

Э. И. СЛЕПЯН, Г. С. ЛАНДСБЕРГ

**СОДЕРЖАНИЕ ДНК В ЯДРАХ ЭПИДЕРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК
ЛИСТЬЕВ ZEA MAYS L., ЗАРАЖЕННОЙ USTILAGO MAYDIS,
В СВЯЗИ С ВОПРОСОМ О РЕАКТИВНОСТИ ЭПИДЕРМЫ**

(Представлено академиком Е. М. Лавренко 31 I 1972)

Реактивность — один из наиболее показательных признаков клеток и тканей, свидетельствующих об их устойчивости при различного рода повреждающих воздействиях и о возможных их преобразованиях при тех или иных патологических ситуациях. С реактивностью связаны репаративные потенции клеток и тканей, их способность противостоять заражению и сохранять гомеостатический режим функционирования. Большой интерес имеет исследование сравнительной реактивности клеток и тканей, принадлежащих к различным морфофункциональным типам. Оно необходимо для установления механизмов обеспечения надежности в строении и индивидуальном развитии растений, а также для определения соотносительной роли клеток и тканей при патологии, в том числе при онкогенезе и тератогенезе.

К тканям, представляющим в этом отношении первостепенный интерес, принадлежит эпидерма — пограничное образование, через которое осуществляется взаимодействие внутренних структур организма с внешней средой. Выполнение пограничной функции требует от эпидермы как высокой надежности и устойчивости, так и значительной реактивности и лабильности, проявление которых тесно взаимосвязано.

Реактивность эпидермы и большинства других тканей растений, за исключением меристематических, уменьшается с увеличением индивидуального возраста растения и органа, которым эпидерма принадлежит. В наибольшей мере реактивность проявляется у эпидермы в начале ее формирования и морфофункциональной специализации в те сроки, когда устьичные аппараты еще не полностью дифференцированы и среди эпидермальных клеток отсутствуют опробковевшие и кремневые клетки, претерпевшие физиологическую энуклеацию и отмирание цитоплазмы. Об этом свидетельствует тот факт, что в отличие от начавших дифференцироваться клеток полностью дифференцированные клетки эпидермы в большинстве своем не могут претерпевать реактивного деления и способны лишь к некоторому механическому растяжению, пределы которого определены прочностью кутикулы, клеточных оболочек и срединных пластинок. Вместе с тем в начальные сроки формирования эпидермы реактивность ее как структурно обособленной ткани, а также и отдельных ее клеток значительна. На это указывает способность групп эпидермальных клеток давать начало меристематическим очагам, которые образуют далее листовые примордии, вегетативные побеги, а также корни. Это установлено у представителей *Begonia*, *Torenia*, *Drosera*, *Crassula*, *Saintpaulia*, *Linum* и многих других высших растений.

Наряду со способностью к образованию раневых меристем реактивность эпидермальных клеток имеет и другое, следующее выражение:

I. Некроз, наблюдаемый, в частности, у межвидовых гибридов *Nicotiana* и у *Zea mays* L., зараженных соответственно *Peronospora tabacina* Adam. и *Ustilago maydis* (DC.) Cda. (¹, ²).

II. Уплотнение оболочек эпидермальных клеток при нарушении нормального развития органа в процессе галлогенеза и под влиянием аппрес-

сорнев гриба, имеющее место, например, при образовании стеблевых галлов у *Cacalia hastata* L., пораженной *Paratephritis transitoria* Rohd., и при заражении *Lespedeza stipulacea* Maxim. и *Lespedeza striata* (Thunb.) Hook. and Arn. грибом *Phyllachora lespedezae* (Schw.) Sacc. ⁽³⁾.

III. Формирование цитоплазмы вокруг вегетативных гиф так называемых лигнитуберов, как это происходит, например, при заражении coleoptиле пшеницы грибом *Ophibolus graminis* Sacc. ⁽⁴⁾.

IV. Изменение сродства к красителям, выявляющееся у *Trifolium pratense* L., зараженного *Erysiphe polygoni* DC. ⁽⁵⁾.

V. Различного рода изменения ядер. Последние выражаются в росте их размеров при механическом травмировании, в увеличении или же, напротив, в уменьшении их сухой массы под влиянием фитопатогенных грибов, в увеличении их размеров в клетках зоны заражения свободных от гиф и в уменьшении их и содержания в них ДНК в клетках с гифами, например в клетках эпидермы *Allium*, *Arisaema dracontium* (L.) Schott. и *Podophyllum peltatum* L., зараженных соответственно *Botrytis allii* Munn., *Uromyces ari-tryphilli* (Schw.) Seeler и *Puccinia podophylli* Schw. ⁽⁶⁻⁸⁾.

Таким образом, одним из проявлений реактивности эпидермы оказывается изменение количества ДНК в ядрах ее клеток. Уменьшение его при микозах, имеющих очевидный гипобиотический характер, ставит вопрос о характере его изменений при тех микозах, которые сопровождаются продуктивными процессами, и в первую очередь пролиферацией, а также гипертрофией эпидермальных клеток. Интерес к этому вопросу оправдан и тем, что одним из признаков патологического роста, и в особенности онкогенеза, как у растительных, так и у животных организмов оказывается увеличение содержания ДНК в ядрах.

Нами было осуществлено исследование содержания ДНК в ядрах клеток эпидермы листовых галлов, возникающих при пузырчатой головне у *Zea mays* L., зараженной *Ustilago maydis* (DC.) Cda.

Это инфекционное заболевание сопровождается интенсивной пролиферацией паренхимы, локальное увеличение массы которой может происходить лишь в связи с тем, что ему не препятствует эпидерма, клетки которой также переходят к реактивному делению, а затем гипертрофируются. Изучение реактивности эпидермальных клеток *Zea mays* L., как представителя Роасеае, по изменению в их ядрах содержания ДНК имеет и самостоятельный интерес. Наличие клеток многих морфофункциональных типов в эпидерме Роасеае придает последней значение удобной модели для выяснения многих вопросов морфологии развития и генетики. У Роасеае наблюдается высокая частота амфилоидии, в эпидерме пыльников ржи нормальной является тетраплоидность ядер, а у *Zea mays* L. тетраплоидизация может быть легко экспериментально индуцирована.

Нормальная эпидерма Роасеае, в том числе и *Zea mays* L., характеризуется глубокой дифференциацией ⁽⁹⁾. Эпидерма *Zea mays* L., принадлежащая к паникоидному типу, помимо устьичных и экзодермальных клеток включает в себя клетки еще пяти морфофункциональных типов: кремневые, опробковевшие, моторные и основные — прямостенные и волнистостенные клетки. Как было отмечено ⁽⁹⁾, клетки лишь некоторых типов, и в первую очередь основные клетки, способны реагировать на воздействие ауксинов. Этот вывод подтверждается и особенностями патологического преобразования эпидермы *Zea mays* L., возникающими при пузырчатой головне. В том случае, если эпидерма была инфицирована *Ustilago maydis* (DC.) Cda. до отмирания протопласта опробковевающих и кремневых клеток, эти клетки также вовлекаются в патологический процесс. Если же дифференциация опробковевающих и кремневых клеток ко времени заражения эпидермы *Ustilago maydis* (DC.) Cda. была окончена, то в патологическом преобразовании принимают участие лишь основные клетки эпидермы, в которых сохраняется функционирующий протопласт и после окончания дифференциации. Патологические преобразования этих

клеток, отражающие их активные возможности, заключаются в нарушении нормальной конфигурации и взаимной ориентации, в уплотнении, искривлении, растяжении и гипертрофии, а также в реактивном делении.

Все упомянутые преобразования обычно сопровождаются и реактивной гипертрофией ядер, являющейся одним из характерных признаков неопластических клеток. Причиной реактивной гипертрофии ядер может быть гидратация, увеличение в них содержания солей, ядерных белков, но, что наиболее существенно, увеличение в них содержания ДНК.

Сопоставление сведений по карпологии *Zea mays* L. свидетельствует о том, что реактивные изменения объема ядер этого растения и содержания в них хромосом и ДНК этнологически неспецифичны. Увеличение ядер и числа хромосом может быть индуцировано у *Zea mays* L. этилмеркурийфосфатом ⁽¹⁰⁾ и колхицином ⁽¹¹⁾. Уменьшение содержания ДНК наблюдается при воздействии трифлуралина ⁽¹²⁾. Гипертрофия ядер наблюдается при инфекции *Rustia sorghi* Schw. ⁽¹³⁾,

уменьшение их размеров происходит при понижении температуры ⁽¹⁴⁾ и т. д. В то же время есть сведения, что объем ядер в меристематических клетках *Zea mays* L. — генотипический признак ⁽¹⁵⁾. У тетраплоидной кукурузы объем ядер в 1,99 раза больше, чем у диплоидной, причем число хромосом оказывает влияние и на линейные размеры эпидермальных клеток ⁽¹⁶⁾. В тканях *Zea mays* L. некоторых морфофункциональных типов есть клетки с ядрами различных классов плоидности — от 4С до 32С ⁽¹⁷⁾. Увеличение размеров ядер у *Zea mays* L. происходит замедленно по сравнению с увеличением размеров клеток. Есть указания, что в меристеме, в частности апекса корней, обнаруживаются покоящиеся клетки, синтез ДНК в ядрах которых не выявляется. Содержание нуклеиновых кислот в целом меняется в органах *Zea mays* L. в различные сроки ее жизненного цикла. Наиболее активный их синтез осуществляется при прорастании, причем содержание ДНК при некоторых повреждающих воздействиях, по-видимому, более устойчиво, чем содержание РНК ⁽¹⁸⁾.

Изложенное выше свидетельствует о значительной реактивности клеток и тканей *Zea mays* L. и оправдывает целесообразность определения соотношения гипертрофии ядер ее эпидермы при пузырчатой головне с изменением в них содержания ДНК. Было установлено *, что в результате

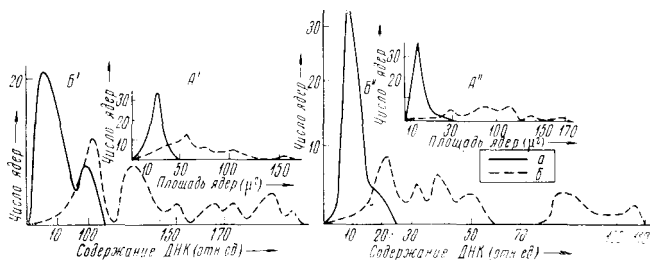


Рис. 1. Изменение площади ядер (А) и содержания в них ДНК в *Zea mays* L.: а — непораженная эпидерма листовых пластинок; б — эпидерма гомологичных участков листовых пластинок, преобразованных *Ustilago maydis* (DC.) Cda. в галл. А', Б' — плоскостные препараты; А'', Б'' — препараты продольных разрезов; длина листовой пластинки 5 мм

* Объектом исследования явились интерфазные ядра клеток эпидермы листовых галлов одиночнобугристой формы пузырчатой головни, вызываемой *Ustilago maydis* (DC.) Cda. у *Zea mays* L., интерфазные ядра клеток эпидермы начинающих рост непораженных листьев *Zea mays* L., интерфазные ядра клеток эпидермы участков непораженных сформированных листьев, гомологичных пораженным. Галлы, эпидерма которых исследовалась, находились на галломорфном этапе развития. Были изучены как плоскостные препараты эпидермы, так и препараты ее срезов толщиной 15 м. Исследуемые образцы были фиксированы в смеси этилового спирта и уксусной кислоты в соотношении 3:1 и окрашены по Фельгену реактивом Шиффа, изготовленным по прописи Е. Н. Хачатурова-Таверзия при гидролизе в 1 N HCl при 60° в течение 9 мин. Время гидролиза подбиралось эмпирически. Препараты были фотометрированы на приборе МУФ-5 с интегрирующей приставкой МИУ-2. Количество ДНК было определено в относительных единицах произведением оптической плотности на площадь ядра. Площади ядер измерялись планиметром ПП-2 по рисункам, выполненным при помощи прибора РА-4.

галлогенеза происходит значительное увеличение содержания ДНК в ядрах эпидермальных клеток, которое в среднем в 3—4 раза превышает содержание ДНК в ядрах как клеток эпидермы листьев в начале их развития, так и неповрежденной эпидермы сформированных листьев (табл. 1).

Таблица 1

Объекты	n	Колич. ДНК в ядрах, отн. ед.			Площадь оптич. сеч. ядер, μ^2		
		$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	σ	C, %	$x \pm S_{\bar{x}}$	σ	C, %
Продольный разрез							
Эпидерма галла	60	14,77 $\pm$ 1,21	9,26	62,69	75,52 $\pm$ 5,00	35,03	46,38
Эпидерма незараженного листа длиной 5 см	49	3,23 $\pm$ 0,14	0,99	30,65	24,34 $\pm$ 0,81	5,85	24,00
Плоскостной препарат							
Эпидерма галла	50	10,89 $\pm$ 0,84	5,94	54,55	86,68 $\pm$ 4,69	33,18	38,30
Эпидерма незараженного листа	55	3,23 $\pm$ 0,22	1,63	50,46	23,36 $\pm$ 0,22	1,72	7,40

Увеличение содержания ДНК взвизмосвязано с патологической гипертрофией ядер (рис. 1). Размеры ядер в эпидерме галлов превышают размеры ядер в неповрежденной эпидерме в среднем втрое. Совпадение роста содержания ДНК в ядрах эпидермальных клеток и размеров этих ядер при галлогенезе позволяет сделать заключение, что основной причиной отмеченной ядерной гипертрофии следует считать, скорее всего, патологически обусловленную реактивную полиплоидизацию, но не гидратацию карิโอплазмы и повышение количества солей и ядерных белков. Сравнение относительного содержания ДНК в нормальных диплоидных и в патологически гипертрофированных ядрах и сопоставление относительных размеров этих ядер приводят к выводу, что при пузырчатой головне в пораженной эпидерме возникают клетки с числом наборов хромосом, увеличенным до 10—15 раз. Важно отметить, что коэффициент вариации содержания ДНК в ядрах клеток в эпидерме галлов выше, чем соответствующий коэффициент вариации в ядрах клеток неповрежденной эпидермы. Анализ показал, далее, что изменчивость ядер по содержанию ДНК становится большей в процессе роста и дифференциации эпидермальных клеток. Таким образом, одним из патогномичных признаков пузырчатой головни кукурузы как особой патологической формы оказывается реактивное увеличение объема ядер эпидермальных клеток и содержания в этих ядрах ДНК.

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

Поступило
20 I 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ C. J. Shepherd, M. Mahdryk, Austr. J. Biol. Sci., **20**, 1, 87 (1967). ² Э. И. Слепян, И. В. Каратыгин, ДАН, **178**, № 5, 1212 (1968). ³ J. H. López-Rosa, R. T. Sherwood, Phytopathology, **56**, 10, 1136 (1966). ⁴ H. Fellows, J. Agric. Res., **37**, 11, 647 (1928). ⁵ P. C. Leong, W. E. McKeen, S. Smith, Phytopathology, **60**, 4, 681 (1970). ⁶ G. Ritter, Zs. Bot., **3**, 1 (1911). ⁷ F. B. Kulbinski, A. J. Pappelis, Phytopathology, **61**, 2, 237 (1971). ⁸ F. B. Kulbinski, A. J. Pappelis, Phytopathology, **61**, 6, 724 (1971). ⁹ H. Prat, Ann. Missouri bot. gard., **35**, 4, 341 (1948). ¹⁰ J. E. Sassi, Phytopathology, **27**, 1, 95 (1937). ¹¹ J. E. Sassi, K. M. Green, The bot. gas., **106**, 4, 483 (1945). ¹² D. P. Schultz, H. H. Funderburk, Plant. physiol., **42**, Suppl., 50 (1967). ¹³ H. M. Hilu, Phytopathology, **55**, 5, 563 (1965). ¹⁴ O. Hartmann, Arch. Zellforsch., **15**, 177 (1919). ¹⁵ E. A. Bindloss, Am. J. Bot., **24**, 10, Suppl., 730 (1937). ¹⁶ L. F. Randolph, E. C. Abbe, J. Einset, J. Agric. Res., **69**, 2, 47 (1944). ¹⁷ H. Swift, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., **36**, 11, 643 (1950). ¹⁸ А. Ф. Агафонова, В кн.: Биология нуклеинового обмена у растений, «Наука», 1964, стр. 158.