

Л. Н. АНДРЕЕВ, В. В. МАЗИН, Л. С. ШАШКОВА

О РОСТЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ
(*PUSSINIA GRAMINIS* F. SP. TRITICI)
В САПРОФИТНЫХ УСЛОВИЯХ

(Представлено академиком Н. В. Цициным 28 III 1972)

До недавнего времени было широко распространено представление о невозможности получить аксеничную культуру так называемых облигатных паразитов и, в частности, грибов из порядка Uredinales, считавшихся типичными представителями этой группы паразитических организмов (^{1, 2}). Попытки культивировать ржавчинные грибы из родов *Puccinia* (³⁻⁵), *Uromyces* (⁶) и других в силу ряда причин дали невоспроизводимые результаты.

Только в последние годы австралийским исследователям (^{7, 8}) впервые удалось вырастить расу 126-ANZ-6 возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы (*Puccinia graminis* (Pers.) f. sp. tritici (Eriks. et E. Henn.)) в аксеничной культуре. Эти исследования затем были продолжены, и возможность выращивания указанной расы гриба *P. graminis* f. sp. tritici и некоторых других была подтверждена работами ученых в США и Канаде (^{9, 10}). В 1971 г. нами также было опубликовано сообщение об успешном выращивании расы 21 возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы (¹¹).

Работа по культивированию ржавчинных грибов состоит из двух этапов: получение уредоспор возбудителя в асептических условиях и культивирование из них возбудителя на искусственной питательной среде.

Для получения уредоспор патогена в условиях асептики выращиваются 7–10-дневные растения пшеницы восприимчивого сорта (в наших опытах сорт Краснозерная), которые заражаются уредоспорами возбудителя. Через 5–7 дней отрезки зараженных листьев длиной 4–5 см отчленяются от растения, стерилизуются с поверхности и помещаются на агаризованную питательную среду, содержащую (^{7, 12}) или не содержащую (¹¹) кокосовое молоко. Через 5–7 дней на отрезках листьев в культуре образуются уредопустулы с большим количеством уредоспор.

Посев уредоспор на питательную среду производился в асептических условиях с одного отрезка листа, содержащего несколько уредопустул, в отдельную чашку Петри, диаметром 5; 6 или 7 см. Следует отметить, что разные расы стеблевой ржавчины различаются по способности расти на искусственной питательной среде. Уредо- или телейтоспороношение наблюдается лишь у некоторых рас, растущих сапрофитно (^{8, 13}). В наших опытах по культивированию расы 21 возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы не наблюдалось образования уредо- или телейтоспороношения. Результаты посева и характер роста возбудителя бывают весьма изменчивы (^{14, 15}). Изменчивость характера вегетативного роста возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы в культуре еще не нашла своего объяснения. Однако она, видимо, связана с недостаточностью наших знаний о пищевых потребностях возбудителя, выращиваемого в условиях аксеничной культуры.

При культивировании 21 расы возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы в наших опытах мы различали следующие градации вегетативного роста патогена: I — прорастание 90% и более уредоспор, образующих вет-

вящиеся, плотно переплетенные гифы, очень обильный воздушный мицелий, который хорошо поддается визуальной оценке (колонии достигают нескольких миллиметров в диаметре) (рис. 1а); II — прорастание более 50% уредоспор, образующих ветвящиеся гифы, обильный воздушный мицелий поддается визуальной оценке (рис. 1б); III — прорастание менее 50% уредоспор, образующих слабо ветвящиеся гифы, мицелий обнаруживается визуально (рис. 1в); IV — прорастание единичных уредоспор, образование отдельных неветвящихся гиф; V — полное отсутствие роста.

В зависимости от состава питательной среды рост возбудителя имеет ту или иную характеристику, относящуюся к большинству образующихся колоний, хотя в некоторых случаях можно было наблюдать все или большинство отмеченных нами типов роста.

Колонии гриба хорошо росли на среде, содержащей глюкозу (2%), пептон (0,5%), агар (1,5%) и минеральные соли по Чапеку⁽¹⁶⁾. Добавление к среде 0,3% цитрата натрия⁽¹⁴⁾ не вызывало улучшения роста гриба. В наших опытах рост возбудителя на среде с глюкозой и пептоном был лучше, чем на среде с сахарозой (2%) и дрожжевым экстрактом (0,1%). Среда, содержащая глюкозу, пептон и минеральные соли по Чапеку, была использована в дальнейших опытах как основная питательная среда, с ростом на которой сравнивался рост на других питательных средах. Обычно рост возбудителя без пересева на основной питательной среде продолжался до 90 дней и более, после чего часто наблюдался автолиз гриба.

Рост возбудителя наблюдался на основной питательной среде без глюкозы, но в этом случае образовывались колонии гриба, состоящие из более коротких и извитых гиф. Рост гриба продолжался около 40 дней. На среде, содержащей вместо глюкозы растворимый крахмал (2%), наблюдалось образование таких же колоний гриба. Рост продолжался около 60 дней. Раствором Люголя на агаризованной питательной среде выявлялись светлые зоны вокруг колоний ржавчины, что свидетельствовало о гидролизе крахмала под влиянием экзогенной амилазы гриба (рис. 1г).

Роль экзоферментов ржавчинных грибов еще не выяснена. Однако более слабый и менее продолжительный рост возбудителя на среде с крахмалом по сравнению с ростом на среде с глюкозой или сахарозой, по-видимому, свидетельствует о значении экзогенной амилазы лишь в условиях сапрофитного питания при отсутствии в ней моно- и олигосахаридов. По вопросу о роли экзогенных ферментов у фитопатогенных грибов мы придерживаемся точки зрения К. Т. Сухорукова⁽¹⁷⁾, согласно которой для усвоения питательных веществ паразитом выделяемые им ферменты, видимо, не имеют значения. Паразитарные организмы в своем питании приспособлены к обмену веществ растения и «обслуживаются» его же ферментной системой.

В публикациях разных авторов, которые выращивали ржавчинные грибы на искусственной питательной среде, указывается на введение в состав питательной среды веществ, представляющих собой сложные смеси продуктов гидролиза дрожжевых клеток (дрожжевой экстракт) или тканей животных (пептон)^(7, 9, 10, 14). В наших опытах была отмечена способность возбудителя стеблевой ржавчины расти на среде, целиком состоящей из веществ определенного химического строения. Этот факт был отмечен при культивировании зараженных отрезков листьев на агаризованной питательной среде⁽¹⁴⁾. В этом случае уредоспоры возбудителя обычно не прорастали на поверхности указанной среды (наблюдения 1969, 1970 гг.). Однако в 1971 г. обратило на себя внимание обильное прорастание и образование колоний, растущих сапрофитно на поверхности агаризованной питательной среды. Последующие посевы на такую агаризованную и жидкую среду дали хорошие результаты. Мы склонны объяснить появление способности к росту на указанной среде результатом сальтации или мутации, которые возникают при длительном размножении ржавчин-

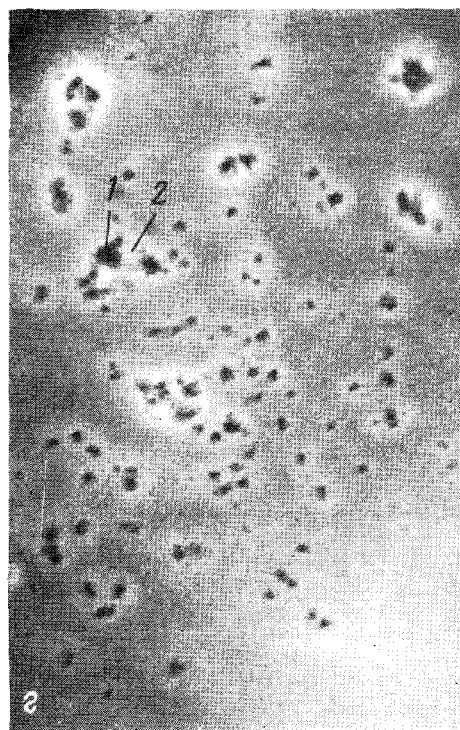
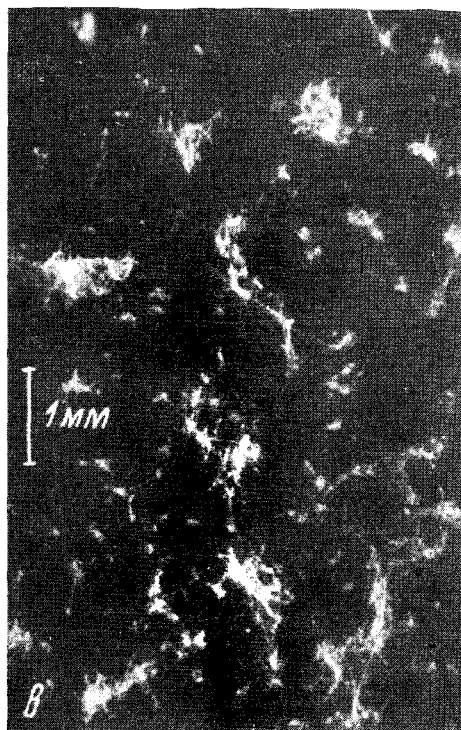
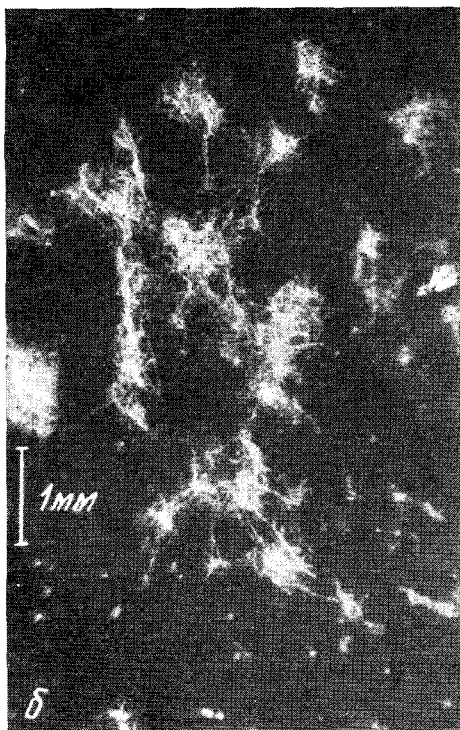
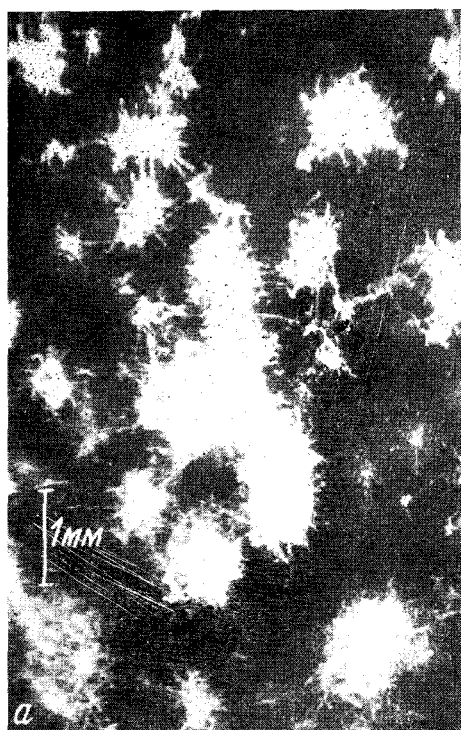


Рис. 1. а, б, в — разные градации вегетативного роста *P. graminis* f. sp. tritici, раса 21, на искусственной питательной среде, соответствует I, II, III; г — гидролиз крахмала вокруг колоний *P. graminis* f. sp. tritici, раса 21. 1 — колония гриба; 2 — зона гидролиза крахмала вокруг грибной колонии

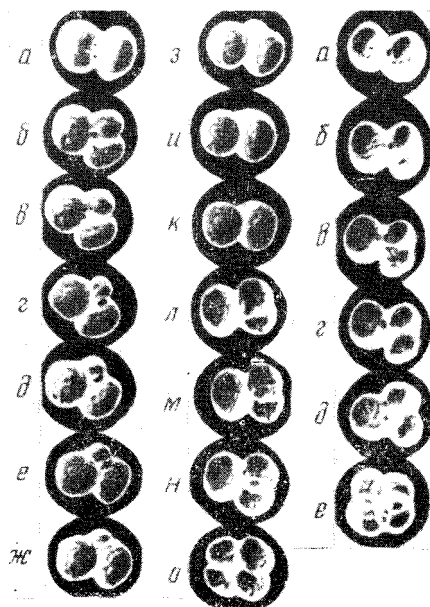


Рис. 1. Спонтанное слияние бластомеров со стадии 3 клеток. Временные интервалы между стадиями, обозначенными на рисунке буквами а, б, в, г, д, е, ж, з, и, к, л, м, н, о, равны соответственно: 3 час. 42 мин.; 4 час.; 4 часа 32 мин.; 4 час. 46 мин.; 4 час. 50 мин.; 4 час. 58 мин.; 5 час.; 5 час. 2 мин.; 5 час. 8 мин.; 15 час. 18 мин.; 15 час. 20 мин.; 15 час. 24 мин.; 16 час. Между стадиями обозначенными буквами а', б', в', г', д', е' (клетка без спонтанного слияния бластомеров), временные интервалы равны соответственно: 2 час. 30 мин.; 2 час. 32 мин.; 2 час. 34 мин.; 2 час. 58 мин.; 6 час. 6 мин.

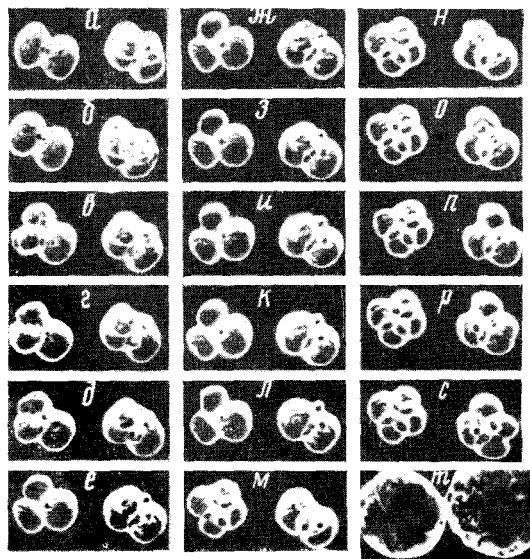


Рис. 2. Спонтанное слияние бластомеров со стадии 4 клеток. Временные интервалы между стадиями, обозначенными на рисунке буквами а, б, в, г, д, е, ж, з, и, к, л, м, н, о, п, р, с, т, равны соответственно: 0 час. 14 мин.; 1 часу 12 мин.; 1 часу 14 мин.; 1 часу 16 мин.; 1 часу 26 мин.; 1 часу 28 мин.; 1 часу 46 мин.; 1 часу 48 мин.; 1 часу 52 мин.; 2 час. 14 мин.; 10 час. 6 мин.; 10 час. 8 мин.; 10 час. 12 мин.; 10 час. 24 мин.; 10 час. 32 мин.; 10 час. 36 мин.; 79 час. 16 мин. Клетка, не претерпевшая спонтанного слияния, находится слева в каждом кадре

ных грибов с помощью только уредоспор (¹⁸). По-видимому, не все компоненты данной питательной среды одинаково необходимы для сапрофитного роста возбудителя ржавчины, что и будет выяснено дальнейшими исследованиями в этом направлении.

Главный ботанический сад
Академии наук СССР
Москва

Поступило
28 VI 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. W. Brian, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B, 168, 101 (1967). ² C. E. Yarrow, Ann. Rev. Plant. Physiol., 18, 419 (1967). ³ А. П. Гречушников, ДАН, 2, № 8 (1936). ⁴ К. Т. Сухоруков. В сборн. Ржавчина хлебных злаков. М., 1939. ⁵ V. M. Jr. Cutter, Bull. Assoc. Southern Biol., 7, 26 (Abstr.) (1960). ⁶ V. M. Jr. Cutter, Mycologia, 52, 726 (1960). ⁷ P. G. Williams, K. J. Scott, J. L. Kuhl, Phytopathology, 56, 1418 (1966). ⁸ P. G. Williams, K. J. Scott et al., Phytopathology, 57, 326 (1967). ⁹ W. R. Bushnell, Phytopathology, 58, 526 (1968). ¹⁰ M. D. Coffey, A. Bose, M. Shaw, Canad. J. Bot., 47, 8, 1291 (1969). ¹¹ В. В. Мазин, Л. Н. Андреев, Микол. и фитопатол., 5, 2, 197 (1971). ¹² F. L. M. Turel, G. A. Ledingham, Canad. J. Microbiol., 3, 813 (1957). ¹³ K. J. Scott, D. J. Maclean, Ann. Rev. Phytopathol., 7, 123 (1969). ¹⁴ J. L. Kuhl, D. J. Maclean et al., Canad. J. Bot., 49, 2, 201 (1971). ¹⁵ D. J. Maclean, K. J. Scott, J. Gen. Microbiol., 64, 19 (1970). ¹⁶ P. G. Williams, Phytopathology, 61, 8, 994 (1971). ¹⁷ К. Т. Сухоруков, Физиология иммунитета растений. М., 1952. ¹⁸ Л. И. Курсанов, Микология, М., 1940.