

И. В. КАРАТЫГИН

**МИЦЕЛИЙ *USTILAGO MAYDIS* (DC) SDA. В ТКАНЯХ
ПАТОЛОГИЧЕСКИХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПРИ ПУЗЫРЧАТОЙ
ГОЛОВНЕ КУКУРУЗЫ**

(Представлено академиком Е. М. Лавренко 6 IV 1971)

Целью настоящего исследования явилось выяснение цитологических закономерностей цикла развития *U. maydis* в тканях кукурузы, а также изучение особенностей взаимодействия патогена с растением-хозяином на клеточном уровне.

Для выявления ядер в клетках гриба использовали их окраску по Фельгену с подкраской лихтгрюном. Препараты окрашивали также железным гематоксилином по Гейденгайну. Исследованию были подвергнуты как естественно, так и искусственно зараженные ткани. Искусственное заражение производили путем инъекции суспензии спор шприцем в стебли трехнедельных проростков, а также посредством нанесения суспензии спор во влагища листьев.

Прорастание телеитоспор на поверхности листьев кукурузы характеризуется диморфизмом, который выражается в том, что отдельные споры прорастают либо споридиями, либо гифами. Подобный диморфизм имеет определенное отношение к механизмам формирования биотипов гриба. В ряде случаев при развитии патогена на поверхности листьев происходит образование анастомозов между гифами (гетерокариоз). Значение этих явлений для цикла развития возбудителя было обсуждено ранее (¹, ²). Следует добавить, что анастомозы как один из механизмов формирования новых совместимых биотипов (миксобиотипов) для *U. maydis* имеет гораздо большее значение, чем анастомозы между зародышевыми трубками уредоспор ржавчинных грибов. В последнем случае диплоидизация гаплоидных дикарионов отсутствует или остается недоказанной, тогда как кариогамия у *U. maydis* является необходимым условием осуществления цикла развития возбудителя в каждой генерации патогена.

В начальный период развития мицелия в тканях большинство клеток патогена имеет два ясно различимых ядра. Эти интерфазные ядра незначительны по размерам (1,0—1,5μ), их форма круглая, реже — овальная. Пора ядер, образующая дикарион, ориентирована как вдоль главной оси гифы, так и поперек ее. Ядра в дикарионах делятся синхронно. Деление ядер сопровождается образованием ядерных фигур типа «гантелей» (рис. 1з). Тип деления близок к митозу, хотя четкие митотические картины не обнаружены из-за незначительных размеров ядер. Ядра делятся более активно в клетках, примыкающих к апексам гиф, чем в онтогенетически более старых участках мицелия. В мицелии нередки многоядерные клетки (мультикарионы) с числом ядер от 3 до 8 (рис. 1е). Подобная многоядерность обычно возникает вследствие деления ядер без последующей цитотомии. Многоядерные клетки нередко патологически вздуты и имеют утолщенные оболочки. Аналогичные многоядерные вздутости у *Piricularia oryzae* Br. et Cav. в культуре вызываются неблагоприятными условиями обитания, нарушающими нормальное течение митоза, и могут рассматриваться как приспособительные клеточные реакции (³).

В период заложения сорусов количество одноядерных клеток в мицелии возрастает. При этом одноядерными в большинстве случаев оказы-

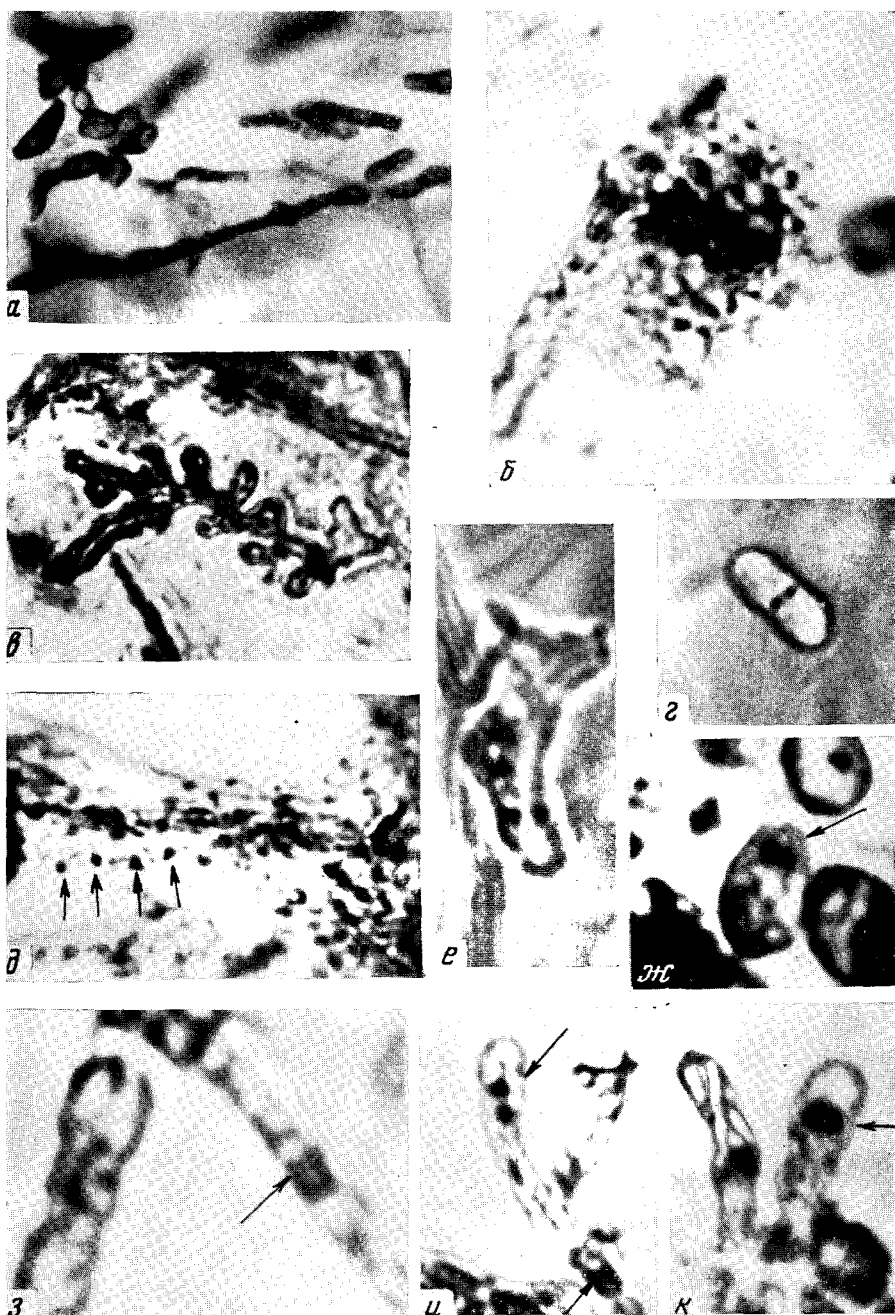


Рис. 1. *а* — распадение внутритканевого мицелия на споридии (1000×); *б* — гифа близ ядра, находящегося в метафазе (2000×); *в* — гаусториеподобное ответвление мицелия (900×); *г* — двуядерная споридия в тканях (1200×); *д* — одноядерный спорогенный мицелий (1000×); *е* — многоядерная клетка вегетативного мицелия (900×); *ж* — двуядерная телеиотоспора в сорусе (900×); *з* — митозы в гифах (1200×); *и* — двуядерная клетка спорогенного мицелия, в основании заметен митоз (1100×); *к* — контакт ядер дикариона в клетке спорогенного мицелия (1100×)

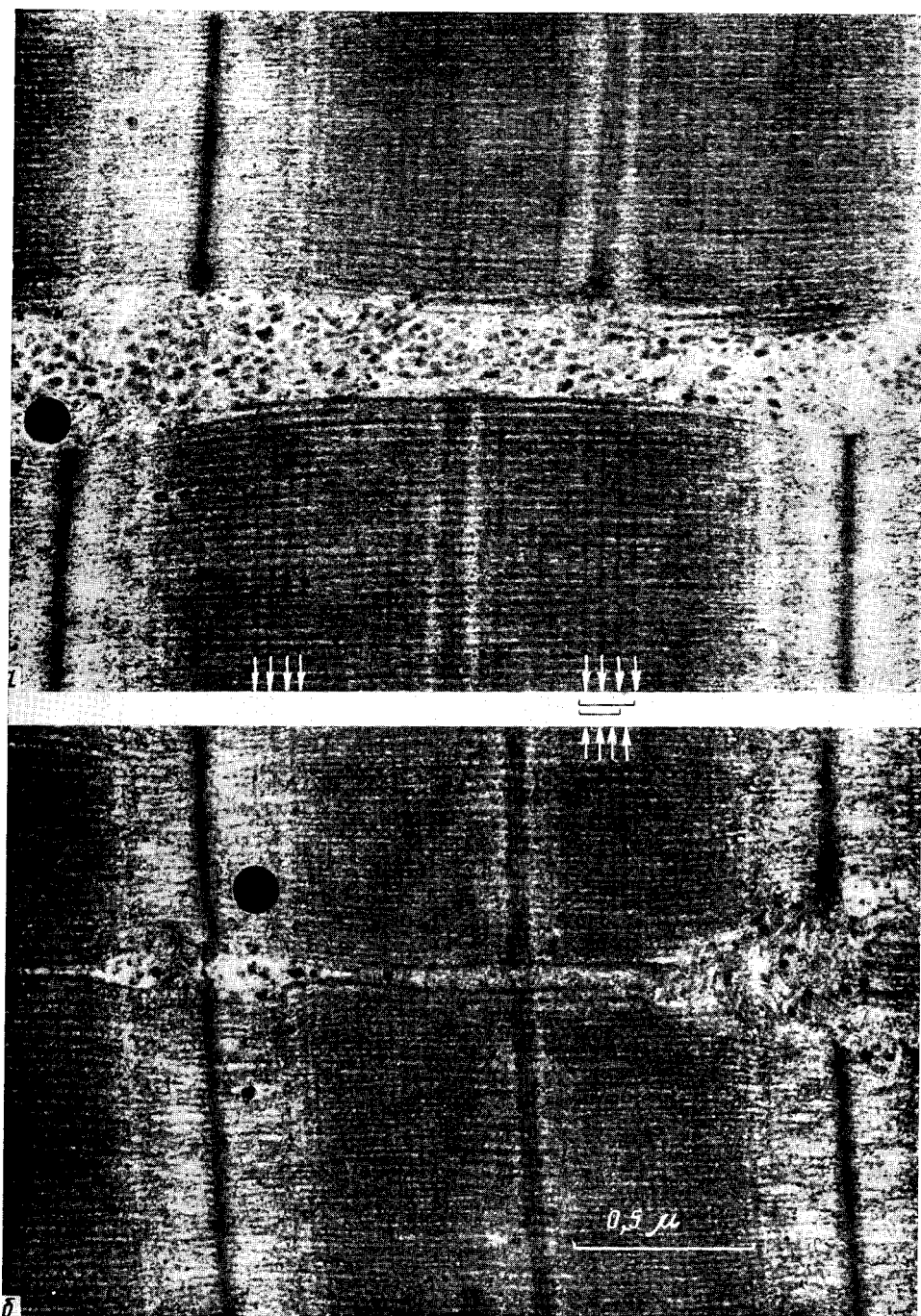


Рис. 1. Ацетилхолиновая контрактура денервированной мышцы лягушки. А — саркомер 2,3 μ с длиной А-диска, равной 1,6 μ ; размер аксиального периода равен 444 Å; Б — саркомер 1,85 μ с длиной А-диска, равной 1,3 μ ; размер периода 358 Å

ваются клетки спорогенного мицелия, которые впоследствии преобразуются в инициали телейтоспор (рис. 1*б*). В спорогенном мицелии, кроме монокарионов, есть также дикарионы (рис. 1*и*). Ядра таких дикарионов сближаются, причем в месте их соприкосновения происходит лизис оболочек (рис. 1*к*). Такого рода контакт ядер дикариона можно рассматривать как начальную стадию кариогамии. Ядра монокариотических клеток спорогенного мицелия примерно в 1,5—2 раза крупнее ядер вегетативного мицелия, ассоциированных в дикарионы. Увеличенный размер ядер может служить косвенным доказательством осуществления в этих клетках кариогамии. Не следует, однако, исключать возможности образования гаплоидных гомокариотических ветвей мицелия, образующихся в результате последовательных делений одного из гаплоидных ядер.

Вместе с тем двуядерные клетки сохраняются на протяжении дальнейшего развития гриба. При окраске по Фельгену наряду с одноядерными инициалами нередко выявляются двуядерные инициалы, а также двуядерные телейтоспоры, находящиеся на различных стадиях формирования (рис. 1*ж*). Двуядерные споры имеют размеры, превышающие размеры одноядерных спор. Двуядерность в спорах может иметь различное происхождение. В одних случаях (до совершения кариогамии) спора является гаплоидным гетерокариотическим дикарионом, в других случаях двуядерная спора — диплоидный гомокариотический дикарион, образовавшийся в результате митотического деления диплоидного ядра. Вероятно, у *U. maydis* в ходе цикла развития отсутствует фиксированное место и время осуществления кариогамии. Последняя может происходить в спорогенном мицелии, инициалах и спорах, но, по-видимому, чаще этот процесс совершается в спорогенном мицелии при слиянии оболочек гиф, т. е. в начальный период формирования соруса. Именно в этот срок развития возбудителя наблюдается наибольшее число одноядерных клеток с крупными ядрами.

Внутриклеточной мицелий патогена часто интеркалярно расчленяется на отдельные клетки — споридии (рис. 1*а*). Форма и размеры таких споридий аналогичны форме и размерам споридий, образующихся при выращивании гриба в культуре. Биологическое значение распада части вегетативного мицелия на споридии не ясно полностью. Споридии после своего высвобождения из тканей кукурузы могут явиться дополнительным инкулюмом. Споридии обычно имеют одно крупное ядро, в более редких случаях они содержат два ядра (рис. 1*г*).

В процессе внутриклеточного распространения гриба по тканям его мицелий неизменно вступает в непосредственный контакт с клеточными органеллами хозяина. Важным аспектом цитопатологии паразитизма является взаимоотношение ядра растения-хозяина с мицелием патогена. Причины осуществления контактов ядра с гифами в литературе объясняются по-разному. Наиболее распространены следующие точки зрения: 1. Ядро хозяина активно перемещается по направлению к внедряющейся гифе — это проявление защитной реакции растения-хозяина на клеточном уровне (однако в большинстве случаев нет объяснения конкретной роли ядра в защитной реакции клетки). 2. Активная роль в образовании контактов принадлежит гифам, которые как бы притягивают к себе ядро растения-хозяина, меняя при этом физиологические параметры инфицированной клетки в определенном направлении (в этих случаях перемещение ядра к гифе объясняется осмотическими явлениями). 3. Не ядро перемещается по направлению к гифе, а гифа — по направлению к ядру, т. е. гифа обладает положительным нуклеотропизмом. 4. Совмещение ядра и гифы определяется их взаимным хемотаксисом. 5. Контакт является результатом случайного совмещения ядра и гифы.

В нашей точке зрения, причины соприкосновения ядер с гифами неоднозначны. Не вызывает сомнения, в частности, нередко имеющий место случайный контакт мицелия с ядрами. Особенно часто это происходит

при разрастании агрегаций спорогенного мицелия, которые нарастают на ядра, нередко прижимая их к оболочкам клеток. Однако наблюдаемые нами неоднократные случаи смещения ядер к стенкам пораженных клеток в местах внедрения в них гиф все же свидетельствуют о том, что такие смещения могут быть и не случайными. Расстояние, проходимое ядром от центра клетки к ее периферии, составляет 40—60 μ .

Ядра инфицированных клеток, которые касаются гифы, часто имеют аномальное строение. Они гипертрофируются, вакуолизируются, меняют форму, приобретая лопастевидные, складчатые очертания, подвергаются частичному лизису или инвагируются. Число ядрышек в ядрах может увеличиваться до пяти. Ядрышки также гипертрофируются. Указанные отклонения морфологии ядер не являются прямым следствием тигмотропического эффекта со стороны гиф, так как аналогичные аномалии возникают у ядер и на значительном расстоянии от мицелия. Количество деформированных ядер в пораженных тканях последовательно возрастает в ходе инфекции, так что к моменту завершения формирования сорусов число неповрежденных ядер в паренхиме галлов невелико. Нами наблюдались все фазы митоза ядер в клетках, содержащих гифы (рис. 16). Гифы нередко касаются непосредственно нитей веретена, а также самих хромосом. Отмечены случаи вторжения гифы в делящееся ядро растения-хозяина. Полиплоидные ядра обычны в пораженной ткани.

Вызывает интерес оценка степени гипертрофии ядер и ядрышек кукурузы в зависимости от их расположения относительно гиф патогена. С этой целью производилось статистическое сравнение объемов ядер и ядрышек клеток кукурузы, содержащих мицелий, с объемом ядер и ядрышек клеток той же пораженной ткани, но свободной от мицелия. В обоих случаях не обнаружено статистически достоверного различия между величинами объемов ядер и ядрышек ($t = 0,93$ и $t' = 0,80$). На основании этого можно сделать вывод, что на степень гипертрофии ядер и ядрышек оказывает влияние не столько непосредственная близость от них мицелия гриба, сколько общий характер метаболизма всей пораженной ткани. Не установлено также корреляции между длиной внутриклеточных гиф и размерами ядер клеток, содержащих эти гифы ($r = +0,19$). Таким образом, масса внутриклеточного мицелия не коррелирует с размерами гипертрофии ядер инфицированных клеток. Вместе с тем, есть указание на высокую корреляцию между числом ядер плазмодия *Plasmodiophora brassicae* Wor., содержащихся в клетках растения-хозяина, и размерами ядер и ядрышек этих клеток ⁽⁴⁾. В последнем случае предполагается, что вещество, стимулирующее гипертрофию ядер, располагается в пределах инфицированной клетки и не распространяется за ее пределы к соседним клеткам. Относительно *U. maydis*, можно сказать, что стимулирующее действие, вызывающее гипертрофию ядер и исходящее от внутриклеточной гифы, не ограничивается пределами одной клетки, а распространяется на многие окружающие клетки.

Важным адаптивным образованием у грибов, обеспечивающим им возможности для паразитизма, являются гаустории. Сведения о наличии гаусторий у *U. maydis*, так же как и у других головневых грибов, крайне противоречивы. Одни авторы указывают на их наличие у этого вида ^(5, 6), другие же полагают, что они для него не характерны ⁽⁷⁾. Однако отмеченное противоречие — скорее противоречие этимологическое, а не по существу. Вопрос заключается в том, правомочно ли называть ветвящиеся внутриклеточные гифы гриба гаусториями, под которыми обычно понимают специализированные и видоизмененные ответвления вегетативных гиф, проникающие в живые клетки растения-хозяина и служащие для поглощения питательных веществ. Разветвленные внутриклеточные гифы *U. maydis*, строго говоря, не могут быть определены как гаустории, так как резкого различия между гифами, предназначенными для распространения по тканям, и гифами, несущими функцию питания, нет. Гаус-

ториенподобные ответвления мицелия *U. maydis*, обычно состоящие из дикариотических клеток, крайне разнообразны по форме: от булавовидных до коралловидных со множеством переходных форм (рис. 1а). Наиболее обильное их разветвление происходит в период формирования сорусов. Гомология гаусториенподобных ответвлений *U. maydis* и настоящих гаусториев очевидна: посредством тех и других увеличивается метаболически активная поверхность мицелия.

Ботанический институт им. В. Л. Комарова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
17 III 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ И. В. Каратыгин, ДАН, 183, № 6 (1968). ² И. В. Каратыгин, Микол. и фитопатол., № 3, 4 (1969). ³ Н. В. Мацкевич и др., В кн.: Экспериментальная полиплоидия в селекции растений, Новосибирск, 1966. ⁴ P. H. Williams, Phytopathol., 56, 8 (1966). ⁵ H. Guttenberg, Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen., Leipzig, 1905. ⁶ E. I. Butler, Fungi and Disease in Plants, Calcuta, 1918. ⁷ J. J. Christensen, Monogr. Am. Phytopathol. Soc., 2 (1963).