

Н. А. ДОРОЖКИН и С. В. ГОРЛЕНКО

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ЗИМНИХ  
ЗООСПОРАНГИЕВ ВОЗБУДИТЕЛЯ КАРТОФЕЛЬНОГО РАКА  
SYNCHYTRIUM ENDOBIOVICUM (SCHILB.) PERS.**

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 26 XI 1951)

Возбудитель рака картофеля *Synchytrium endobioticum* имеет сложный цикл развития, включающий, по данным отдельных авторов, до 185 различных фаз (<sup>1</sup>). Однако при описании их не давалось достаточной характеристики наиболее важных этапов в развитии гриба, а прохождение грибом тех или иных фаз не связывалось с экологическими условиями. Отсюда проистекали трудности отыскания наиболее уязвимой стадии в развитии паразита.

В исследованиях, проводимых лабораторией фитопатологии Института биологии Академии наук БССР, мы исходили из предположения, что основной стадией гриба, при помощи которой он распространяется и сохраняется в почве, являются зимние зооспорангии, и поэтому главное внимание уделяли изучению именно этой стадии.

При изучении природы зимних зооспорангиев с целью разработки способов борьбы с картофельным раком весьма важное значение имеет определение их жизнеспособности. До сего времени эффективность действия разного рода химикатов, испытываемых в борьбе с заболеванием, учитывалась спустя год путем высадки неракоустойчивого картофеля. Определение эффективности хлорпикринизации почвы проводится также методом провокационных посадок. Такой способ проверки, помимо опасности возобновления очага, не дает полной гарантии выявления инфекции. Кроме того, весьма серьезным недостатком этого метода является его длительность.

Задача состояла в том, чтобы разработать более быстрый и рациональный метод определения жизнеспособности зимних зооспорангиев гриба в лабораторных условиях, который мог бы значительно облегчить изыскание новых более эффективных и дешевых способов борьбы с картофельным раком. Обычно в биологической практике используют два наиболее распространенных способа для определения живых и мертвых клеток: плазмолиз и окрашивание.

Метод окрашивания в применении к зимним зооспорангиям рака картофеля пока не дал положительных результатов. Широкое применение метода плазмолиза и надежность его при определении живых и неживых клеток дало нам основание предположить о возможности использования метода плазмолиза для определения живых и мертвых зимних зооспорангиев рака картофеля.

Как известно, метод плазмолиза основан на свойстве живых клеток плазмолизироваться под действием гипертонических растворов определенных веществ, в то время как мертвые клетки такой способностью не

обладают. В качестве плазмолитика нами были испытаны следующие вещества в различной концентрации: глюкоза, мочеви́на, серноокислый калий, азотнокислый кальций, азотистый калий, хлористый калий, хлористый натрий и азотнокислый аммоний.

Таблица 1

Результаты испытания различных веществ в качестве плазмолитика (% плазмолизированных зооспорангиев)

Плазмолитик	Концентрация вещества в %				
	10	20	30	40	50
Глюкоза . . . . .	—	—	—	27,1	32,2
Мочевина . . . . .	—	23,8	—	38,3	—
Серноокислый калий . . . . .	—	—	0	—	—
Азотнокислый кальций . . . . .	0	11,6	56,6	—	—
Азотистый калий . . . . .	4,7	46,3	58,4	—	—
Хлористый калий . . . . .	16,4	48,5	72,5	—	—
Хлористый натрий . . . . .	51,9	76,1	77,7	—	—
Азотнокислый аммоний . . . . .	32,2	61,7	94,8	—	—

Как видно из табл. 1, наилучшие результаты были получены при использовании 30% раствора азотнокислого аммония, который был принят нами в качестве плазмолитика и дал 94,8% плазмолизированных зооспорангиев. Повидимому, эта величина и выражает истинное количество живых зооспорангиев, так как даже самая свежая инфекция всегда содержит какой-то процент мертвых клеток, погибающих при выделении зооспорангиев из почвы или наростов и от других причин. Дальнейшее увеличение концентраций плазмолизирующих растворов не имело смысла, так как, с одной стороны, оно не повышало процента плазмолизированных зооспорангиев, а с другой, уже 30% растворы ряда веществ являлись насыщенными.

Таблица 2

Плазмолитик (смесь 30% растворов веществ в отношении 1:1)	% плазмолизир. зооспорангиев
Хлористый калий + азотистый калий . . . . .	29,8
Хлористый калий + азотнокислый кальций . . . . .	58,6
Хлористый калий + хлористый натрий . . . . .	80,8
Хлористый натрий + азотистый калий . . . . .	82,9
Азотнокислый аммоний + азотистый калий . . . . .	93,5
Азотнокислый аммоний + азотнокислый кальций . . . . .	93,8
Азотнокислый аммоний + хлористый калий . . . . .	94,0
Азотнокислый аммоний + хлористый натрий . . . . .	94,4

Данные табл. 2 показывают, что наибольший процент плазмолизированных зооспорангиев, полученный при применении смесей, не превышает таковой при действии 30% раствора азотнокислого аммония.

Определение жизнеспособности гриба методом плазмолиза требует немного времени и может быть произведено в любое время года. Методика проведения анализа проста. Для этого зооспорангии извлекаются из почвы согласно инструкции по определению зараженности почвы раком картофеля (2). Извлеченные зооспорангии помещаются в часовое стекло, смачиваются несколькими кубическими сантиметрами воды с таким расчетом, чтобы все споры были погружены в нее, и оставляются на двое суток, по истечении которых производится определение живых

и неживых зооспорангиев. Для этого 2—3 капли жидкости вместе с находящимися в ней зооспорангиями из часового стекла переносятся на предметное стекло. Вода осторожно оттягивается фильтровальной бумагой. Вместо воды добавляется 1—2 капли плазмолитика, после чего производится подсчет живых и мертвых зооспорангиев. Для установления процента мертвых и живых спор рекомендуется посмотреть не менее ста зооспорангиев.

Необходимо отметить, что на первых порах работы мы столкнулись с некоторым затруднением. Оно выражалось в том, что у части зооспорангиев сначала не удавалось обнаружить плазмолиза. Оказалось, что подобное явление имеет место в тех случаях, когда плазмолиз небольшой, отставание содержимого от оболочки располагается в верхней или нижней по отношению к глазу наблюдателя части зооспорангия и, следовательно, заслоняется соответственно ниже- или вышележащим содержимым клетки. В таких случаях необходимо слегка повернуть объект, чтобы плазмолиз стал ясно видимым. Это достигается осторожным потряхиванием или перемещением покровного стекла препаровальной иглой.

Иногда сморщивание содержимого зооспорангиев наблюдается и у мертвых клеток под действием тех или иных факторов. В таких случаях протоплазма со всех сторон отстает от оболочки, в отличие от живых клеток, у которых плазмолиз никогда не бывает полным, а имеет вид щелей между содержимым и оболочкой, слегка выпуклых внутрь зооспорангия. Кроме этого внешнего отличия, в сомнительных случаях при определении жизнеспособности можно прибегать к деплазмолизу, при котором содержимое снова плотно прилегает к оболочке. В случае же мертвого зооспорангия содержимое так и остается сжатым в комок.

Действие 30% раствора азотнокислого аммония проверялось на инфекционном материале различной давности, а также на инфекции, убитой 40% формалином и 2-часовым кипячением. Результаты сведены в табл. 3.

Таблица 3

Исследуемый материал	% плазмолизир. зооспорангиев
Инфекция 1951 г. . . . .	94,8
Зооспорангии, выделенные из естественно зараженной почвы . . . . .	93,4
Инфекция 1947 г. . . . .	73,9
Зооспорангии, убитые 40% формалином . . . . .	0
Зооспорангии, убитые 2-часовым кипячением . . . . .	0

Как и следовало ожидать, инфекция четырехлетней давности содержала более низкий процент живых зооспорангиев (73,9%) по сравнению с инфекцией данного года (94,8%). Убитые зооспорангии в обоих случаях не плазмолизировались вовсе, что подтверждалось также биологической проверкой, не давшей поражения восприимчивых сортов картофеля.

На основании проведенных опытов мы рекомендуем метод определения жизнеспособности зимних зооспорангиев *Synchytrium endobioticum*, основанный на свойстве живых клеток плазмолизироваться в гипертонических растворах. В качестве плазмолитика предлагается 30% раствор азотнокислого аммония.

Изложенный метод отличается простотой, не требует особого оборудования и больших затрат. Определение живых и мертвых цист гриба данным способом производится очень быстро и в любое время года,

что должно значительно облегчить изыскание новых, эффективных мер борьбы с картофельным раком.

В работе по разработке данного метода участвовали К. Е. Шариков и А. А. Тишкович.

Институт биологии  
Академии наук БССР

Поступило  
9 XI 1951

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Ракоустойчивые сорта картофеля, под ред. С. М. Букасова и Н. А. Наумова, М., 1938. <sup>2</sup> Н. А. Дорожкин и К. Е. Шариков, Инструкция по определению зараженности почвы раком картофеля, изд. АН БССР, Минск, 1950.