

А. Ф. ЭВЕРТ

**ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ПОРАЖЕНИЯ ЗЛАКОВ ПЫЛЬНОЙ
ГОЛОВНЕЙ С ПОМОЩЬЮ ФАЗОВО-КОНТРАСТНОЙ
МИКРОСКОПИИ**

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 24 I 1950)

До сего времени методы, применяемые с целью обнаружения паразита в тканях питающего растения, не оправдывали себя в полной мере. Используемые при этом ультрафиолетовые лучи (у.-ф. микроскопия), флуорохромы (флуоресцентная микроскопия), основные красители (прижизненная окраска) действуют отрицательно на жизнедеятельность организма, а при повышенных дозах совершенно ее прерывают^(1, 2). Понятно поэтому, что возможность микроскопирования живого препарата, не подвергающегося губительному действию фиксации, окраски и световым травмам (у.-ф. лучи), представляет большой интерес. Такая возможность в значительной мере достигается применением фазово-контрастной микроскопии.

Автором настоящей статьи сделана попытка применить фазово-контрастный микроскоп для обнаружения мицелия пыльной головни овса (*Ustilago avenae*) на свежесрезанном нефиксированном и неокрашенном препарате.

Для исследования были взяты живые стебли овса с явными признаками поражения (пылящая метелка). Проба в виде цилиндрика, длиной 4—5 мм, вырезалась бритвой в околоузловой части стебля, напильничалась на кончик тонкой препаровальной иглы и на секунду опускалась в чистый, расплавленный на водяной бане, пчелиный воск. Если после первого погружения проба недостаточно ровно покрывалась слоем воска, то применялись повторные погружения, с перерывами 25—30 сек.

Микроскопические наблюдения показали, что опускание пробы в расплавленный воск при температуре 70—80° не причиняло вреда объекту. Это подтвердилось дополнительным опытом над более нежными объектами, как цветонос карликового георгина и флокса. Очевидно, за столь короткий промежуток времени объект не успевает нагреваться до критической температуры, которая убивала бы живую ткань. Такие пробы в прохладном месте могут сохраняться, не высыхая, в течение 7—10 дней.

Для получения среза на торцевую сторону деревянной колодочки, размером 10 × 30 × 30 мм, приправлялся кубик чистого пчелиного воска размером 8 × 8 × 8 мм. При помощи особого паяльника в середину воскового кубика заплывалась покрытая восковой оболочкой проба. После заправки пробы воск обрезался скальпелем с четырех сторон на расстоянии около 1 мм от пробы. При этом следили, чтобы стенки вокруг пробы были строго отвесными.

Перед резанием производилось охлаждение заготовленных проб в прохладном месте или путем опускания в воду с температурой 8—10° на 5—10 мин. В процессе резания правильная установка угла резания и наклона бритвы играет решающую роль для получения тонких равномерных по толщине срезов.

При обычном сухом резании живых объектов в межклетные пространства ткани растения легко проникает воздух, который остается и после заключения среза между покровным и предметным стеклами в водной среде, в значительной мере мешает наблюдениям при микрофотографировании и вводит часто в заблуждение.

Чтобы получить срезы, совершенно лишенные пузырьков воздуха, достаточно перед началом резания нанести на поверхность объекта 3—5 капель дистиллированной воды. При проходе режущей кромки бритвы вода заполняет все образовавшиеся пустоты в тканях с той и другой стороны бритвы. Перенос готового среза на предметное стекло и удаление окружающего срез воска производилось при помощи тонкой препаровальной иглы и мягкой кисточки. Готовый срез заключался в водную среду (дистиллированная вода) под чистое, тонкое, ровное покровное стекло. Предметные стекла имели канавки вокруг среза. Это предохраняло срез от быстрого высыхания при длительном микрофотографировании.

Приготовленные таким образом препараты подвергались микроскопическому исследованию при помощи фазово-контрастного микроскопа и последующему микрофотографированию на специальной микрофотоустановке конструкции автора.

Следует отметить, что микрофотографическая фиксация изображений незаслуженно игнорируется при документации микроскопических исследований в биологии; предпочтение отдается менее точным зарисовкам, отнимающим, кроме того, много времени и труда.

При микрофотографировании и микрофотографировании автором применялась следующая оптика: объективы Ph 20 и Ph 40, окуляры 10× и 15× с зеленым светофильтром.

Результаты исследования видны из приведенных микрофотографий (см. рис. 1 и 2). Как можно убедиться, метод фазово-контрастной микроскопии дает возможность наблюдать тонкие структуры фазовых препаратов в живых нефиксированных и неокрашенных препарированных тканях, что при микроскопическом исследовании растений представляет большой интерес. Следует добавить, что этот метод значительно более прост и менее трудоемок, чем методы, перечисленные в начале статьи.

Исследование, результаты которого мы здесь изложили, носило рекогносцировочный характер и имело целью лишь выяснить возможность и эффективность применения фазово-контрастного микроскопа для быстрого обнаружения мицелия паразита в тканях растения.

Для этой цели нужно было исследовать стебли, заведомо пораженные головней. Поэтому мы и использовали стебли взрослых растений, пораженность которых безусловно подтверждалась наличием головни в метелке.

Однако практически в исследовательской работе представляет интерес обнаружения мицелия на ранних фазах роста растения.

Изложенный метод применения фазово-контрастного микроскопа вполне пригоден для этой цели. В подтверждение приводим микрофотографии мицелия пыльной головни (*Ustilago Hordei*), обнаруженного в тканях растения ячменя перед выходом последнего в трубку (см. рис. 3).

Учитывая, что при выведении новых сортов культурных растений одним из решающих признаков является устойчивость сорта к грибным заболеваниям, простой и ускоренный метод определения присутствия паразита в тканях растения в продолжение вегетационного периода весьма важен.

Всесоюзный институт растениеводства
Ленинград

Поступило
30 XII 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ П. А. Генкель, Микробиология, 15, 6 (1946). ² З. М. Мейсель и Н. Заварзин, Микробиология, 16, 6 (1947). ³ Н. А. Наумов, Методы микроскопических исследований в фитопатологии, 1932.

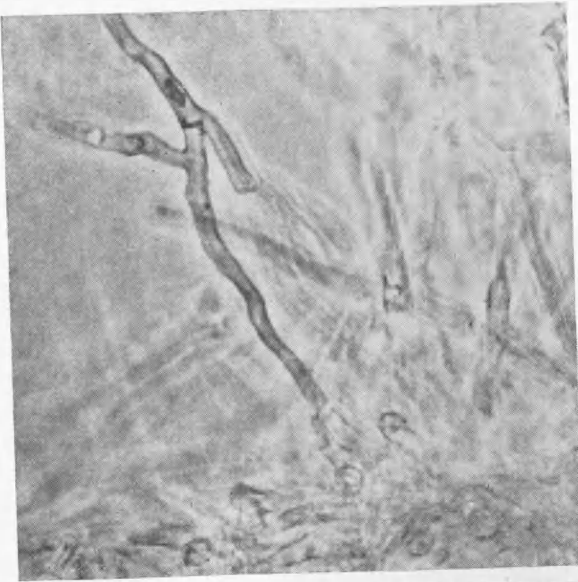


Рис. 1. Препарат пораженного живого стебля овса (метелка пылит). Виден участок мицелия паразита характер его ветвления. Внутри клетки мицелия — ядро (светлое пятно) и перегородки клеток мицелия (темные поперечные линии)



Рис. 2. Препарат пораженного живого стебля овса. Видны клетки живого стебля овса с проникшими в них гифами паразита. На концах гиф — утолщения (гаустории). Ясно видно ядро в гифе

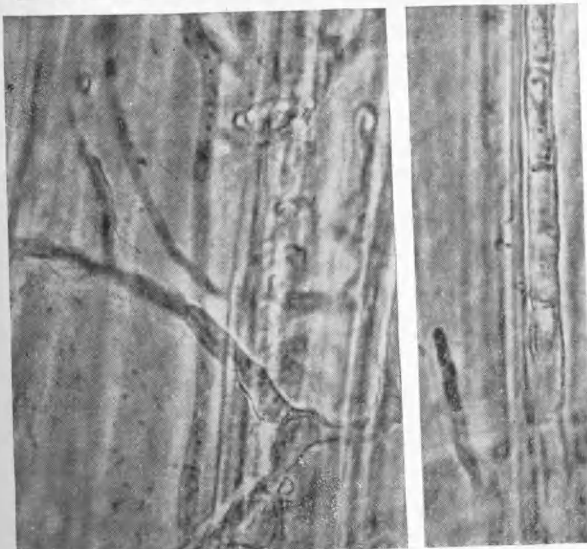


Рис. 3. Препарат пораженного живого стебля ячменя. *а* — мицелий ветвится. Видны границы клеток паразита. *б* — гифа гриба с резко выделяющимися перегородками, проходящая в межклеточном пространстве. Слева — проникающая в клетку питающего растения гифа паразита

а

б