

ЭНЗИМОЛОГИЯ

М. И. ГОЛЬДИН

О ВЗАИМООТНОШЕНИИ МЕЖДУ ВИРУСОМ МОЗАИКИ ТАБАКА И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ В РАСТЕНИИ

(Представлено академиком А. А. Рихтером 11 XII 1939)

Аскорбиновая кислота принимает активное участие в различных и весьма существенных процессах, происходящих в живой клетке. Вирусы вызывают значительные сдвиги в биохимии клетки. Эти два агента, встречаясь в больном организме, могут вступать в определенные взаимоотношения, степень и характер которых весьма важно выяснить экспериментально.

Значение аскорбиновой кислоты при вирусных заболеваниях отмечалось неоднократно различными исследователями: Ломинский (1936 г.), Клиглер и Бернкопф (1937 г.), Амато (1937 г.), Лангебек (1937 г.), Мерциер (1938 г.) и др. установили инактивирующее действие аскорбиновой кислоты по отношению к вирусам: ящур, герпес, бешенство, оспа, а также к токсинам и бактериофагам. Согласно последним данным Юнгеблют (1) витамин С инактивирует вирус полимиэлита *in vitro*, а также *in vivo*. На основании своих исследований и литературных данных автор считает возможным утверждать: «аскорбиновая кислота является антивирусным и антитоксическим витамином». Этот вывод, несколько утрирующий действительное положение вещей, свидетельствует все же о существенной роли витамина С (аскорбиновой кислоты) при вирусных заболеваниях человека и животных. В последние годы были получены аналогичные данные и в отношении вирусов растений Пфанкух и Линдау (2), которыми было установлено, что вытяжки из клубней картофеля, пораженного вирусными заболеваниями, имеют повышенную редуцирующую способность. Как показали дальнейшие исследования Пфанкух (3), в клубнях картофеля, пораженного вирусным заболеванием, происходит незначительное повышение количества аскорбиновой кислоты. Повышение редуцирующей способности в больных клубнях автор объясняет, главным образом, сдвигом в области ферментативной деятельности (дегидрогеназа). Согласно данным Смита и Патерсона (4) клубни сортов картофеля, устойчивых по отношению к вирусным заболеваниям, содержат аскорбиновой кислоты больше, чем клубни восприимчивых сортов. Лойкин (5) установил, что восстановленная форма аскорбиновой кислоты полностью инактивирует чистый препарат вируса мозаики табака (препарат был получен по методу Стэнли). Инактивация происходит при окислении аскорбиновой кислоты атмосферным кислородом. Вирус мозаики табака, находящийся в вытяжке мозаичного табака, инактивируется не так быстро,

как очищенный препарат. Окисленная форма аскорбиновой кислоты вирус не инактивирует. По ориентировочным опытам автора в листьях мозаичных томатов содержится приблизительно такое же количество витамина С, как и в здоровых листьях.

В настоящем сообщении по вопросу о соотношении между аскорбиновой кислотой и вирусом мозаики табака мы приводим данные по учету количества аскорбиновой кислоты в листьях мозаичных растений. Количество восстановленной формы аскорбиновой кислоты определялось титрованием 2 : 6 дихлорфенолиндофенолом.

Мы пользовались следующей методикой. 2—3 г свежих листьев (жилки удалялись) растирались в ступке с песком. Затем вносилось 15 см³ смеси метафосфорной кислоты с 1 N серной кислотой (на 100 см³ 1 N H₂SO₄—2 г метафосфорной кислоты). Затем добавлялось еще 15 см³ этой смеси и снова растиралось 5—10 мин. Дважды фильтровалось через ватный фильтр. Для титрования бралось по 5 см³ фильтрата (на каждую пробу производилось три определения). Половина выделенных для опыта растений заражалась вирусом мозаики табака. Все подопытные растения, больные и здоровые, выращивались в одних и тех же условиях (почва, свет, температура, полив и т. д.). Для анализа брались листья соответственно одного яруса и по возможности одинаковые по размеру, приблизительно через месяц после заражения. Больные листья имели ярко выраженную мозаичную расцветку. Как видно из табл. 1, больные листья содержали меньше аскорбиновой кислоты, чем здоровые.

В следующих опытах нами исследовалось количество аскорбиновой кислоты в зеленых и светлых участках мозаичных листьев *N. tabacum*. Для анализа вырезались 1—2 г светлых участков и точно такое же количество зеленых участков с этих же листьев.

Таблица 1
Количество аскорбиновой кислоты в мг на 1 г листьев

Исследуемые растения	Здоровые*	Больные	% снижения количества аскорбиновой кислоты у больных
1) <i>N. tabacum</i> **	0,3098	0,2124	31,5
2) » »	0,2448	0,2082	14,9
3) » »	0,5058	0,4148	18
4) » »	0,5666	0,4248	25
5) » »	1,4202	1,1480	19,1
6) » »	1,4360	1,2636	12
7) <i>N. sylvestris</i>	0,2412	0,2016	16,4
8) » »	0,3608	0,2700	25,1
9) » »	0,2590	0,1760	31,7
10) <i>Lycopersicum esculentum</i>	0,4274	0,3671	14,1
11) То же	0,4620	0,3222	30,4

Определение витамина С в обеих этих пробах для большей сравнимости проводилось двумя лицами почти одновременно. Мы ожидали получить уменьшение количества аскорбиновой кислоты в светлых участках по сравнению с зелеными, так как известно, что вирус концентрируется

* Все здоровые растения проверялись на отсутствие вируса, и только после этого испытания принимались в расчет.

** Табаки (больные и здоровые) № 1 и 2 находились в изоляторе. № 3 и 4—в теплице, № 5 и 6 выращены на открытом участке.

в светлых участках. Как видно из табл. 2, наше предположение вполне оправдалось.

Чем можно было бы объяснить снижение количества аскорбиновой кислоты в районе деятельности вируса?

Согласно данным Гутри, Кук, Купревич, Петерсон и Мак Кинни и др. (6-9) у мозаичных растений меньше хлорофилла, чем у здоровых. По данным Жиру, Дишендорфен и др. (10-11) судьба аскорбиновой кислоты в растительной клетке тесно и непосредственно связана с деятельностью хлоропластов. Отсюда, казалось бы, можно сделать вывод, что снижение количества витамина С у мозаичных растений происходит вследствие уменьшения количества хлорофилла. Однако ряд фактов заставляет нас искать иного ответа.

1) У баклажан и некоторых других растений при заболевании вирусом мозаики табака, несмотря на явное накопление вируса, мозаичная расцветка очень часто отсутствует.

2) При определенных условиях у табаков и томатов может исчезнуть мозаичность при наличии большого количества вируса.

3) Согласно нашим исследованиям у табака, пораженного вирусом мозаики табака, листья, не имеющие светлых пятен, могут содержать больше вируса, чем листья этого же растения, имеющие резкую мозаичную расцветку.

4) На плантациях и в тепличных условиях нередко встречаются мозаичные растения, у которых большая часть листа приобретает темнозеленый цвет, гораздо более темный, чем у растений здоровых—контрольных.

Все эти факты говорят о возможном разрыве между накоплением вируса и разрушением или задержкой в развитии хлоропластов.

Исходя из этих данных, можно полагать, что разрушение или задержка в развитии хлоропластов (внешне это проявляется в данном случае в виде мозаичной расцветки) не является сущностью вирусного заболевания. Для экспериментального подтверждения этого положения нами были исследованы табаки, пораженные вирусом мозаики, у которых была темнозеленая мозаика (гипертрофия зеленых пятен). В качестве контроля были использованы здоровые растения, выращенные в тех же условиях и имеющие нормальную зеленую окраску листьев. По половине листьев с этих растений бралось для определения количества хлорофилла спектроколориметрическим методом. В оставшихся половинках определялась аскорбиновая кислота.

Как видно из табл. 3, мозаичные листья, имеющие темнозеленые пятна, содержали больше хлорофилла, чем листья здоровых табаков. Аскорбиновой кислоты и в этом случае у больных было меньше, чем у здоровых. Следовательно, мы можем утверждать, что снижение количества аскорбиновой кислоты при заболевании вирусом мозаики табака не находится в непосредственной, причинной связи с состоянием хлорофильного аппарата.

Дальнейшее изучение динамики накопления и разрушения восстановленной и окисленной формы аскорбиновой кислоты, а также учет деятельности аскорбиназы в больном и здоровом растении позволят выяс-

Таблица 2

Количество аскорбиновой кислоты в мг на 1 г светлых и зеленых участков мозаичных листьев

№ проб	Зеленые участки	Светлые участки	% снижения количества аскорбиновой кислоты в светлых участках
1	0,5820	0,4306	27,4
2	0,5994	0,5184	13,5
3	0,6012	0,4878	18,9
4	0,7982	0,6858	14
5	0,4887	0,4401	10
6	0,4056	0,3720	8,3

Таблица 3
Количество хлорофилла и аскорбиновой кислоты в листьях *N. tabacum*, пораженного вирусом мозаики табака (у этих растений листья имеют темнозеленые пятна), и в листьях здоровых растений

№ проб	Количество аскорбиновой кислоты в мг на 1 г листьев		% снижения количества аскорбиновой кислоты у больных	Количество хлорофилла в г на 1 кг листьев	
	больных	здоровых		больных	здоровых
1	1,1204	1,4128	20,8	3,80	3,12
2	1,2742	1,5446	17,5	3,27	2,73
3	1,1231	1,2120	7,3	4,11	3,36
4	1,1986	1,7651	32,1	3,39	2,60

нить, какие именно процессы управляют соотношением вирус—аскорбиновая кислота.

Полученные нами данные имеют значение для подкрепления следующего положения. Если параллельное изучение биохимии больного и здорового растения дает возможность выяснить основные свойства вируса, то в свою очередь такого рода исследования могут оказаться удобным приемом для выяснения некоторых трудно уловимых процессов, происходящих в нормальной клетке. Так, например, на основании полученных нами данных мы можем отметить отсутствие причинной, непосредственной связи между деятельностью хлоропласта и балансом витамина С в растительной клетке.

Лаборатория вирусов растений
Института микробиологии
Академия Наук СССР

Поступило
14 XII 1939

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ W. Jungeblut, Journ. of Exp. Medicine, 70, 3 (1939). ² E. Pfankuch u. G. Lindau, Biochem. ZS., 277, 1—2 (1935). ³ E. Pfankuch, Ibid., 279, 1—2 (1935). ⁴ A. Smith a. W. Paterson, Biochem. Journ., 31, 11 (1937). ⁵ M. Loykin, Contrib. from Boyce-Thompson Institute, 8, 4 (1936). ⁶ J. Gutrie, Amer. Journ. of Botany, 26, 9 (1929). ⁷ M. Cook, Journ. Dep. Agr. Porto-Rico, 14 (1930). ⁸ В. Купревич, К физиологии больного растения (диссертация) (1934). ⁹ P. Peterson a. H. McKinney, Phytopathology, 28, 5 (1938). ¹⁰ A. Giroud, Protoplasma-Monographien, 16 (1936). ¹¹ O. Dischendorfen, Arch. Pharm., 275 (1937).