

УДК 632.651 : 632.071 : 633.34

© 1990

С. А. Субботин

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ
В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ *GLYCINE MAX* (FABACEAE)
ПРИ ПОРАЖЕНИИ ЦИСТООБРАЗУЮЩЕЙ
И ГАЛЛОВОЙ НЕМАТОДАМИ

S. A. SUBBOTIN. ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN CELLS OF ROOTS
OF *GLYCINE MAX* (FABACEAE) INFECTED WITH CYST
AND ROOT-KNOT NEMATODES

Проведено изучение ультраструктурных изменений в клетках корней восприимчивых и устойчивых растений *Glycine max* в процессе паразитирования в них цистообразующей и галловой нематод. Показаны количественные и качественные различия в строении модифицированных клеток, выполняющих роль трофических посредников между нематодой и растением. Рассмотрены принципы эволюции модифицированных клеток.

Цистообразующие и галловые нематоды относятся к группе седентарных фитопаразитических нематод, которые, паразитируя в корнях растений, индуцируют образование так называемых питающих модифицированных клеток, выполняющих роль трофических посредников между нематодой и растением. Известно, что цистообразующие нематоды индуцируют в корнях формирование синцитиев — многоклеточных образований, возникающих в результате частичного лизиса клеточных стенок и слияния протопластов соседних клеток, а галловые нематоды — ценоцитов, сильно гипертрофированных многоядерных клеток, формирующихся в результате повторного митоза без цитокинеза (Jones, 1984; Субботин, 1986).

Гистологические и цитологические изменения в корнях сои при поражении цистообразующей и галловыми нематодами подробно исследовали многие авторы (Dropkin, Nelson, 1960; Endo, 1964, 1965, 1978; Gipson et al., 1969, 1974; Riggs et al., 1973; Jones, Dropkin, 1975; Acedo et al., 1984; Kim et al., 1986, 1987), однако количественные и качественные изменения в строении модифицированных клеток, происходящие в процессе развития нематод, а также сравнительная ультраструктура модифицированных клеток, индуцированных различными нематодами, в корнях сои не изучались. Такие исследования позволяют установить закономерности формирования и функционирования модифицированных клеток и развития паразито-хозяйственных отношений. В задачу настоящей работы входило сравнительное изучение и анализ цитологических изменений, возникающих в корнях различных по устойчивости сортах сои при паразитировании цистообразующей и галловой нематодами.

Материал и методы

Проростки растений сои *Glycine max* (L.) Merr., различные по устойчивости к цистообразующей нематоды (сорт ВНИИС-1 — восприимчивый и линия

PI 90763 — высокоустойчивая), высаживали в горшки и заражали суспензией личинок и яиц цистообразующей нематоды *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952 и галловой нематоды *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. Инвазионные нагрузки соответственно составляли в среднем 1500 и 10 000 личинок и яиц на 100 см³ почвы. Корни растений, зараженные цистообразующей нематодой, изучали через 8, 12, 21 и 32 дня, а галловой — через 21 и 32 дня после внесения инокулума. Растения выращивали в вегетационном домике при искусственном освещении лампами дневного света в течение 16 ч, освещенности 4000 лк и средней температуре 21—24 °С. В каждый срок анализировали корневые системы 6 зараженных и 3 незараженных растений. Корни растений фиксировали 2.5 %-ным раствором глутаральдегида на 0.1 М фосфатном буфере (рН=7.2) и затем 1 %-ным раствором четырехоксида осмия. Дальнейшую обработку материала для световой и электронной микроскопии проводили по ранее описанным методикам (Субботин, Чижев, 1986). Относительные площади оргanelл модифицированных клеток определяли на каждой стадии развития нематоды по 40 фотографиям с помощью квадратной сетки (Автандилов и др., 1984). Срезы корней просматривали и фотографировали на световом микроскопе МБИ-15-2 и электронном трансмиссионном микроскопе Tesla BS-500.

Результаты и обсуждение

Личинки второго возраста цистообразующей нематоды начинали внедряться в корни восприимчивых и высокоустойчивых растений сои примерно через 5 дней после внесения инокулума в почву. Нематоды внедрялись по всей длине корня восприимчивого сорта сои ВНИИС-1 во все его зоны. Продвигаясь внутриклеточно, они вызывали разрушение стенок и гибель протопласта клеток. Наиболее интенсивные процессы разрушения происходили при миграции нематоды через дифференцирующиеся клетки первичной коры в зоне роста и растяжения корня. Цитоплазма этих клеток становилась электронно-плотной, из нее исчезали мембранные элементы, органеллы разрушались. Содержимое вакуолей сливалось с гиалоплазмой. Зерна крахмала, ранее заключенные в пластидах, в результате деградации последних высвобождались. Ядра уменьшались в размерах, в них происходила конденсация хроматина. Основное содержимое некротизированных клеток было представлено темным хлопьевидным веществом, неравномерно распределенным по всему объему клетки. Аналогичным образом на воздействие со стороны движущейся нематоды реагировали клетки коры в других, лежащих выше, зонах корня, однако эти изменения были выражены слабее. Стенки клеток, соприкасающиеся с некротизированными клетками, были неравномерно утолщены. Плазмалемма в этих местах отступала от стенок, и в образовавшихся выпячиваниях между стенкой и плазмалеммой располагались фибриллярные элементы. Таким образом, при проникновении и миграции личинок нематод в корнях происходили неспецифические патологические изменения, обусловленные механическим воздействием паразита на прилегающие клетки и ткани и ответными реакциями клеток на эти повреждения.

Мигрируя в коре корня на расстояние 1—3 мм, нематода останавливалась и индуцировала образование синцития. Просинцитиальная клетка, из которой начиналось питание, формировалась из клеток перицикла или эндодермы. В синцитий вовлекались клетки коры, перицикла и паренхимные клетки ксилемы и флоэмы. От просинцитиальной клетки лизис стенок распространялся к центру и вдоль корня. Формирующийся синцитий ограничивали лучевидные выступы ксилемы. Если нематода индуцировала образование синцития в протофлоэмной части корня, то на поперечных срезах он имел обычно овальную форму, а если в протоксилемной, то синцитий располагался вдоль луча ксилемы и имел рассеченную форму. Личинки второго возраста питались из син-

цитиев, имевших в среднем размеры $59 \times 63 \times 150$ мкм (табл. I, 1). Синцитиальные клетки имели гипертрофированные амебодные ядра с увеличенными ядрышками, содержали большое количество цитоплазмы с плотной гиалоплазмой (табл. I, 2). В цитоплазме располагались многочисленные митохондрии и пластиды, имеющие большие размеры, чем в паренхимных клетках центрального цилиндра корней здоровых растений (см. таблицу). Митохондрии имели в основном овальную, округлую и реже разветвленную, нитевидную формы. Последние были характерны только для начальной стадии формирования синцития. Для паренхимных клеток центрального цилиндра здоровых корней были характерны митохондрии овальной и округлой форм. Пластиды синцитиальных клеток имели плотный матрикс, многие содержали крахмальные зерна. В процессе функционирования синцития происходило увеличение количества пластид с крахмальными зернами, а также увеличение размеров и количества крахмальных зерен в этих органеллах. В цитоплазме встречались пластиды с инвагинациями. Органеллы такой формы не обнаружили в паренхимных клетках здоровых корней сои. Пластиды и митохондрии в основном располагались вдоль клеточных стенок. Такое распределение этих органелл было характерно для всех стадий функционирования синцития. В синцитиальных клетках располагалось большое количество мембран эндоплазматического ретикула (ЭР) и аппарата Гольджи. ЭР был представлен агрегулярной и гранулярной формами в виде скопления пузырьков, трубочек и фрагментированных цистерн. Мембраны ретикула неравномерно покрывали рибосомы, последние также свободно располагались и в гиалоплазме.

Возрастание количества цитоплазмы в синцитиальных клетках было сопряжено с фрагментацией центральной вакуоли, характерной для паренхимных клеток корня и

Изменение относительных площадей и размеров компонентов модифицированных клеток в процессе развития цистобразующей и галловой нематод в корнях сои

Варианты	Относительная площадь, %				Размеры митохондрий, мкм		Размеры пластил, мкм	
	митохондрий	пластид	вакуолей	линейных капилей	длинная ось	короткая ось	длинная ось	короткая ось
Паренхимные клетки центрального цилиндра (контроль)	0.723 ± 0.116	0.457 ± 0.088	85.272 ± 0.963	—	0.454 ± 0.020	0.331 ± 0.008	1.027 ± 0.053	0.549 ± 0.022
Синцитий (личинка 2-го возраста)	1.509 ± 0.173	1.788 ± 0.029	37.629 ± 0.416	—	0.557 ± 0.037	0.340 ± 0.008	1.660 ± 0.062	0.884 ± 0.035
Синцитий (личинка 3-го возраста)	1.207 ± 0.145	1.564 ± 0.272	10.049 ± 2.688	—	0.488 ± 0.018	0.386 ± 0.007	1.552 ± 0.064	1.029 ± 0.038
Синцитий (личинка 4-го возраста)	1.765 ± 0.202	1.934 ± 0.286	7.627 ± 2.449	0.183 ± 0.061	0.597 ± 0.025	0.480 ± 0.011	1.780 ± 0.081	1.095 ± 0.056
Синцитий (белая самка)	2.716 ± 0.208	2.501 ± 0.305	0.661 ± 0.212	0.501 ± 0.078	0.601 ± 0.021	0.459 ± 0.014	2.051 ± 0.104	1.410 ± 0.056
Ценоциты (молодые самки)	2.355 ± 0.296	1.875 ± 0.251	41.799 ± 3.768	0.104 ± 0.040	0.573 ± 0.012	0.453 ± 0.007	1.420 ± 0.074	0.568 ± 0.017
Ценоциты (старые самки)	7.718 ± 0.393	8.793 ± 0.653	4.192 ± 0.512	0.598 ± 0.110	0.538 ± 0.015	0.433 ± 0.008	1.056 ± 0.056	0.531 ± 0.033

занимающей основной их объем. В клетках синцития крупные вакуоли распадались на мелкие. Соотношение объемов вакуолей и гиалоплазмы в процессе функционирования синцития увеличивалось в пользу последней (см. таблицу).

Одновременно с интенсивным лизисом стенок синцитиальных клеток происходило и утолщение их отдельных участков. Если толщина стенок паренхимных клеток в здоровом корне составляла 0.12—0.27 мкм, то толщина внутренних стенок синцития была 0.23—1.35 мкм. Наибольшие утолщения наблюдали на наружных стенках периферического ряда клеток синцития вблизи головы нематоды. В цитоплазме синцитиальных клеток, примыкающих к голове нематоды, обнаружили протяженные трубчатые образования — так называемые питающие трубочки, продукты пищеводных желез, выделяемые нематодой в протоплазму клеток. Такие структуры наблюдали на всех стадиях развития нематоды. Их количество и протяженность в этой части цитоплазмы увеличивались в процессе функционирования синцития. Питающие трубочки обнаружены в модифицированных клетках, индуцированных многими нематодами (Субботин, 1986). Установлено, что эти трубочки соединены с отверстием полости стилета нематоды и через них происходит всасывание содержимого клеток. Появление новых питающих трубочек связано с циклической выделением секрета дорсальной пищеводной железы в процессе питания нематоды (Wyss, Zunke, 1986).

Личинки 3-го возраста появлялись через два дня после начала внедрения в корень. Они питались из синцитиев, имеющих в среднем размеры $80 \times 88 \times 350$ мкм. Гипертрофированные синцитиальные клетки содержали увеличенные амебоидные ядра с ядрышками. В последних появлялись просветления, что, вероятно, указывало на их возросшую активность. Наблюдаемое уменьшение относительных площадей митохондрий и пластид по сравнению с предыдущей стадией (см. таблицу), возможно, было связано с опережающим возрастанием объема синцития по сравнению с пролиферацией органелл. Как показывают наши исследования, наибольший прирост объема синцития происходил в первые дни функционирования и затем постепенно снижался. Такое увеличение синцитиев соответствовало и увеличению объема питающейся нематоды.

Анализ распределения митохондрий по размерам показал, что относительное уменьшение средних размеров этих органелл на стадии питания личинки 3-го возраста (см. таблицу) происходит в результате значительного уменьшения количества удлинненных митохондрий. Митохондрии овальной и округлой формы на этой стадии имели большие размеры, чем митохондрии аналогичной формы на предыдущей. В цитоплазме синцитиальных клеток происходит также увеличение количества митохондрий с просветленным матриксом, на стадии питания личинки 3-го возраста и последующих стадиях они составляли около 12 % всех митохондрий на срезах. ЭР был представлен в основном агранулярной формой в виде скопленных цистерн, пузырьков и трубочек. Количество цистерн ЭР увеличилось, они часто принимали концентрическую форму (табл. I, 3).

На стенках синцитиальных клеток, примыкающих к трахеальным элементам, происходило образование протуберанцев клеточной стенки. В таких местах наблюдали скопления ломасом (табл. I, 3).

Личинки 4-го возраста обнаружили через 5 дней после начала внедрения в корень. Синцитии, из которых питались личинки этого возраста, имели в среднем размеры $97 \times 90 \times 1073$ мкм. В синцитиальных клетках происходила еще большая активация ядер. В ядрышках появлялись вакуоли. Цитоплазма содержала больше митохондрий и пластид. Размеры этих органелл были увеличены (см. таблицу). Для этой стадии было характерно увеличение количества митохондрий неправильной и чашевидной формы, составляющих около

20 %, и пластид с инвагинациями, составляющих 20—30 % от общего числа этих органелл на срезах. Такое соотношение органелл этой формы сохранялось и на следующей стадии (табл. I, 4).

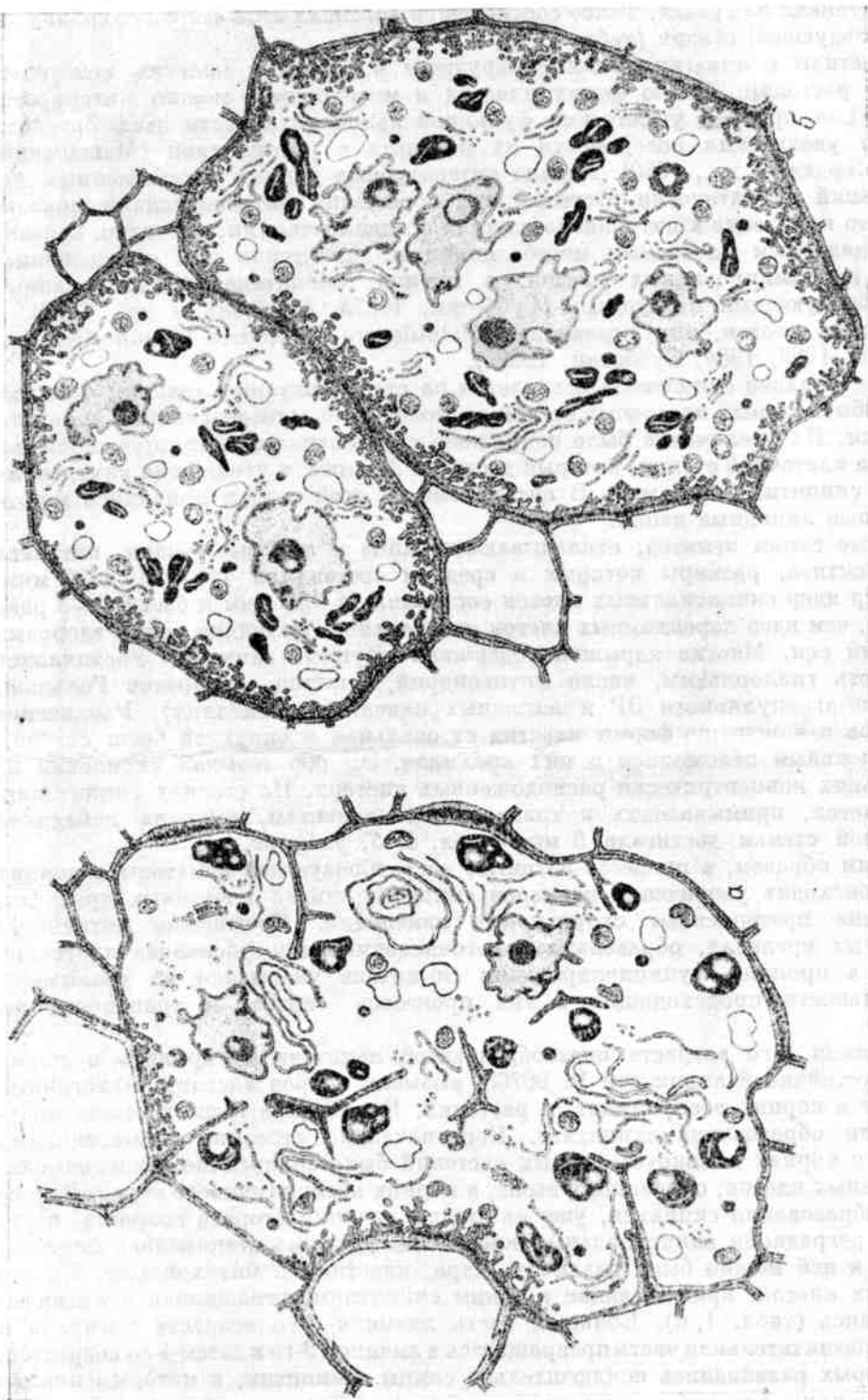
Пластиды с инвагинациями обнаружены в здоровых клетках некоторых тканей растений. Такую форму пластид и митохондрий можно интерпретировать как признак увеличения функциональной активности этих органелл за счет увеличения поверхности их контакта с цитоплазмой (Машанский, 1972; Кордюм и др., 1980). Анализ литературных данных и собственных исследований по патологии растений при поражении фитонематодами показывает, что появление в цитоплазме пластид с инвагинациями, вероятно, связано с определенным клеточным метаболизмом и характерно для определенных типов модифицированных клеток, а именно, синцитиев, индуцированных цистообразующими нематодами (Субботин, 1987а; Субботин и др., 1988), и гигантских клеток, индуцированных *Meloidodera*, *Bellodera* (Mundo-Ocampo, Baldwin, 1983, 1984; Субботин, 1988б).

В цитоплазме синцитиальных клеток на стадии питания личинки 4-го возраста обычно вдоль клеточных стенок располагались многочисленные аппараты Гольджи. Их увеличение было сопряжено с интенсивным формированием лабиринта клеточной стенки, который достигал 3.5 мкм, а утолщения внутренних стенок синцития — 2.5 мкм. В цитоплазме на этой стадии появились многочисленные липидные капли.

Белые самки нематод, откладывающие яйца в яйцевые мешки, питались из синцитиев, размеры которых в среднем составляли 115×99×1480 мкм. Диаметр ядер синцитиальных клеток составлял 14—22 мкм и был в 2—3 раза больше, чем ядер паренхимных клеток центрального цилиндра корня здоровых растений сои. Многие ядрышки содержали крупные вакуоли. Увеличились плотность гиалоплазмы, число митохондрий, пластид, аппаратов Гольджи, мембран агранулярного ЭР и липидных капель (см. таблицу). Увеличение размеров и изменение формы пластид от овальной к округлой были связаны с интенсивным отложением в них крахмала. ЭР образовывал скопления из нескольких концентрически расположенных цистерн. На стенках синцитиальных клеток, примыкающих к трахеальным элементам, толщина лабиринта клеточной стенки достигала 5 мкм (табл. I, 5, рисунок, а).

Таким образом, в процессе развития цистообразующей нематоды в корнях сои происходит увеличение размеров синцития, числа клеточных органелл, последние претерпевают структурные изменения. Повышение активности клеточных органелл, образование многочисленных протуберанцев клеточной стенки в процессе функционирования синцитиев указывают на увеличение интенсивности происходящих в них процессов синтеза и транспорта веществ.

Личинки 2-го возраста цистообразующей нематоды внедрялись в корни высокоустойчивой линии сои PI 90763, вызывая некроз клеток, аналогичный некрозу в корнях восприимчивых растений. Нематоды в корнях также индуцировали образование синцитиев. Первоначально строение синцитиальных клеток в корнях высокоустойчивых растений было аналогично строению синцитиальных клеток, описанному выше, в корнях восприимчивого сорта. Вскоре после образования синцития, уже на стадии личинки второго возраста, началась дегградация синцитиальных клеток. Цитоплазма становилась плотной, однако в ней можно было различить ядра, пластиды и митохондрии. Стенки соседних клеток, примыкающие к таким синцитиям, утолщались и лигнифицировались (табл. I, 6). Большая часть личинок 2-го возраста погибала и только незначительная часть превращалась в личинок 3-го и затем 4-го возрастов, из которых развивались исключительно самцы. Синцитии, к которым примыкали личинки 3-го и 4-го возрастов, в основном были уже некротизированы. В темном содержимом клеток синцития располагались многочисленные лизо-



Строение модифицированных клеток, сформированных в корнях сои при паразитировании нематод.
а — синцитий, индуцированный цистообразующей нематодой; б — ценоциты, индуцированные галловой нематодой.

сомы. Стенки сосудов, соприкасающиеся с некротизированными клетками, были утолщены. Интенсивный некроз происходил и вокруг тела нематоды.

Таким образом, устойчивость линии сои PI 90763 была связана с типичной реакцией сверхчувствительности (СВЧ). СВЧ в устойчивых сортах и линиях сои при паразитировании цистообразующей нематоды была зарегистрирована многими исследователями (Ross, 1958; Endo, 1965; Riggs et al., 1973; Acedo et al., 1984), и ее описание во многом совпадает с нашим. Мы не обнаружили различий в скорости и интенсивности лизиса клеточных стенок при образовании синцитиев в устойчивых и восприимчивых растениях сои, как это указывал R. Rebois с соавт. (1975) при поражении *Rotylenchulus reniformis*. Выявленная нами лигнификация стенок клеток, окружающих отмирающий синцитий, является, вероятно, вторичной защитной реакцией, направленной на изолирование некротизированных клеток от лежащей глубже живой ткани растений.

В современной литературе по вопросам устойчивости растений нет однозначного отношения к реакции СВЧ (Вандерпланк, 1981). Согласно J. В. Метлицкому (1987), процессы, происходящие в устойчивых растениях, сводятся к следующему: патоген вызывает образование СВЧ, погибающие клетки выделяют индукторы, которые в свою очередь вызывают в здоровых клетках синтез фитоалексинов. Последние накапливаются в некротизированных клетках до концентраций, вызывающих гибель паразита. Исследования D. Kaplan, N. Keen (1977), Kaplan и др. (1980) показали, что устойчивость растений сои к галловым нематодам обусловлена накоплением в центральном цилиндре корня, вблизи тела нематоды, известного фитоалексина сои — глицеоллина, оказывающего нематодостатическое действие на личинок нематод. Аналогичные механизмы проявляются в устойчивых растениях сои при поражении цистообразующей нематодой (Huang, Barker, 1986). Интересно отметить, что высокоустойчивая к цистообразующей нематоды линия сои PI 90763 в меньшей степени поражалась также и галловой нематодой *Meloidogyne javanica*, что указывает на определенную неспецифичность устойчивости растений этой линии к седентарным нематодам.

Галловая нематода *Meloidogyne javanica*, паразитируя в корнях растений сои сорта ВНИИС-4, индуцировала образование галлов, которые формировались в результате интенсивной гипертрофии и гиперплазии клеток корня. Апикальный рост корней, на которых формировались галлы, часто был приостановлен. Внутри галла вблизи головы нематоды обнаружили группу питающих клеток — ценоцитов, имеющих неправильную форму. Их размеры на поперечных срезах достигали 171×185 мкм, а на продольных срезах их длина иногда была более 300 мкм (табл. II, 1, 2). Одна нематода индуцировала в корне 5—10 ценоцитов. Известно, что нематода осуществляет поочередное питание из этих клеток, однако комплекс ценоцитов функционирует как единое целое. Размер зоны, занятой ценоцитами в галле, в среднем составлял $200 \times 179 \times 532$ мкм.

Электронно-микроскопическое изучение галлов позволило выявить два типа ценоцитов, различающихся в структурно-функциональном отношении. В галлах, в которых питались молодые самки нематод, преобладали ценоциты с сильно вакуолизированной цитоплазмой. Ценоциты содержали многочисленные гипертрофированные амебoidalной формы ядра. Ядрышки были увеличены, в них преобладал гранулярный компонент, они часто содержали крупные вакуоли. В цитоплазме по всему ее объему располагалось большое количество митохондрий и пластид с крахмальными зернами (табл. II, 3). Эти органеллы ценоцитов имели в среднем больший размер, чем паренхимных клеток центрального цилиндра корней здоровых растений (см. таблицу). Для ценоцитов были характерны митохондрии овальной и округлой форм с просветленным матриксом. В отдельных клетках встречались единичные пластиды с инвагинациями.

Цитоплазма ценоцитов содержала скопления пузырьков, трубочек и цистерн ЭР, большое количество аппаратов Гольджи. В центральной части некоторых ценоцитов располагалась крупная вакуоль. На внутренних стенках ценоцитов почти по всему периметру был сформирован лабиринт клеточной стенки. Степень его развития на стенках была неодинакова. Клеточные стенки соприкасающихся ценоцитов иногда были утолщены и имели выраженные плазмодесменные поля.

В галлах, в которых питались старые самки, активно откладывающие яйца, преобладали ценоциты с плотной, лишенной крупных вакуолей цитоплазмой (табл II, 4). Размеры ядер таких ценоцитов в 2—3 раза превышали размеры ядер паренхимных клеток центрального цилиндра корня. Многие ядрышки содержали крупные вакуоли, их диаметр составлял 3.0—9.6 мкм и был в 3—5 раз больше, чем диаметр нормальных ядрышек в ядрах паренхимных клеток. Гиалоплазма ценоцитов была более плотная, в ней располагалось значительно больше митохондрий, пластид, липидных капелек и мембран ЭР (см. таблицу). В большинстве ценоцитов происходили уменьшение размеров пластид, потеря ими крахмальных зерен. Эти органеллы принимали неправильную форму (см. рисунок, б). Аналогичные изменения пластидоми отмечены и в ценоцитах, индуцированных этой нематодой в корнях фасоли (Fattah, Webster, 1982). Можно полагать, что такие количественные и структурные изменения пластидного аппарата модифицированных клеток, вероятно, связаны с изменением его функции с запасующей на биосинтетическую.

На этой стадии в цитоплазме ценоцитов отмечали появление кристаллических включений, вероятно, белковой природы (табл. II, 5). Аналогичные по строению включения обнаружены в ценоцитах, индуцированных *Meloidogynegrenaria* в корнях *Coleus blumei* (Jones, Northcote, 1972). Лабиринт клеточной стенки ценоцитов достигал мощного развития, его толщина составляла 4—10 мкм. В лабиринте располагались митохондрии, мембраны ЭР и многочисленные скопления пузырьков (табл. II, б). Разрушения клеточных стенок и слияния протопластов нескольких питающих клеток не обнаружено. Увеличенное количество органелл и значительно более развитый лабиринт клеточной стенки указывали на то, что ценоциты с плотной гиалоплазмой отличались повышенной функциональной активностью.

Строение ценоцитов, индуцированных *M. javanica* в корнях сои, во многом совпадает с описаниями ценоцитов, индуцированных галловыми нематодами в корнях растений других видов (Paulson, Webster, 1970; Jones, Northcote, 1972; Jones, Payne, 1978).

В галле ценоциты были окружены различными по форме, размеру и ориентации гидроцитными элементами и возникшими в результате гиперплазии паренхимными клетками. Последние имели сходное строение с паренхимными клетками центрального цилиндра корней здоровых растений. Однако некоторые из них, соприкасаясь с трахеальными элементами, имели сформированные протуберанцы клеточной стенки, что указывает на интенсивный транспорт веществ из ксилемы через паренхимные клетки к ценоцитам.

Таким образом, ультраструктурные изменения, происходящие в синцитиях и ценоцитах, во многом сходны и определяются общей функцией, которую эти клетки выполняют. В этих модифицированных клетках происходят изменение формы и гипертрофия ядер, увеличение размеров и вакуолизация ядрышек, увеличение количества гиалоплазмы и цитоплазматических органелл: митохондрий, пластид, мембран агранулярного ЭР, аппаратов Гольджи; фрагментация вакуолей, увеличение размеров митохондрий и образование лабиринта клеточной стенки. Все эти изменения указывают на высокую метаболическую активность протопласта модифицированных клеток, на происходящие в них интенсивные процессы синтеза и транспорта веществ из соседних клеток. В процессе развития нематод функциональная активность синцитиев и цено-

цитов повышается, что соответствует возрастающим в процессе онтогенеза потребностям паразита в питании. Полученные нами данные находятся в соответствии с результатами гистохимических исследований, указывающих на повышение энзимной активности в протоплазме модифицированных клеток в процессе развития цистообразующей и галловой нематод в корнях растений сои (Veech, Endo, 1969; Endo, Veech, 1970).

В строении синцитиев и ценоцитов обнаружены качественные и количественные различия. Качественные различия, вероятно, связаны с определенными особенностями формирования и метаболизма этих клеток и касаются следующего: в синцитиях не происходит митотическое деление ядер, пластиды увеличиваются в размерах, в них откладывается крахмал, появляются пластиды с инвагинациями, митохондрии неправильной и чашевидной формы, мембраны ЭР принимают концентрическую форму. В ценоцитах, напротив, происходит митотическое деление ядер, для цитоплазмы не характерны пластиды с инвагинациями и крахмалом, митохондрии неправильной или чашевидной формы, в цитоплазме появляются кристаллические включения.

Как показывает проведенный морфометрический анализ, хондриом и пластидом ценоцитов значительно более развиты, чем синцитиев. Относительные площади, занимаемые митохондриями и пластидами, в ценоцитах больше, чем в синцитиях, соответственно в 2.8 и 3.5 раза. Значительно более активен и ядерный аппарат ценоцитов. Известно, что в этих клетках ядра полиплоидны (Субботин, 1986). Проведенные нами исследования показали, что относительная площадь, занимаемая ядрами, в ценоцитах в 3.6 раза больше, чем в синцитиях. Кроме того, в ценоцитах значительно более развита система ЭР, лабиринт клеточной стенки формируется не только на стенках, примыкающих к трахеальным элементам, как у синцитиев, а почти по всему периметру клеток. Эти количественные различия в ультраструктуре клеток указывают на большую интенсификацию функций ценоцитов по сравнению с синцитиями. Полученные нами результаты о большей метаболической активности ценоцитов находятся в соответствии с данными проведенных F. Gommers и V. Dgorkin (1977) гистохимических исследований модифицированных клеток, индуцированных цистообразующей и галловой нематодами в корнях сои.

Изучение строения модифицированных клеток, на наш взгляд, важно для понимания развития взаимоотношений в системе паразитическая нематода — растение. Проведенный нами анализ показал, что эволюция модифицированных клеток шла по пути усложнения строения и усиления функциональной активности. Уровень усложнения модифицированных клеток в общих чертах соответствует уровню эволюционной продвинутости нематод (Субботин, 1987б, 1988а). Сравнительное изучение строений модифицированных клеток позволяет выявить основные принципы эволюции функций этих патологических образований. Мы полагаем, что в основе интенсификации работы питающих клеток лежат следующие принципы: увеличение количества протопласта клеток, увеличение числа или полимеризация органелл и интенсификация зоны контакта клеточной стенки с протоплазмой. Увеличение поверхности плазмалеммы в результате образования протуберанцев и лабиринта клеточной стенки значительно расширило функциональные возможности модифицированных клеток, позволило увеличить поступление веществ через апопласт в питающую клетку. Развитый лабиринт клеточной стенки формируется в синцитиях и ценоцитах, индуцированных соответственно цистообразующими и галловыми нематодами — наиболее эволюционно продвинутыми группами седентарных нематод. Интересно, что анализ распространения спутников ситовидных элементов с протуберанцами клеточной стенки среди травянистых двудольных и однодольных показал, что такие системы свойственны сравнительно высоко стоящим в эволюционном плане таксонам (Гамалей, 1985). Таким образом, ценоциты, в которых в наибольшей степени проявляются вышеназванные

тенденции, рассматриваются нами как наиболее высокоспециализированные из известных типов модифицированных клеток, индуцированных седентарными нематодами в корнях растений.

Заключение

Цистообразующая и галловая нематоды индуцируют в корнях сои образование модифицированных клеток: соответственно синцитиев и ценоцитов. В процессе паразитирования нематод в корнях функциональная активность этих клеток повышается. Модифицированные клетки увеличиваются в размерах, в них увеличивается количество органелл, последние претерпевают структурные изменения, формируется лабиринт клеточной стенки. Выявленные качественные и количественные различия в строении синцитиев и ценоцитов, вероятно, обусловлены особенностями формирования и метаболизма этих клеток. Интенсификация функций ценоцитов выражена сильнее, чем синцитиев. Устойчивость растений линии сои PI 90763 к цистообразующей нематоды связана с развитием реакции СВЧ, которая охватывает синцитиальные клетки и клетки растения, окружающие тело нематоды. В основе эволюции модифицированных клеток лежат следующие принципы: увеличение количества протопласта, полимеризация органелл и интенсификация контакта клеточной стенки с протоплазмой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Автаидов Г. Г., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф. Системный стереометрический анализ ультраструктур клеток. Кншиев: Штинца, 1984. 168 с. — Вандерпланк Я. Генетические и молекулярные основы патогенеза у растений. М.: Мир, 1981. 236 с. — Гамалей Ю. В. Особенности загрузки флоэмы у древесных и травянистых растений // Физиология растений. 1985. Т. 32, вып. 5. С. 866—875. — Кордюм Е. Л., Педуха Е. М., Сидоренко П. Т. Структурно-функциональная характеристика растительной клетки в процессах дифференцировки и дедифференцировки. Киев: Наук. думка, 1980. 116 с. — Машанский В. Ф. Митохондрии // Атлас ультраструктуры растительных клеток. Петрозаводек, 1972. С. 82—105. — Метлицкий Л. В. Иммунологический контроль в жизни растений. 45-е Тимирязевские чтения. М.: Наука, 1987. 72 с. — Субботин С. А. Типы модифицированных клеток, индуцированных седентарными фитопаразитическими нематодами отряда Tylenchida в корнях растений // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтол. 1986. Вып. 45. С. 38—51. — Субботин С. А. Патологические изменения в корнях растений семейства сложноцветных при поражении глободерами // X Всесоюз. совещ. по нематодным болезням с.-х. культур: Тез. докл. Воронеж, 1987а. С. 129—130. — Субботин С. А. Гистологические и цитологические изменения в корнях растений при поражении седентарными нематодами отряда Tylenchida Thorne, 1949: Автореф. дис. . . . канд. биол. наук. Москва, 1987б. 24 с. — Субботин С. А. Эволюция модифицированных клеток, индуцированных седентарными фитопаразитическими нематодами в корнях растений // Ультраструктура растений. VI Всесоюз. симпозиум: Тез. докл. Киев, 1988а. С. 227. — Субботин С. А. Гистологические и цитологические изменения в корнях ольхи серой при поражении *Sphaeronema alni* и *Meloidodera alni* // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтол. 1988б. Вып. 50. С. 59—67. — Субботин С. А., Балахнина В. П., Осипова Е. В. Гистологические и цитологические изменения в корнях различных по устойчивости сортов твердой пшеницы (*Triticum durum* L.) при поражении овсяной цистообразующей нематодой // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтол. 1988. Вып. 50. С. 68—76. — Субботин С. А., Чижов В. П. Сициций, индуцированных в корнях мяты длиннолистной при поражении *Meloidodera kirjanovia* Poghossian, 1966 // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтол. 1986. Вып. 45. С. 52—62. — Acedo J. R., Dropkin V. H., Luedders V. D. Nematode population attrition and histopathology of *Heterodera glycines* — soybean associations // J. Nematol. 1984. Vol. 16, N 4. P. 48—57. — Dropkin V. H., Nelson P. E. The histopathology of root-knot nematode infections in soybeans // Phytopathology. 1960. Vol. 50, N 6. P. 442—447. — Endo B. Y. Penetration and development of *Heterodera glycines* in soybean roots and related anatomical changes // Phytopathology. 1964. Vol. 54, N 1. P. 79—88. — Endo B. Y. Histological responses of resistant and susceptible soybean varieties, and back cross progeny to entry and development of *Heterodera glycines* // Phytopathology. 1965. Vol. 55, N 4. P. 375—381. — Endo B. Y. Feeding plug formation in soybean roots infected with the soybean cyst nematode // Phytopathology. 1978. Vol. 68, N 7. P. 1022—1031. — Endo B. Y., Veech J. A. Morphology and histochemistry of soybean roots infected with *Heterodera glycines* // Phytopathology. 1970. Vol. 60, N 10. P. 1493—1498. — Fattah F. A., Webster J. M. Fine structure of giant cells induced by *Meloidogyne javanica* in lima bean // J. Nematol. 1982. Vol. 14, N 4. P. 440. —

Gipson J., Kim K. S., Riggs R. D. Ultrastructure of early development of syncytium by *Heterodera glycines* in roots of soybean // *Phytopathology*. 1969. Vol. 59, N 8. P. 1027—1028. — Gipson J., Kim K. S., Riggs R. D. An ultrastructural study of syncytium development in soybean roots infected with *Heterodera glycines* // *Phytopathology*. 1971. Vol. 61, N 4. P. 347—353. — Gommers F. J., Dropkin V. H. Quantitative histochemistry of nematode-induced transfer cells // *Phytopathology*. 1977. Vol. 67, N 7. P. 869—873. — Huang J. S., Barker K. R. Radioimmunoassay of glyceollin 1 in soybean roots infected with race 1 of *Heterodera glycines* // *Phytopathology*. 1986. Vol. 76, N 10. P. 1139. — Jones M. G. K. Host cell responses to endoparasitic nematode attack: structure and function of giant cells and syncytia // *Ann. Appl. Biol.* 1981. Vol. 97, N 3. P. 353—372. — Jones M. G. K., Dropkin V. H. Cellular alterations induced in soybean roots by three endoparasitic nematodes // *Physiol. Plant Pathology*. 1975. Vol. 5, N 2. P. 119—124. — Jones M. G. K., Northcote D. H. Multinucleate transfer cells induced in coleus roots by the root-knot nematode *Meloidogyne arenaria* // *Protoplasma*. 1972. Vol. 75. P. 381—395. — Jones M. G. K., Payne H. L. Early stages of nematode — induced giant cell formation in roots of *Impatiens balsamina* // *J. Nematol.* 1978. Vol. 10, N 1. P. 70—84. — Kaplan D. T., Keen N. T. De novo synthesis of an isoflavonoid compound by soybeans in responses to *Meloidogyne incognita* infection // *J. Nematol.* 1977. Vol. 9, N 4. P. 274. — Kaplan D. T., Keen N. T., Thomason I. J. Association of glyceollin with the incompatible response of soybean roots to *Meloidogyne incognita* // *Physiol. Plant Pathology*. 1980. Vol. 16, N 3. P. 309—318. — Kim Y. H., Kim K. S., Riggs R. D. Morphological characteristics of syncytia in susceptible hosts infected by the soybean cyst nematode // *Phytopathology*. 1986. Vol. 76, N 9. P. 913—917. — Kim Y. H., Riggs R. D., Kim K. S. Structural changes associated with resistance of soybean to *Heterodera glycines* // *J. Nematol.* 1987. Vol. 19, N 2. P. 177—187. — Mundo-Ocampo M., Baldwin J. G. Host response to *Meloidogyne* spp. (Heteroderidae) // *J. Nematol.* 1983. Vol. 15, N 4. P. 544—554. — Mundo-Ocampo M., Baldwin J. G. Comparison of host response of *Cryphodera utahensis* with other Heteroderidae, and discussion of phylogeny // *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 1984. Vol. 51, N 1. P. 25—31. — Paulson R. E., Webster J. M. Giant cell formation in tomato roots caused by *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla* (Nematoda) infection. A light and electron microscopy study // *Can. J. Bot.* 1970. Vol. 48, N 2. P. 271—276. — Rebois R. V., Madden P. A., Eldridg B. J. Some ultrastructural changes in resistant and susceptible soybean roots following infection by *Rotylenchulus reniformis* // *J. Nematol.* 1975. Vol. 2, N 2. P. 122—139. — Riggs R. D., Kim K. S., Gipson J. Ultrastructural changes in Peking soybeans infected with *Heterodera glycines* // *Phytopathology*. 1973. Vol. 63, N 1. P. 76—84. — Ross J. P. Host-parasite relationship of soybean cyst nematode in resistant soybean roots // *Phytopathology*. 1958. Vol. 48, N 10. P. 578—579. — Veech J. A., Endo B. Y. The histochemical localization of several enzymes of soybeans infected with the root-knot nematode *Meloidogyne incognita acrita* // *J. Nematol.* 1969. Vol. 1, N 3. P. 265—276. — Wyss U., Zunke U. Observations on the behaviour of second stage juveniles of *Heterodera schachtii* inside host roots // *Rev. Nematol.* 1986. Vol. 9, N 2. P. 152—165.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт гельминтологии,
Москва.

Поступило 1 II 1989.

SUMMARY

The study of ultrastructural changes in cells of soybean roots infected by cyst nematode and root-knot nematode showed that size of modified cells and the number of organelles increase, the latter undergo structural alterations and wall ingrowths formed during the nematode development. Quantitative and qualitative differences have been revealed in the structure of syncytia and coenocytes. The intensification of the coenocyte function was expressed more than the syncytium one. Hypersensitive response occurred in the roots of resistant soybean plants (PI 90763) infected with larvae of cyst nematode. The intensification of modified cell function is based on increased amount of cytoplasm, organelle multiplication and intensification of contacts between cell wall and cytoplasm.

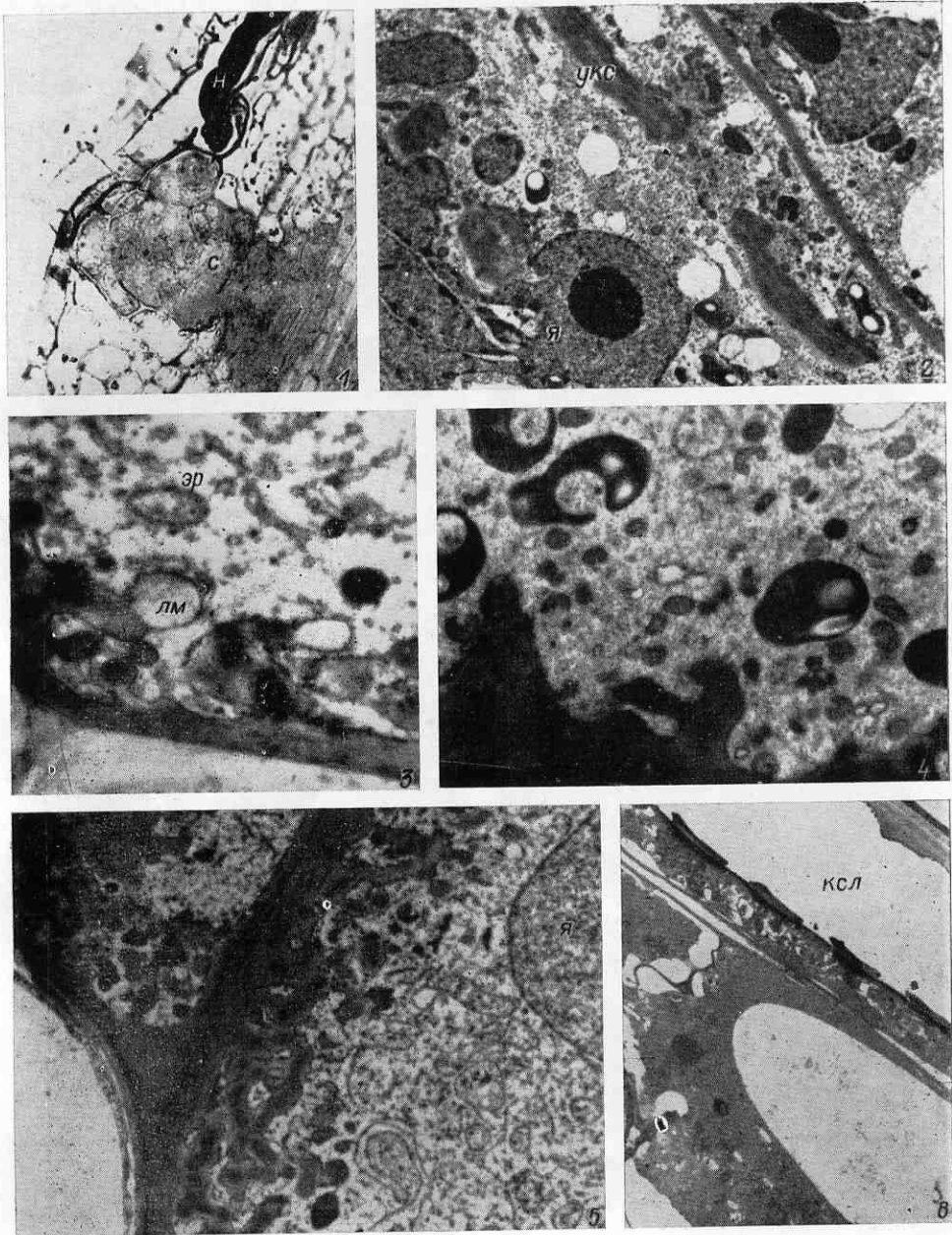


Таблица. I. Синцитий, индуцированный в корнях сои цистообразующей нематодой.

1 — синцитий на продольном срезе корня (личинка 2-го возраста), $\times 270$; 2 — фрагмент цитоплазмы синцития (личинка 2-го возраста), $\times 1500$; 3 — протуберансы клеточной стенки (личинка 3-го возраста), $\times 7500$; 4 — фрагмент цитоплазмы синцития (личинка 4-го возраста), $\times 4500$; 5 — лабиринт клеточной стенки (белая самка), $\times 3000$; 6 — некротизация синцитиальной клетки (личинка 2-го возраста), $\times 1500$. н — нематоды, с — синцитий, я — ядро, укс — утолщение клеточной стенки, лм — ломасома, эр — эндоплазматический ретикулум, ксл — ксилема. 1 — СМ; 2-6 — ТЭМ.

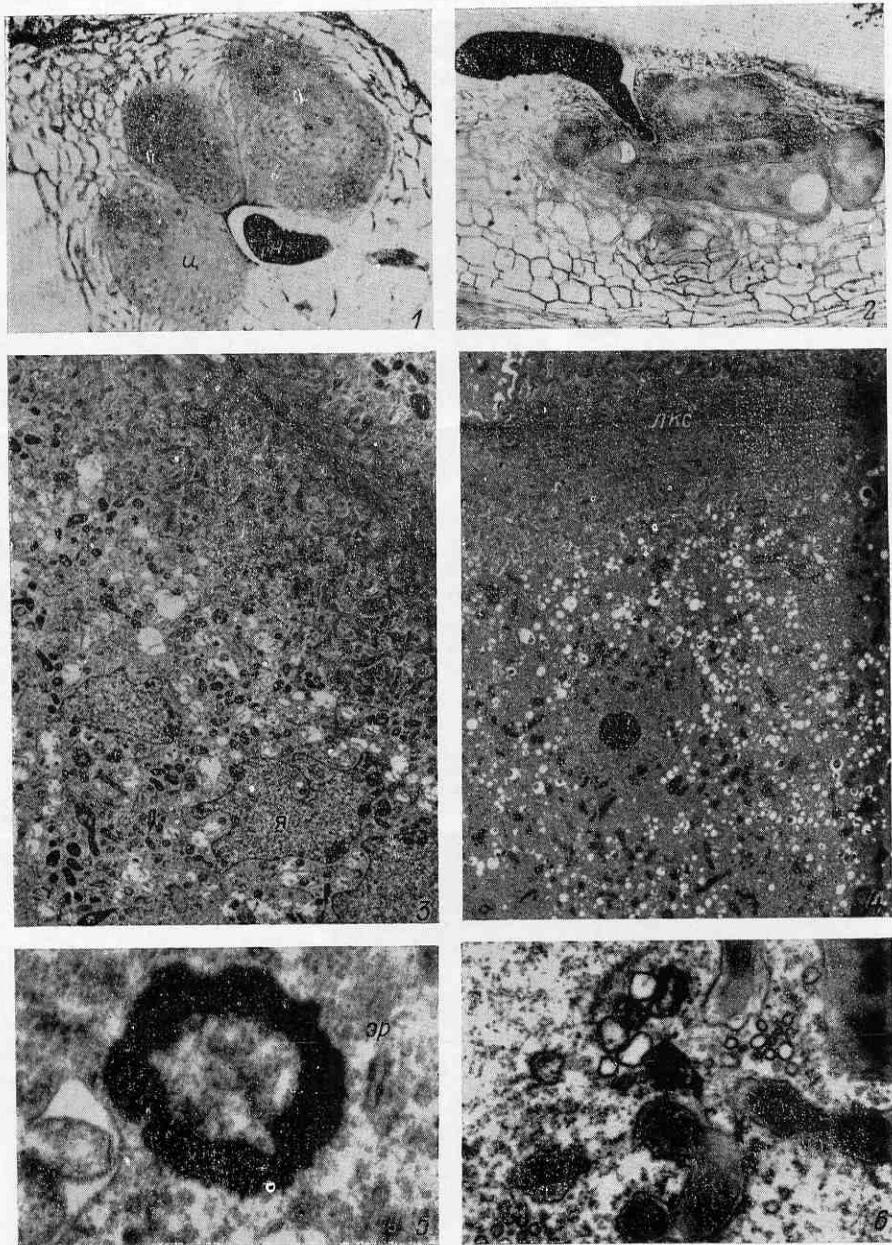


Таблица II. Ценоциты, индуцированные в корнях сои галловой нематодой.

1 — ценоциты на поперечном срезе корня, $\times 150$; 2 — ценоциты на продольном срезе корня, $\times 75$; 3 — фрагмент цитоплазмы ценоцита (молодая самка), $\times 1350$; 4 — фрагмент цитоплазмы ценоцита (старая самка), $\times 1350$; 5 — кристаллическое включение, $\times 24\ 000$; 6 — лабиринт клеточной стенки, $\times 10\ 500$. *u* — ценоцит. *лкс* — лабиринт клеточной стенки, остальные обозначения те же, что на рис. 1. 1, 2 — СМ; 3-6 — ТЭМ.