорость, с которой „гранулы“ превращаются в кристаллы? Вероятнее всего, она определяется устойчивостью живого коллоида по отношению к проникновению внутрь него  $\text{KNO}_3$ , т. е. „буферностью“ клетки. Были взяты два кусочка эпидермиса — один с молодого листа, другой со старого. Они окрашивались в нейтральной красной, затем переносились в 0,8 М раствора  $\text{KNO}_3$ . В эпидермисе со старого листа (имеющего более нейтральную реакцию) кристаллы нейтральной красной выпали скорее, чем в эпидермисе с молодого листа (имеющего более кислую реакцию). „Буферность“ молодого более кислого эпидермиса оказалась большей, чем нейтрального — старого.

II. Анализ поражения листьев свеклы *Cercospora beticola*. При изучении поражений, вызываемых *Cercospora beticola*, мы пользовались кусочками эпидермиса, которые сдирались с таким расчетом, чтобы захватить не только здоровый участок эпидермиса, но и всю ту ткань (бурое кольцо), которая окружает некротическое пятно. Кольцо состоит из двух родов клеток: к центру пятна расположен слой

бурых отмерших клеток, а за ним (рис. 1, 1, 2), к периферии расположены клетки, заполненные антоцианом (рис. 1, 3). На поперечном срезе сильно пораженного листа видно, что антоциановые клетки могут быть расположены как в верхнем эпидермисе листа, так и в нижнем. В палисадной паренхиме также есть клетки, заполненные антоцианом. Помимо бурой каймы, окружающей пятно, болезненное состояние клеток не распространяется на сколько-нибудь значительное расстояние, локализуясь довольно узкой каемкой.

На темном поле в зоне между бурыми отмершими клетками (по краям пятна) и антоциановыми клетками расположены клетки, очень интенсивно сияющие на темном поле (на рис. 1 между 2 и 3). На эпидермисах, фиксированных по Навашину, содранных с каймы „пятна“ и окрашенных железным гематоксилином, эти клетки характеризуются утолщенными оболочками, которые очень интенсивно окрашиваются; это — распадающиеся клеточные оболочки. Происходит не только разрушение оболочки, но и дегенерация той плазмы, которая их пропитывает. Эти клетки граничат с теми, которые подвергаются окончательному разрушению по краям некротического „пятна“ (рис. 1, 1),

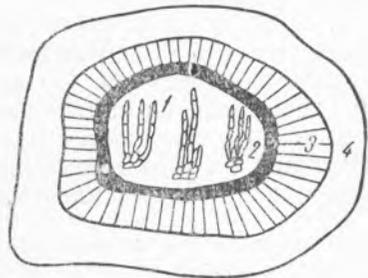


Рис. 1. Схема распределения физиологических зон в „пятне“, возникающем на листе свеклы при поражении его *Cercospora beticola*: 1—некроз—место развития гриба; клетки мертвые, реакция их щелочная; 2—зона распадающихся бурых клеток с разрушенными оболочками; 3—зона клеток, заполненных антоцианом, с кислой внутриклеточной реакцией — барьер; 4—зона слабощелочных клеток, переходящих в нормальные эпидермальные клетки

Реакция клеток, заполненных антоцианом (рис. 1, 3), кислая, и оболочки их при окрашивании нейтральной красной остаются неокрашенными. За антоциановыми клетками по направлению от центра пятна к здоровой ткани располагаются клетки с явно щелочной реакцией (рис. 1, 4).

Если препарат, окрашенный нейтральной красной, рассматривать на темном поле, то это кольцо щелочных клеток характеризуется сильным свечением их протопластов. Падение степени дисперсности вызвано окрашиванием, но весьма характерно, что в этих ясно патологических клетках имеет место то же самое изменение степени дисперсности при окрашивании, которое имело место и в норме в старых эпидермисах в клетках с реакцией, близкой к  $pH = 7,0$ . Патологичность реакции даже слабо щелочной или близкой к  $pH = 7,0$  для данного объекта и для данной ткани нам представляется несомненной.

Штруггер<sup>(8)</sup> полагает, что оболочка живой клетки не является мертвым образованием — она пронизана на всем ее протяжении живой плазмой. Окрашенность оболочки клеток свидетельствует о пониженной десорбции из нее ионов краски — о пониженной энергетике протопласта. Такая окрашенность оболочек характеризует ткани, ограничивающие „пятно“. В то время как в клетках, заполненных антоцианом, т. е. лежащих у самого края „пятна“, оболочки совершенно не окрашены, в следующих за ними клетках к центру пятна (рис. 1, 2) оболочки сильно окрашены.

Поражение церкоспориозом имеется только на листьях с нейтральным  $pH$ . Важно отметить эту особенность поражаемых тканей. В протопластах старых клеток быстрее выпадают кристаллы нейтральной красной при помещении окрашенных эпидермисов в гипертонические растворы  $KNO_3$ . Состояние поражаемых тканей характеризуется, во-первых, менее кислой, а вернее, нейтральной реакцией, а во-вто-

рых, меньшей „буферностью“ (быстрее выпадают кристаллы). Церкоспороз характеризуется тем, что возникают строго локализованные „пятна“ и распространение гриба по поверхности листа ограничено. Если поражаемая ткань имеет нейтральную реакцию, то наш анализ „пятна“ и тканей, его окружающих, вскрывает причину того, что „пятно“ это ограничено локально. По границе каймы, опоясывающей „пятно“, возникают антоциановые клетки, имеющие кислое рН. Именно они и являются тем барьером, который образует растение на пути распространения гриба. Эта защитная реакция растения является автомеханичной; *Cercospora*, поражая лист, не может перескочить тот кислый барьер, который вырабатывает растение как в эпидермисе, так и в мезофиле листа.

Все средства, которые смогут в течение вегетационного периода поддерживать более кислое рН, окажутся целесообразными в борьбе с этим заболеванием. По данным Н. И. Салунской<sup>(2)</sup>, недостаток азота сказывался на снижении сопротивляемости растения. При недостатке азота получают растения более слабые, и нужно думать, что снижение их жизнеспособности скажется как в более быстром ощелочении стареющих клеток, так и в снижении их буферности.

Лаборатория отдаленной гибридизации  
Академии Наук СССР

Поступило  
16 XII 1947

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия, 1940. <sup>2</sup> Н. И. Салунская, Научн. зап. В. Н. И. С., 4 (1935). <sup>3</sup> Н. Borris, Protoplasma, 30 (1937). <sup>4</sup> M. Liliens tern, ibid., 22 (1935). <sup>5</sup> J. Peka rek, Planta, 21 (1934). <sup>6</sup> I. Peka rek, Protoplasma, 30 (1937). <sup>7</sup> V. Pr at, Koll. Z., 40 (1926). <sup>8</sup> S. Str ugg er, Flora, 5 (1938).