

МИКРОБИОЛОГИЯ

Член-корреспондент АН СССР В. Л. РЫЖКОВ и Н. К. МАРЧЕНКО

**ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ МЕТАБОЛИТОВ НА РАЗМНОЖЕНИЕ
ВИРУСА МОЗАИЧНОЙ БОЛЕЗНИ ТАБАКА**

В работе сообщаются данные о влиянии некоторых кислот, участвующих в дыхании растений, а также витаминов на размножение вируса мозаичной болезни табака (ВТМ). Методика опытов была описана ранее (¹). Листья отрезались от табачного растения и инокулировались ВТМ, после чего разрезались вдоль средней жилки пополам. Одни половинки помещались морфологически верхней стороной в раствор испытуемого вещества, а другие (контрольные) таким же образом погружались в воду. Через несколько дней определялся титр вируса в опытных и контрольных половинках листа по числу некрозов, которые этот вирус давал на листьях *Nicotiana glutinosa*. Опыты с органическими кислотами, встречающимися в табачных растениях, представляли особый интерес, так как их влияние на метаболизм изолированных листьев табака было в последнее время изучено довольно подробно (²⁻⁶). Из этих работ мы знаем, что лимонная, янтарная, яблочная и другие кислоты, входящие в так называемый цикл Кребса, могут взаимно переходить друг в друга в табачном листе. Эти кислоты резко повышают дыхание табачных листьев, потребление углеводов и белковый обмен. Малоновая кислота обладает способностью подавлять дыхание табачных листьев. Щавелевая кислота, будучи введена в табачные листья, не используется ими.

В табл. 1 приведены данные, касающиеся влияния перечисленных кислот на размножение ВТМ. Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке. Следует отметить, что существует значительная литература, посвященная вопросу о методах статистической обработки данных по титрованию ВТМ. Число некрозов на отдельных листьях подвержено очень сильным колебаниям не только вследствие разной чувствительности этих листьев, но и вследствие разного их размера. Были предложены различные методы для того, чтобы уменьшить значение этих вариаций (^{7,8}). В этой работе мы не прибегали ни к одному из этих методов, что снижает показатели статистической достоверности получаемых результатов, но зато избавляет нас от всяких упреков в искусственных приемах обработки материалов и придает данным большую наглядность, так как приводятся непосредственно полученные величины. В наших опытах применялась довольно длительная экспозиция листьев в растворах органических кислот. В этих условиях листья легко переносили 0,01 молярные растворы янтарной, яблочной и щавелевой кислот, тогда как фумаровая, лимонная и малоновая кислоты в этих концентрациях оказывались токсичными, и мы вынуждены были брать более низкие их концентрации.

Из табл. 1 видно, что яблочная кислота во всех опытах повышала титр вируса, причем в ряде опытов этот эффект был статистически вполне достоверным. Фумаровая кислота в 4 опытах из 5 повышала титр вируса, однако ни в одном опыте этот эффект не оказался статистически достоверным. Следует отметить, что в большей части опытов по указан-

Таблица 1

Влияние некоторых кислот на размножение ВТМ (титр вируса выражен средним числом некрозов на половину листа *N. glutinosa*; число листьев *N. glutinosa* в каждом опыте около 20)

Кислота и ее концентрация	Титр вируса		Достоверность различия (t)	Продолжит. опыта в сутк.
	опыт	контроль		
Яблочная 0,01 М	32,4 ± 3,7	25,5 ± 3,2	< 2	5
	22,4 ± 2,7	5,7 ± 0,65	5,9	7
	4,2 ± 0,9*	0,6 ± 0,31*	3,7	7
	43,2 ± 2,9	35,0 ± 2,9	< 2,0	7
	36,0 ± 1,7	18,9 ± 3,2	< 4,7	7
Янтарная 0,01 М	35,5 ± 4,6	36,3 ± 2,4	< 2	6
	18,1 ± 7,7*	7,9 ± 1,6*	< 2	6
	5,95 ± 4,05	9,2 ± 2,6	< 2	6
	22,9 ± 2,4	18,2 ± 2,3	< 2	6
	37,2 ± 3,3	22,0 ± 2,2	3,8	6
Лимонная 0,001 М	41,0 ± 5,6	44,7 ± 4,8	< 2	5
	4,1 ± 0,6*	5,0 ± 0,96*	< 2	5
Лимоннокислый натрий 1:5000 . .	32,0 ± 3,9	31,6 ± 4,1	< 2	7
Фумаровая 0,01 М	19,5 ± 2,28	14,2 ± 1,62	< 2	7
	5,8 ± 0,8	3,5 ± 0,6	< 2	7
" 1:10000	55,9 ± 8,2	51,3 ± 8,6	< 2	7
	4,9 ± 0,9	3,2 ± 0,7	< 2	7
	23,5 ± 2,9	25,6 ± 3,1	< 2	7
Малоновая 1:10000	2,1 ± 0,5	36,2 ± 4,1	8,3	7
	14,5 ± 1,4	22,4 ± 1,9	3,3	7
	9,1 ± 2,7	12,1 ± 2,7	< 2	7
	6,9 ± 1,1	11,4 ± 1,3	2,6	7
Фумаровая 1:10000 + малоновая 1:10000	45,7 ± 9,9	32,2 ± 7,0	< 2	10
	24,7 ± 2,6	27,3 ± 3,4	< 2	6
Щавелевая 0,01 М	21,8 ± 1,9	32,7 ± 2,3	3,3	5
	3,2 ± 2,5*	14,8 ± 3,2*	2,8	5
	10,5 ± 1,5	49,8 ± 3,6	10	5

* Звездочкой обозначены случаи повторного титрования при разведении сока 1:10. Данные титрования без разведения приведены над цифрами, отмеченными звездочкой.

ным выше причинам фумаровая кислота употреблялась в концентрациях ниже 0,01 М. Эффект янтарной кислоты также не был постоянным, и только в одном опыте она дала статистически достоверное повышение титра вируса. Лимонная кислота давала то повышение титра вируса, то его снижение, причем эффект во всех случаях статистически недостоверен. Малоновая кислота во всех опытах снижала титр вируса, причем по большей части это влияние было статистически достоверным. Далее, как видно из табл. 1, эффект малоновой кислоты мог быть снят фумаровой кислотой. Известно, что малоновая кислота является специфическим подавителем цикла Кребса, и снятие при помощи фумаровой кислоты подавления размножения ВТМ указывает, что малоновая кислота тормозит это размножение через воздействие на цикл Кребса. Щавелевая кислота оказалась довольно мощным подавителем размножения ВТМ.

Само собой разумеется, что во всех опытах рН растворов кислот доводилось до близкого к нейтральному путем прибавления КОН.

Полученные данные показывают, что в голодающих листьях табака кислоты, участвующие в цикле Кребса, в отдельных случаях могут спо-

способствовать усилению размножения ВТМ. Испытанные кислоты оказались эффективными в различной степени, что может зависеть от различных причин. Само собой разумеется, что рассматриваемые здесь кислоты не только повышают дыхание листьев, но и обладают другим разносторонним влиянием. Как мы видели, некоторые из них в значительных концентрациях токсичны, что может парализовать их благоприятный эффект на размножение ВТМ. Особенно четким оказался эффект яблочной кислоты, что представляет значительный интерес в связи с ее участием в фотосинтетических реакциях. Мы не входим здесь в рассмотрение литературы, касающейся вирусов, патогенных для животных и человека. Упомянем только, что в литературе неоднократно отмечалось значение цикла Кребса для размножения этих вирусов. Само собою разумеется, что опыты, подобные приведенным выше, ни в какой мере не указывают на то, что вирус непосредственно использует энергию дыхания за счет органических кислот. Они только показывают, что повышение интенсивности дыхания тканей растения за счет этих кислот создает благоприятные физиологические условия для размножения вируса. Следует также учитывать и то обстоятельство, что рассматриваемые здесь органические кислоты могут использоваться растением для синтеза аминокислот (9), а также стимулировать синтез белков (10).

В табл. 2 приведены данные, касающиеся влияния витаминов на размножение ВТМ. Из этой таблицы видно, что полученные нами ранее данные о стимуляции размножения ВТМ фолиевой кислотой (11) получают

Таблица 2

Влияние некоторых витаминов на размножение ВТМ

Вещество и его концентрация	"Титр вируса"		Достоверность различия (t)	Продолжит. опыта в сутк.
	опыт	контроль		
Фолиевая кислота 1:1000	70,2 ± 7,0	61,6 ± 6,7	< 2	5
	10,1 ± 2,1*	3,9 ± 1,1*	2,6	5
	72,3 ± 7,5	44,6 ± 4,8	3,1	7
	16,8 ± 1,2*	7,5 ± 1,08*	5,7	8
	101,7 ± 16,3	77,4 ± 16,3	< 2	8
	37,6 ± 5,4*	22,5 ± 2,7*	2,5	8
	22,7 ± 3,3	17,0 ± 3,0	< 2	7
Пиридоксин 1:5000	17,7 ± 1,3	14,1 ± 1,5	< 2	7
	51,2 ± 4,0	38,5 ± 3,3	2,4	7
Амид никотиновой кислоты 1:1000	11,5 ± 2,2	31,3 ± 4,2	4,2	4
То же 1:5000	6,2 ± 1,0	9,2 ± 1,0	2,0	4
	7,5 ± 1,2	26,9 ± 3,4	5,3	4
Тиамин 0,05%	6,2 ± 1,1	22,3 ± 2,7	5,5	5
Пиримидиновый компонент тиамина 0,05%	24,2 ± 4,2	50,5 ± 7,9	2,9	5
	20,7 ± 1,5	49,8 ± 5,8	4,8	7
	96,3 ± 8,7	100,4 ± 8,8	< 2	7
Тиазоловый компонент тиамина 0,05%	1,5 ± 0,7	55,5 ± 9,1	5,8	5
	20,9 ± 2,3	33,9 ± 3,9	2,7	7
	68,1 ± 5,0	85,6 ± 8,9	< 2	7
Пиримидиновый 0,05% + тиазоловый 0,05% компоненты тиамина . . .	21,7 ± 2,6	36,1 ± 3,6	3,2	

* Обозначения те же, что в табл. 1.

подтверждение. Стимуляция наблюдалась во всех опытах, причем в части их она была статистически достоверной. Пиридоксин несколько стимулировал размножение ВТМ, но этот эффект не был ни постоянным, ни достоверным. Амид никотиновой кислоты резко угнетал размножение ВТМ. Ранее было показано, что тиамин подавляет размножение ВТМ ⁽¹²⁾, что получило подтверждение в литературе ⁽¹³⁾. В этой работе мы поставили задачей выяснить, могут ли подавлять размножение ВТМ отдельные компоненты молекулы тиамина. Из табл. 2 видно, что и пиримидиновая и тиазоловая части этой молекулы подавляют размножение ВТМ; хотя эффект этот и менее значителен, чем эффект тиамина, однако по большей части он достоверен.

Работы по изучению влияния метаболитов на размножение ВТМ начаты 16 лет назад ⁽¹⁴⁾ и в настоящее время получили довольно широкий размах. В связи с их развитием хотелось бы сделать несколько общих замечаний. Если на первых этапах исследований преимущественное внимание привлекали поиски подавителей размножения вирусов, то в настоящее время мы располагаем не только подавителями, но также стимуляторами этого размножения и, следовательно, приближаемся к моменту, когда мы будем располагать средствами полного контроля над процессом размножения ВТМ. Некоторые стимуляторы этого размножения, по-видимому, действуют очень косвенно, как, например, углеводы или органические кислоты, путем повышения общего тонуса тканей, в которых происходит размножение вирусов. В последнее время стал известен, однако, по крайней мере один стимулятор, а именно фолиевая кислота, который действует, может быть, более специфически.

В работах по влиянию метаболитов на размножение ВТМ обнаружилось еще одно важное обстоятельство, которое состоит в том, что ВТМ крайне чувствителен к определенному равновесию метаболитов. Отдельные метаболиты, всегда нормально присутствующие в табачном листе, как аминокислоты ⁽¹⁴⁾, тиамин, амид никотиновой кислоты и др., находясь в избытке, подавляют размножение ВТМ, другие же, как фолиевая кислота, при увеличении их количества стимулируют это размножение. Эти данные нельзя не привлечь при рассмотрении общих вопросов иммунитета растений к вирусам. По большей части принимаются во внимание только какие-либо специальные защитные механизмы и инактиваторы вируса, значение которых, собственно говоря, фактически никто никогда не показал. Надо думать, что в иммунитете растений к вирусам очень большую роль могут играть соотношения метаболитов, свойственные данному виду растений и неблагоприятные для размножения ВТМ.

Институт вирусологии
им. Д. И. Ивановского
Академии медицинских наук СССР

Поступило
7 VII 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Л. Рыжков, В. А. Смирнова, О. С. Городская, Биохимия, 11, № 3 (1946). ² G. Pucher, H. Vickery, J. Biol. Chem., 178, 2 (1949). ³ G. Pucher, H. Vickery, *ibid.*, 180, 1 (1949). ⁴ H. Vickery, Ch. Hargreaves, *ibid.*, 196, 1 (1952). ⁵ H. Vickery, Ch. Hargreaves, *ibid.*, 197, 1 (1952). ⁶ E. Eichenberger, Ber. Schweizer. Botan. Gesellsch., 62, 1 (1952). ⁷ В. Л. Рыжков, В. А. Смирнова, ДАН, 23, № 1 (1939). ⁸ A. Kleczkowski, App. Appl. Biol., 36, 1 (1949). ⁹ R. Roberts, P. Abelson, Science, 117, No. 3044, 471 (1943). ¹⁰ S. Fox, Proc. Nat. Acad. Sci., 37, 5 (1951). ¹¹ В. Л. Рыжков, Н. К. Марченко, ДАН, 86, № 3 (1952). ¹² В. Л. Рыжков, К. С. Сухов, Биохимия, 9, № 4 (1944). ¹³ M. Weintraub, T. Gilpatrick, R. Willison, Phytopath., 42, 8 (1952). ¹⁴ В. Л. Рыжков, Е. П. Громыко, Микробиология, 7, № 8 (1938).