

УДК 576.3:634.31/34:632.651

С. А. СУББОТИН

**ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК КОРНЯ
CITRUS SINENSIS ПОД ВЛИЯНИЕМ ЦИТРУСОВОЙ
НЕМАТОДЫ *TYLENCHULUS SEMIPENETRANS***

Изучены ультраструктурные изменения в клетках корня апельсина сладкого при поражении цитрусовой нематодой. Нематоды в корнях растений индуцировали образование негипертрофированных питающих клеток. Активация всех компонентов питающих клеток указывает на происходящие в них интенсивные процессы синтеза и транспорта веществ.

Введение. Седентарные фитопаразитические нематоды, к которым относится *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913, наиболее опасная и патогенная группа фитонематод, приносящая большие потери сельскому хозяйству. Паразитируя в корнях, эти нематоды образуют в растениях специфические клеточные комплексы, так называемые модифицированные питающие клетки, выполняющие роль трофических посредников между нематодой и растением. Известны четыре типа таких клеток: негипертрофированные клетки, гигантская клетка, синцитий и ценоциты. Различные виды нематод индуцируют в корнях определенный тип модифицированных клеток, независимо от того, какое растение они поражают [1, 2]. Фитонематода *T. semipenetrans* индуцирует в корнях растений образование негипертрофированных клеток. Этот тип модифицированных клеток изучали с помощью световой [3—6] и электронной микроскопии [7—9] в корнях различных растений-хозяев, однако многие особенности строения негипертрофированных клеток остались неисследованными. Цель настоящей работы — изучение ультраструктурной характеристики негипертрофированных питающих клеток, индуцированных самкой цитрусовой нематоды в корнях апельсина сладкого, и сравнение их с ультраструктурой нормальных клеток корня растений.

Материалы и методы. Двух-трехмесячные растения апельсина сладкого *Citrus sinensis* (L) Osb., выращенные из семян, высаживали в горшки с почвой, зараженной личинками нематоды *T. semipenetrans*. Инвазионная нагрузка составляла 500 личинок на 100 см³ почвы. Растения росли в вегетационном домике при искусственном освещении лампами дневного света в течение 16 ч, освещенности 3 000 лк, средней температуре 21—24 °С. Корни, зараженные нематодой, и корни здоровых контрольных растений брали для анализа через 5 мес после заражения, фиксировали 2,5 %-ным раствором глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,2) в течение 1 сут и затем 2 ч в 1 %-ном растворе четырехоксида осмия, обезвоживали в этаноле и заключали в смесь эпоксидных смол. Срезы корней изготавливали на ультрамикротоме БС-490А и ЛКБ-2088. Полутонкие срезы окрашивали раствором метиленового синего и исследовали под световым микроскопом МБИ-15-2. Ультратонкие срезы окрашивали раствором уранилацетата и затем цитратом свинца. Сетки и бленды с ультратонкими срезами просматривали и фотографировали под трансмиссионным электронным микроскопом Тесла БС-500. Подготовку корней для растровой электронной микроскопии проводили по стандартным методикам. Материал анализировали под растровым электронным микроскопом Хитачи С-450А.

Результаты исследований и их обсуждение. Личинки нематод внедрялись в корни апельсина перпендикулярно к поверхности, приблизительно на половину длины своего тела, начинали питаться из клеток паренхимы коры корня и приобретали вздутую форму (рис. 1). Вокруг

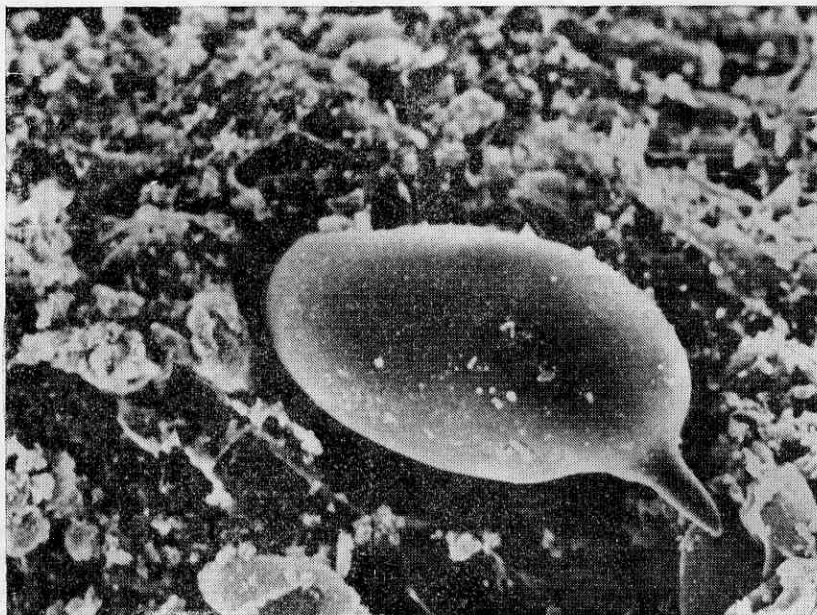


Рис. 1. Самка нематоды, внедрившаяся в корень апельсина, $\times 300$

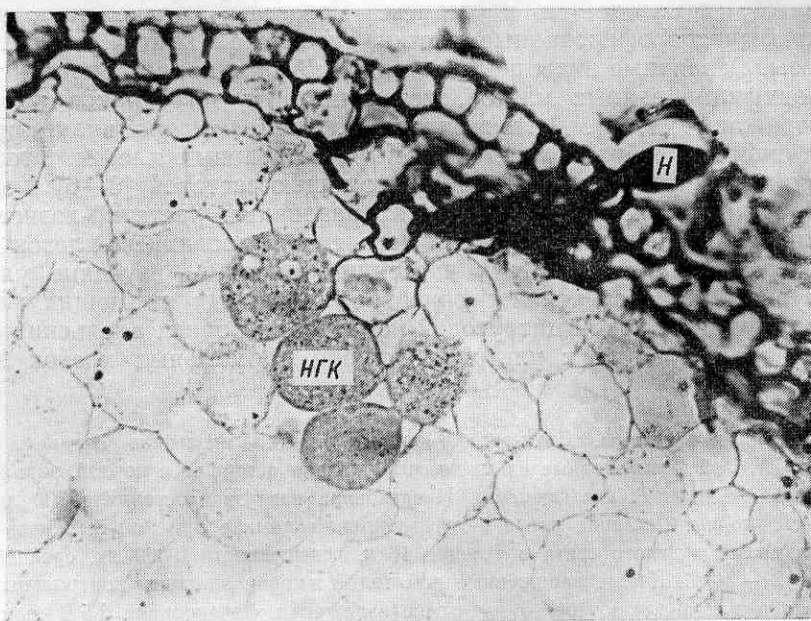


Рис. 2. Поперечный срез коры корня апельсина с группой негипертрофированных питающих клеток, индуцированных самкой нематоды (H — нематода, НГК — негипертрофированные клетки), $\times 190$

головы самки нематоды, которая располагалась в небольшой полости, образовавшейся в результате разрушения клеток коры, обнаружили клетки с некротическим содержимым, группу негипертрофированных питающих клеток бурого цвета, которые по размерам не отличались от нормальных паренхимных клеток коры корня, и окружающие их видоизмененные паренхимные клетки (рис. 2). На поперечных срезах

корня вблизи головы нематоды число питающих клеток колебалось от 4 до 7. Они имели неправильную овальную или округлую форму, их диаметр был равен 25—48 мкм. На продольных срезах число таких клеток составляло 4—5, а их длина была равна 40—85 мкм. Таким образом, нематода вовлекала в питание около 6—10 клеток паренхимы коры корня.

Нормальные паренхимные клетки коры корня здоровых растений содержали ядра овальной формы, цитоплазму со светлой гиалоплазмой. По периферии клеток располагались крупные пластиды (до 7 на

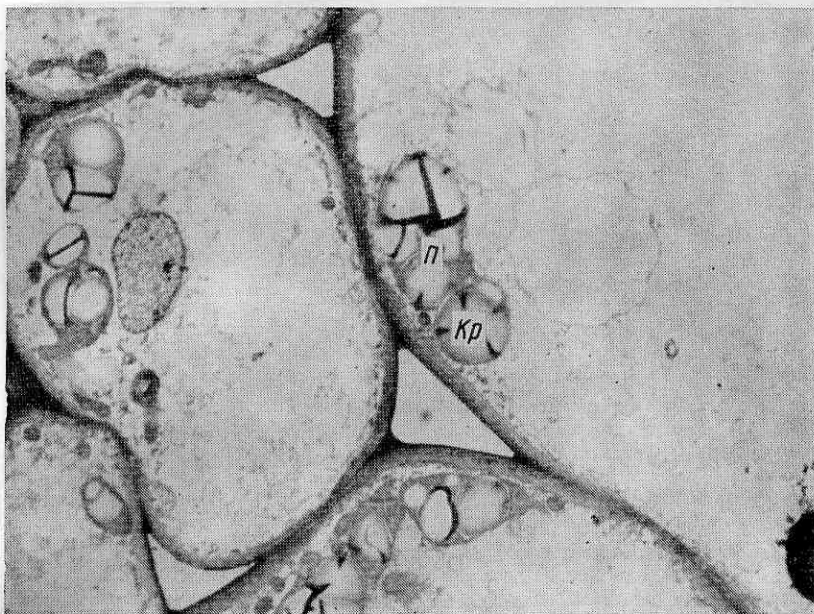


Рис. 3. Нормальные паренхимные клетки коры корня апельсина (Кр — крахмал, П — пластида), $\times 3000$

срез клетки), содержащие крахмальные включения, митохондрии разнообразной формы (обычно 2—5 на срез клетки) и единичные цистерны эндоплазматического ретикулума. Основной объем этих клеток занимали вакуоли (рис. 3).

Негипертрофированные питающие клетки, индуцированные нематодой, содержали плотную цитоплазму с многочисленными органеллами, увеличенное ядро и отличались друг от друга по плотности гиалоплазмы и относительноному объему вакуолей. В процессе функционирования плотность и количество гиалоплазмы в клетках увеличивалось, а объем вакуолей уменьшался (рис. 4).

Гипертрофированные ядра амeboидной формы располагались в центре модифицированных клеток. По размерам они в 2,5—4 раза превосходили ядра нормальных паренхимных клеток. Ядра имели светлую нуклеоплазму, глыбки хроматина располагались вдоль внутренней ядерной мембраны (рис. 5), так же как и в ядрах нормальных паренхимных клеток. Ядрышко питающих клеток было гипертрофировано, часто содержало одну или несколько вакуолей. Сходные изменения ядра характерны и для других типов модифицированных клеток [2]. В настоящее время показано, что увеличение размеров и поверхности ядра за счет многочисленных инвагинаций оболочки, гипертрофия ядрышка и образование в нем просветлений указывают на повышение функциональной активности ядра и интенсификацию ядерно-цитоплазматических контактов [10, 11].

В цитоплазме питающих клеток располагалось большое количество митохондрий (50—150 на срез клетки) и пластид (30—100 на срез клетки) (рис. 5). Митохондрии питающих клеток по строению не от-

личались от митохондрий паренхимных клеток коры, но в отличие от последних имели в среднем меньшие размеры. Известно, что увеличение количества митохондрий является общим структурным выражением усиления клеточного метаболизма [10, 11]. Пластиды негипертрофированных питающих клеток имели овальную, округлую, часто неправильную форму, их длина в среднем составляла 1,2 мкм (до 2,0 мкм), тогда как в нормальных паренхимных клетках коры — 3,6 мкм (до 5,0 мкм). Пластиды имели плотную строму, содержали мелкие (обычно 3—7, редко — свыше 12) липидные капли, часто 1—2 небольшие

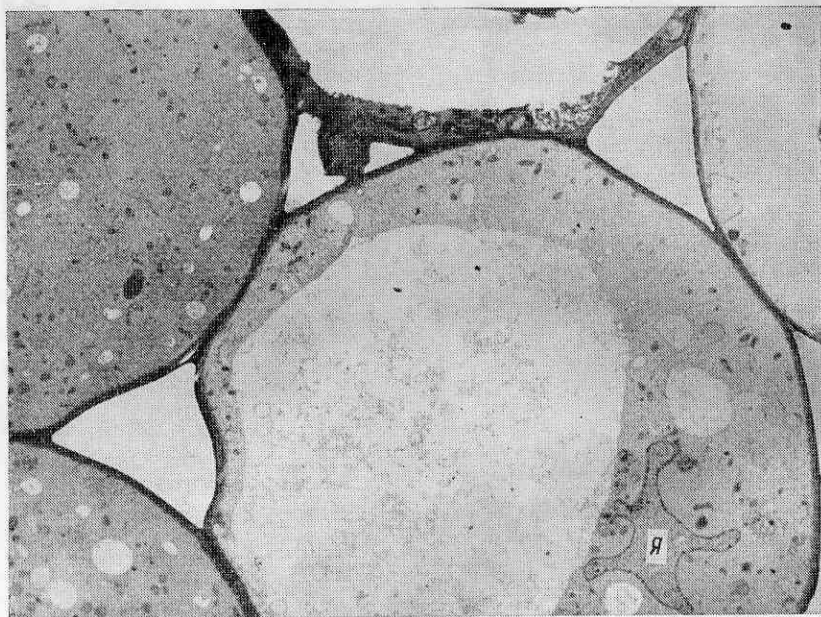


Рис. 4. Питающие клетки на разных стадиях функционирования (Я — ядро), $\times 2200$

крахмальные (рис. 6), а в некоторых клетках кристаллические включения. Аналогичные кристаллические включения в пластидах отмечали в питающих клетках, индуцированных этой нематодой в корнях *S. aurantium* [7]. В питающих клетках с темной гиалоплазмой, находящихся на поздних стадиях функционирования, крахмальные включения в этих органеллах, как правило, исчезали. Для пластид нормальных паренхимных клеток коры были характерны 2—6 крупных крахмальных зерен, которые занимали основной объем этих органелл (рис. 3).

Эндоплазматический ретикулум в цитоплазме питающих клеток был представлен агранулярной формой (АЭР) в виде небольших скоплений разветвленных трубочек, пузырьков и цистерн. Цистерны АЭР часто принимали концентрическую форму. Для активно функционирующих клеток были характерны мелкие, обычно овальной и округлой формы вакуоли с хлопьевидным содержимым (рис. 5 и 6).

Многочисленные пластиды и хорошо развитая система АЭР характерны для секреторных терпеноидогенных клеток растений. Имеются основания полагать, что эти органеллы принимают основное участие в синтезе секреторных терпеноидов, флавоноидных агликонов и жирных масел. В процессе усиления секреции в этих клетках происходит увеличение количества мембран АЭР, числа и размера пластид и уменьшение в них запасного крахмала [12]. Для некоторых типов модифицированных клеток, индуцированных седентарными фитонематодами, также характерно большое количество пластид и мембран АЭР [2, 13—15]. Увеличение количества этих органелл, вероятно, указывает на их активное участие в синтетических процессах, происходящих в питающих клетках.

В цитоплазме негипертрофированных питающих клеток располагалось большое количество свободных рибосом. В некоторых клетках встречались липидные капли, аналогичные включения наблюдали и в нормальных паренхимных клетках коры.

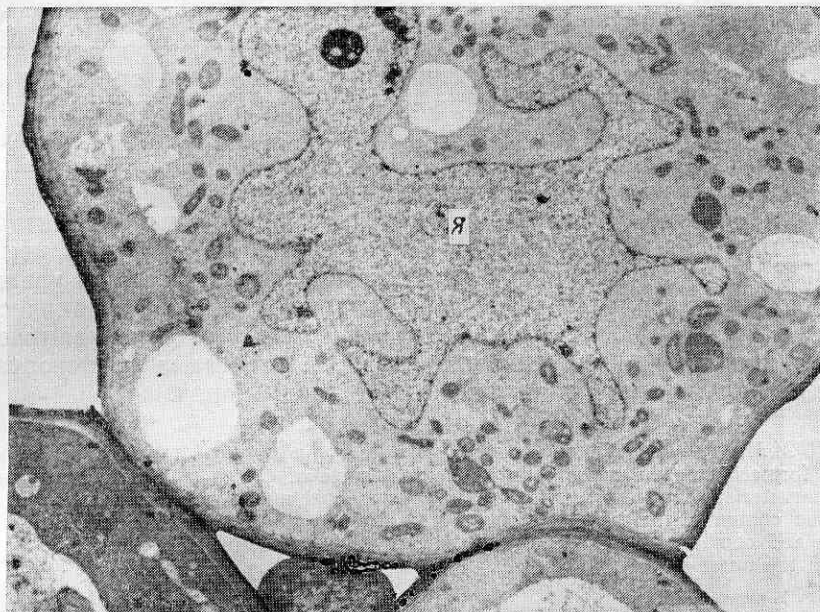


Рис. 5. Питающая клетка с увеличенным амебовидным ядром, плотной цитоплазмой и многочисленными органеллами, $\times 4\ 000$

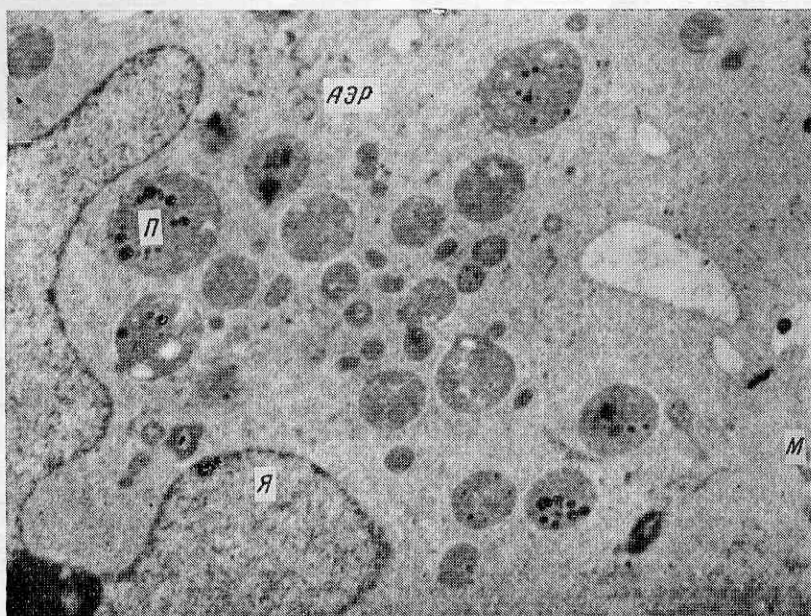


Рис. 6. Участок цитоплазмы питающей клетки (АЭР — агранулярный эндоплазматический ретикулум, М — митохондрия), $\times 6\ 000$

Некоторые соседние клетки паренхимы коры, примыкающие к заполненным цитоплазмой питающим клеткам, были также видоизменены. В них возрастал объем цитоплазмы, увеличивалось количество органелл, происходила гипертрофия ядра и ядрышка. Однако вакуоли по-прежнему занимали основной объем клетки, а пластиды содержали

крупные крахмальные включения. Вероятно, через эти также видоизмененные паренхимные клетки происходит транспорт веществ к питающим клеткам.

Хотя внедрившаяся в корень нематода, вероятно, осуществляет питание поочередно из разных клеток, комплекс питающих клеток, соединенных плазмодесмами, функционирует как единое целое. Активация всех компонентов питающих клеток: гипертрофия ядра и ядрышка, увеличение объема цитоплазмы, количества органелл и изменение их строения указывает на происходящие в протопласте интенсивные процессы синтеза и транспорта веществ из соседних паренхимных клеток коры корня.

Выводы. Цитрусовая нематода *T. semipenetrans*, паразитируя в коре корня апельсина, вызывает глубокие структурные изменения в клетках растения. Нематода индуцирует образование группы негипертрофированных питающих клеток, которые характеризуются увеличенными ядрами и ядрышками, объемом цитоплазмы и количеством органелл. Активация всех компонентов питающих клеток указывает на происходящие в них интенсивные процессы синтеза и транспорта веществ из соседних видоизмененных клеток коры корня.

SUMMARY Infection with citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* stimulates the formation of the nurse cells in the root cortex of *Citrus sinensis*. The nurse cells were characterized by the presence of enlarged amoeboid nuclei with nucleoli, increased cytoplasmic contents, numerous mitochondria, plastids and endoplasmic reticulum. Activity of cell components indicates that intensive synthesis and transport of substances occur in the nurse cells.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jones M. G. K. Host cell responses to endoparasitic nematode attack: structure and function of giant cells and syncytia // Ann. Appl. Biol.—1981.—97, N 3.—P. 353—372.
2. Субботин С. А. Типы модифицированных клеток, индуцированных седентарными фитопаразитическими нематодами отряда Tylenchida в корнях растений // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтологии.—1986.—Вып. 45.—С. 38—51.
3. Van Gundy S. D. Kirkpatrick J. D. Nature of resistance in certain citrus rootstocks to citrus nematode // Phytopathology.—1964.—54, N 4.—P. 419—427.
4. Cohn E. On the feeding and histopathology of the citrus nematode // Nematologica.—1965.—11, N 1.—P. 47—54.
5. Kaplan D. T. Characterization of citrus rootstock responses to *Tylenchulus semipenetrans* (Cobb) // J. Nematol.—1981.—13, N 4.—P. 492—498.
6. B'Chir M. M., Belkadni M. S. Nouvelles donnees sur les modifications histologiques induites par le complexe *Fusarium solani*—*Tylenchulus semipenetrans* au niveau des racines de portes-greffes de citrus // Meded. Fic. Landbouwwetensch Pijksuniu Cent.—1986.—51, N 3B, Deel 4.—P. 1295—1310.
7. Changes in fine structure of citrus root cells induced by *Tylenchulus semipenetrans* / S. Himmelhoch, E. Cohn, M. Mordechai, B. M. Zuckerman // Nematologica.—1979.—25, N 3.—P. 333—335.
8. Ambrogioni L. Ultrastructura delle modificazioni cellulari indotte da *Tylenchulus semipenetrans* Cobb su radici di limone // Redia.—1982.—65.—P. 95—99.
9. B'Chir M. M. Organisation ultrastructurale du site trophique induit par *Tylenchulus semipenetrans* dans les racines de Citrus // Rev. Nematol.—1988.—11, N 2.—P. 213—222.
10. Кордюм Е. Л., Недуха Е. М., Сидоренко П. Т. Структурно-функциональная характеристика растительной клетки в процессах дифференцировки и дедифференцировки.—Киев: Наук. думка, 1980.—116 с.
11. Ченцов Ю. С. Общая цитология.—М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 1984.—352 с.
12. Васильев А. Е. Функциональная морфология секреторных клеток растений.—Л.: Наука, 1977.—208 с.
13. Gipson J., Kim K. S., Riggs R. D. An ultrastructural study of syncytium development in soybean roots infected with *Heterodera glycines* // Phytopathology.—1971.—61, N 4.—P. 347—353.
14. Wyss U., Stender C., Lehman H. Ultrastructure of feeding sites of the cyst nematode *Heterodera schachtii* Schmidt in roots of susceptible and resistant *Raphanus sativus* L. var. *oleiformis* Pers. cultivars // Physiol. Plant Pat.—1984.—25, N 1.—P. 21—37.
15. Субботин С. А., Чижов В. Н. Синцитий, индуцированный в корнях мяты длиннолистной при поражении *Meloidoderita kirjanovae* Poghossian, 1966 // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтологии.—1986.—Вып. 45.—С. 52—62.