

В. Л. РЫЖКОВ и В. А. СМИРНОВА

НАКОПЛЕНИЕ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ ПРИ ЛИШЕНИИ РАСТЕНИЙ АЗОТА

(Представлено академиком В. Л. Комаровым 1 II 1939)

Открытие белковой природы вируса табачной мозаики поставило вопрос о том, какое место этот вирус занимает в обмене веществ растений. Нами были предприняты первые опыты для разрешения этой сложной проблемы. Мы поставили задачей выяснить, как идет образование вируса в больном растении при условии лишения его азота. Нормальное растение при этом, как известно, теряет часть своих белков. Спрашивается, может ли при голодании больное растение использовать отлагающийся в его клетках в виде кристаллов Ивановского вирус? Если нет, то будет ли при недостатке азота процесс накопления вируса идти так же интенсивно, как если бы растение получало достаточное количество азота?

Были заложены три серии опытов с помидорами. Растения выращивались сначала в нормальных условиях питания, затем часть растений заражали вирусом табачной мозаики, и после того, как они резко проявляли симптомы болезни (нитевидность листьев и мозаику), закладывался опыт.

Первая серия опытов носила ориентировочный характер. В ней участвовали здоровые растения в земле, здоровые растения в песке, поливаемые полноценным питательным раствором, и здоровые растения в песке, поливаемые питательным раствором, где азотокислая соль была заменена CaCl_2 . В первой серии растения находились в глиняных горшках, во второй и третьей сериях растения находились в вегетационных сосудах. Здоровые и больные растения были посажены в песок, который поливался нормальным питательным раствором или же лишенным азота с заменой CaCl_2 .

Разные серии опытов отличались по числу дней от посева до заражения и от заражения до лишения азота, как это видно из табл. 1.

Таблица 1

Через сколько дней после посева и заражения растения лишены азота

Серия	Дней после посева	Дней после заражения
1	38	29
2	52	32
3	27	16

В первой серии участвовало 159 растений, во второй—32 и в третьей—80. В один вегетационный сосуд помещалось 4—5 растений. Растения были изолированы в особых изоляционных ящиках от насекомых, что вело к известному их этиолированию.

В первой серии опытов, где лишение азота не было строго выдержано, так как растения росли в глиняных горшках, в процессе опыта мы не наблюдали никакой задержки в развитии растений, которые поливались питательным раствором без азота, но химический анализ показал, что и здесь количество белка у лишенных азота растений резко снижается. Во 2-й и 3-й сериях опытов лишенные азота растения отставали в росте и развивали меньше листочков, чем находившиеся в нормальных условиях.

Для того, чтобы определить титр вируса, мы брали листочки с больших растений, как лишенных азота, так и получавших азот, растирали их отдельно и сок разводили 99 или 999 частями $1/10$ N раствора Na_2HPO_4 . Титр вируса определялся по числу некрозов на листе *N. glutinosa*, причем одна половинка листа заражалась соком растений, получавших азот, а другая половинка—соком растений, которые его не получали. Результаты подвергались статистической обработке двояким способом. Во-первых, как это принято обычно в вирусологических исследованиях, принимались за варианты числа некрозов на половинке листа, во-вторых, принималась за варианты разность между числом некрозов на двух половинках одного и того же листа. Соответственно было вычислено два показателя достоверности (t): для величин, полученных по первому способу, и для величин, полученных по второму разностному методу. Соображения в пользу применения разностного метода при вычислениях достоверности определения титров приводятся в работе Рыжкова и Громыко [Микробиология (1939)].

В исследованиях, подобных нашему, необходимо считаться с тем, что вирус накапливается очень неравномерно в разных участках одного и того же листа, тем более следовательно в разных листьях. Индивидуальные вариации в титре вируса разных листьев могут быть ошибочно приняты за различие титра вируса у растений, находящихся в разных условиях питания. Для того, чтобы уменьшить эту ошибку, в каждом опыте брались листья с растений, получавших азот и лишенных его, из одного и того же яруса. Для того, чтобы нивелировать индивидуальные различия листьев, сок всегда выжимался из нескольких листочков, принадлежащих разным растениям. В табл. 2 приводятся результаты опытов.

Таблица 2

Титр вируса табачной мозаики у помидор в различных условиях питания

Материал	Число дней от начала опыта	Число листьев	Среднее число некрозов на $1/2$ листа <i>N. glutinosa</i> и ср. ошиб.		Различие в числах некрозов	t^1	t^2
			+N	-N			
I повт.	63	19	70.42±8.9	57.73±8.3	12.7 ±4.69	1.10	4.69
I повт.*	71	20	3.65±1.03	3.50±0.89	0.15±0.63	0.74	0.24
II повт.*	42	20	4.80±0.93	3.00±0.84	1.82±0.82	1.44	2.22
II повт.	77	50	71.30±6.03	74.90±6.19	3.60±2.67	0.416	1.35
II повт.	80	50	46.70±3.59	48.80±4.024	2.12±1.19	0.389	1.80
III повт.*	20	20	4.75±1.07	6.55±1.145	1.80±0.94	1.15	1.91
III повт.	31	20	7.85±1.62	10.90±2.78	3.05±2.78	0.95	1.08
III повт.	40	20	22.90±2.625	21.35±2.47	1.55±1.55	0.43	1.0
III повт.	51	46	21.48±1.725	24.15±1.88	2.67±1.17	1.047	2.28

Примечание: * разведение—1 : 1000, остальные 1 : 100; t^1 —вычисление непосредственным методом; t^2 —разностным методом.

Из этой таблицы мы видим, что различия в титре между опытом и контролем, вычисленные обычным методом, во всех случаях недостоверны. Если вычисление производится разностным методом, то только в одном

случае они становятся достоверными в пользу контроля и в одном-двух в пользу опыта. Эти данные позволяют сделать вывод, что в условиях лишения растения азота вирусный белок не только не пускается растением в обмен веществ, но и продолжает накапливаться, причем концентрация его в соке лишенного азота растения не ниже, чем в соке растения, питающегося нормально. Так как масса лишенного азота растения меньше, чем масса нормально питающегося, то абсолютное количество вируса в первом все же должно быть меньше, чем во втором.

Для характеристики отношения вирусного белка к синтезу белков плазмы больного растения очень важно то обстоятельство, что больные растения страдают от лишения азота гораздо больше, чем здоровые растения. Если в первой повторности мы вообще не наблюдаем внешних признаков азотного голодания, то во второй и третьей сериях опытов и здоровые, и больные растения без азота развивались хуже, чем с азотом, но отставание в развитии больных без азота было выражено гораздо резче, чем отставание в росте здоровых без азота. Особенно резко эти различия, бросающиеся в глаза сразу при взгляде на опытные растения, были выражены в третьей серии опытов, которая отличалась тем, что растения были лишены азота через наименьшее количество дней после посева и заражения и следовательно могли накопить меньшие запасы азота, чем их накопили растения в первых двух сериях. В табл. 3 мы приводим данные по 3-й серии опытов, характеризующие развитие опытных растений в процентах (соответствующая величина для здоровых растений с азотом принята везде за 100).

Таблица 3

Характеристика степени развития больного и здорового помидора при нормальном питании и без азота

Р а с т е н и е	Высота на 4 IX	Число листьев на 4 IX	Вес на 16 X	Сухой вес на 16 X
Здоровые +N	100.0	100.0	100.0	100.0
Здоровые -N	79.2	84.2	35.6	34.7
Больные +N	95.2	98.2	106.6	120.0
Больные -N	56.5	75.0	6.18	9.0

Таким образом можно считать установленным два факта: во-первых, что вирус при недостатке азота продолжает накапливаться и, во-вторых, что если больные растения в условиях нашего опыта при нормальном питании не обнаружили задержки развития, то, будучи лишенными азота, они страдают несравненно больше, чем здоровые. Эти два факта можно объяснить только таким образом, что при недостатке азота вирус продолжает строиться за счет «здоровых» белков растений. Вирусный белок ведет себя в этом случае, как типичный паразит.

Полученный результат невозможно было заранее предвидеть. Мы знаем, что в условиях голодания растения, у которых нормально встречаются в клетках белковые кристаллические образования, могут их использовать. Мы знаем, что даже симбиотические бактерии (клубеньковые бактерии) в известных условиях могут использоваться растительной клеткой. На основе этих опытов вирусный нуклеопротеид может быть охарактеризован как паразитический белок.

В ы в о д ы: 1. При лишении больных табачной мозаикой помидоров азота вирус продолжает накапливаться, и титр вируса в соке голодающих растений не ниже, чем в соке питающихся нормально. 2. Больные растения переносят лишение азота гораздо хуже, чем здоровые. 3. На основе произведенных опытов вирус табачной мозаики может быть охарактеризован, как паразитический белок.

Поступило
19 II 1939.