

МИКРОБИОЛОГИЯ

К. С. СУХОВ и Г. С. НИКИФОРОВА

**ВЕЛИЧИНА ЧАСТИЦ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ
В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ РЕПРОДУКЦИИ И В УСЛОВИЯХ ЛИШЕНИЯ
АЗОТА РАСТЕНИЯ-ХОЗЯИНА**

(Представлено академиком А. И. Опариным 23 III 1953)

Вопрос о способе репродукции фитопатогенных вирусов остается до сих пор открытым. Некоторый материал для решения этого вопроса может дать изучение морфологии вирусных частиц в разные периоды репродукции вируса. По опубликованным в литературе работам, размер частиц вируса табачной мозаики, экстрагируемого из мозаичных листьев, неодинаков в различные периоды болезни. Однако в этих работах минимальный период инфекции составлял пять дней. В течение такого длительного срока накопление вируса успевает продвинуться далеко вперед, что могло затруднить сопоставление морфологии частиц разного возраста. Мы резко сократили этот период, доведя его до 14—15 часов.

Препараты вируса для электронной микроскопии готовились следующим образом. Поскольку мы исследовали вирус в ранний период репродукции, когда его накапливается еще мало и основная масса частиц заключена в эпидермисе и прилежащих клетках паренхимы, для экстракции служили только пленки эпидермиса. Заражению подвергалась нижняя поверхность листьев, так как отделение эпидермальной пленки с нижней стороны листа осуществляется гораздо легче, чем с верхней.

Отмытые пленки эпидермиса растирались в ступке с небольшим количеством воды. Полученная масса центрифугировалась, и поверхностная жидкость использовалась для получения препаратов на сеточках. Препараты напыливались хромом. На препаратах, следовательно, находились частицы вируса, диспергированные предварительно в экстракте. Этот материал позволял сравнивать линейные размеры частиц, но не мог быть использован для выяснения взаимосвязи между частицами, например их агрегации или, наоборот, диффузного распределения, которое они могли иметь прижизненно в растительных клетках.

На опытных препаратах исследовался вирус, экстрагированный из эпидермиса спустя 14—15 час. после заражения. Контрольные препараты готовились из экстрактов эпидермиса мозаичных листьев, давность заражения которых была более одного месяца.

Сопоставление размеров частиц в молодых и старых культурах вируса было проведено при непосредственном просмотре препаратов под электронным микроскопом. Преобладающая длина частиц, колеблющаяся около 300 м μ , а также все размеры, превышающие две трети этой величины, относились нами, в соответствии с литературными данными, в группу «нормальной» длины частиц. Частицы, имеющие отчетливо меньшую длину, относились в группу «коротких» частиц. Агрегированные частицы, достигающие по длине 600 и больше м μ , не учитывались.

На препаратах 15-часового вируса в общей сложности было учтено 1553 частицы из них 62,5% составили «нормальные» частицы и 37,5% — частицы «короткие». На контрольных препаратах из 1192 частиц 87,5% составили частицы «нормальные» и только 12,5% «короткие» (см. табл. 1). Следовательно, в ранний период репродукции вируса доля «коротких» частиц значительно выше, чем в поздний период. Найденные отношения для молодой культуры вируса характеризуют период наиболее интенсивной его репродукции. В поздний период инфекции репродукция вируса, наоборот, сведена к минимуму, и основная масса вирусных частиц связана в кристаллических внутриклеточных включениях. Этому позднему периоду отвечает максимальное количество «нормальных» по длине частиц.

Приведенное сравнение было сделано на препаратах вируса, культивированного в тканях растений табака, содержащихся в хороших условиях питания. Мы исследовали также морфологию вирусных частиц, культивированных в проростках томата, лишенных источников минерального азота.

Для этой цели семена томата высевались в стеклянные сосуды с песком, куда были внесены все составные части питательной смеси Гельригеля, за исключением азотсодержащих солей. Единственным источником азота для развивающихся проростков был азот, заключенный в семени. В этих условиях проростки достигали ничтожного роста в 3—4 см, развивали 1—2 зачаточных листочка, и на этом их развитие останавливалось. Растеньица были сильно хлоротичны, и продолжительность их жизни составляла около двух месяцев. Многие проростки отмирали еще раньше. Несмотря на крайнюю депрессию в росте и развитии растений, заражение приводило к постепенному накоплению в их тканях большой концентрации вируса. В первый период после заражения концентрация вируса в голодающих проростках заметно отставала от концентрации в контрольных, нормально питающихся растениях, но со временем концентрация вируса уравнивалась с контролем, и только незадолго до гибели проростков инфекционность их тканей заметно падала. Последнее обстоятельство указывает на то, что резкие изменения в метаболизме растения-хозяина в период наибольшей его депрессии вызывают какие-то нарушения в вирусных частицах, приводящие их к инактивации, а, может быть, и к денатурации и распаду.

Для электронных препаратов была использована двухнедельная культура вируса из голодающих проростков. Препараты вируса, экстрагированного из нормально питавшихся и зараженных в тот же срок растений томата, служили контролем.

Просмотр в общей сложности более 7000 вирусных частиц на опытных и контрольных препаратах показал, что в голодающих проростках количество «коротких» частиц достигает 50% при 13,6—13,8% их содержания в контрольных препаратах (см. табл. 1).

Следовательно, смещение в сторону повышения числа «коротких» частиц было обнаружено нами в разных условиях: в молодой культуре вируса, накапливающегося в нормально питавшихся растениях, и в двухнедельной, т. е. старой культуре, воспитанной в условиях острого азотного голодания растения-хозяина, при сильнейшем нарушении его обмена веществ, при полной остановке его роста и развития.

Можно предполагать, что биологическое значение найденных сдвигов в рассматриваемых двух случаях различно. Повышение числа «коротких» частиц в молодой культуре, повидимому, связано с интенсивной репродукцией вируса. Из литературы известно, что «короткие» частицы вируса табачной мозаики, выделенные из сока нормально питавшихся мозаичных растений, не обладают инфекционностью или обладают ею лишь в слабой степени. Отсутствие инфекционности у «коротких» частиц указывает на какую-то их неполноценность и могло бы быть объяснено не-

Таблица 1

Соотношение „нормальных“ и „коротких“ частиц вируса в зависимости от возраста инфекции и от снабжения растения-хозяина азотом

Характер вируса	Число учтенных частиц			В %	
	„нормальных“	„коротких“	всего	„нормальных“	„коротких“
15-часовой	970	583	1553	62,5	37,5
1 ¹ / ₂ -месячный	1043	149	1192	87,5	12,5
При лишении N (учет на фото)	1167	1103	2270	51,5	48,5
Контроль	1092	172	1264	86,4	13,6
При лишении N (учет непосредственный)	1263	1218	2481	50,9	49,1
Контроль	1710	274	1984	86,2	13,8

достаточностью их физико-химической структуры. Возможно, что новые частицы вируса формируются при репродукции этапами и завершению их структуры отвечает определенная, достаточно большая масса частицы. За нижним порогом этой массы частица оказывается недоразвитой и поэтому лишена ряда биологических свойств, в том числе инфекционности. При повышении интенсивности репродукции вируса должно было бы повышаться и число «коротких», незрелых частиц. При таком толковании можно было бы объяснить и полученный нами результат по смещению числа «коротких» частиц вируса в молодой культуре, воспитанной в нормально питающихся растениях.

Это предположение едва ли можно использовать для второго случая, когда число «коротких» частиц оказалось сильно возросшим в старой культуре из проростков томата, лишенных азота. В этом опыте инфекционность (титр) вируса из голодающих проростков была не ниже, чем в контроле, хотя половина вирусных частиц в опыте относилась к «короткой» группе. Это вынуждает принять, что по крайней мере часть «коротких» частиц обладала инфекционностью. Мы склонны предполагать, что вирусу, подобно всем живым существам, присуща своя амплитуда нормы реагирования на внешние условия, сказывающаяся на массе и длине его частиц. Можно допустить, что «нормальная» длина и масса вирусных частиц не являются в любых условиях тем минимумом, за порогом которого вирус утрачивает способность к репродукции, а следовательно, и свою инфекционность. Малый размер частицы в одних условиях может диктоваться незавершенностью структуры, в других же условиях — меньшей затратой вещества при формировании биологически полноценной частицы. Возможно, что в условиях недостатка в необходимых субстратах, например при лишении азота растения-хозяина, построение вирусных частиц может протекать более экономно, с образованием частиц уменьшенной массы.

В заключение выражаем искреннюю благодарность А. М. Золковой за помощь, оказанную нам в электронной микроскопии.

Институт генетики
Академии наук СССР

Поступило
26 I 1953