Доклады Академии Наук СССР
1954. Том XCIX, № 5

ФИТОПАТОЛОГИЯ

М. И. ГОЛЬДИН

ВКЛЮЧЕНИЯ У ИВАН-ДА-МАРЬИ (MELAMPYRUM NEMOROSUM)

(Представлено академиком В. Н. Сукачевым 11 X 1954)

В руководствах по анатомии растений приводятся рисунки своеобразных белковых кристаллов, находящихся внутри ядер, хлоропластов или в протоплазме растений различных видов и семейств. Удивительно, что только в 2—3 случаях белковая природа этих образований была установлена на основании специальных цитохимических реакций. У большинства видов растений они были причислены к белковым включениям только по аналогии.

Нахождение белковых включений, которые, как, например, у представителей из семейства норичниковых, заполняют ядра настолько, что они увеличиваются в своих размерах в 2—3 раза, имеет весьма существенное значение. Если эти включения представляют собой отложение запасных веществ, то как объяснить их скопление в ядрах, или в других случаях, в хлоропластах? И действительно ли эти образования всегда являются именно белковыми кристаллами? В работе В. Л. Рыжкова (1) устанавливается ряд интересных особенностей внутриядерных включений у погремка и Иван-да-Марьи. В частности, на основании ряда цитохимических реакций он берет под сомнение представление о том, что внутриядерные кристаллы у этих растений являются белками. Так как, помимо исследований Рыжкова, химический состав включений у Иван-да-Марьи и других представителей этого семейства не был установлен, мы решили провести их цитохимическое изучение.

При осуществлении химических исследований внутриклеточных образований необходимо учитывать их исключительно малые количества и особенности их состояния в каждом данном случае (примеси различных веществ, составляющих как бы оболочку, внутри которой скрыты искомые соединения, степень растворимости и т. д.). Так например, нингидриновая реакция, применяемая для обнаружения белков, при испытании нами включений у Иван-да-Марьи, согласно прописи, не дала положительного результата. Но по нашим данным, она также оказалась отрицательной при исследовании вирусных кристаллов (кристаллов Ивановского), возникающих в тканях пасленовых, пораженных вирусом мозаики томатов, между тем как наличие белка в кристаллах Ивановского безусловно доказано. Когда же мы кипятили испытуемые срезы не 1 мин., как это рекомендуется (2), а 5—10 мин., то и кристаллы Ивановского и внутриядерные включения у Иван-да-Марьи приобрели характерную для белковых соединений ярко синюю или лиловую окраску. В дальнейшем все испытания включений у Иван-да-Марьи мы проводили под контролем, в одинаковых условиях и одновременно с кристаллами Ивановского. Как видно из табл. 1, внутриядерные кристаллы у Иван-да-Марьи проявляют себя как белковые соединения.

Таблица 1

Отношение включений Иван-да-Марьи и кристаллов Ивановского к реакциям на белок

Реактив	Реакция
0,2% нингидрин	Синее или лиловое окрашивание
Рапсаля	Ярко красное »
Люголя	Коричневое »
Насыщенный раствор пикриновой кислоты	Ярко желтое »
Ксантопротеиновая реакция	От концентрированной азотной кислоты включения пожелтели. После прибавления аммиака кристаллы стали ярко желтыми. Через некоторое время они приобрели оранжево-желтый цвет
Биуретовая реакция	Слабоположительная

В наших исследованиях мы не случайно сравнивали белковые кристаллические включения Иван-да-Марьи с вирусными включениями Ивановского. Дело в том, что многочисленные включения, описанные у здоровых растений, во многих отношениях поразительно сходны с различными отложениями вирусных частиц. Больше того, много лет назад ([3]) были описаны нитевидные включения в протоплазме листьев тыквен-

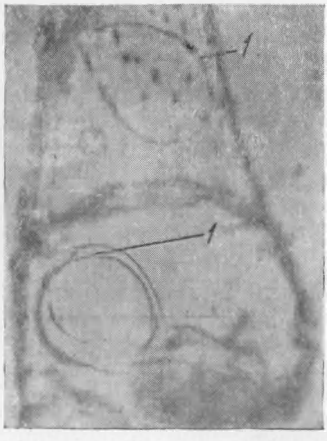


Рис. 1. Нитевидные (в виде кольца) включения в волоске листа огуречного растения, пораженного вирусом Cucumis virus 2

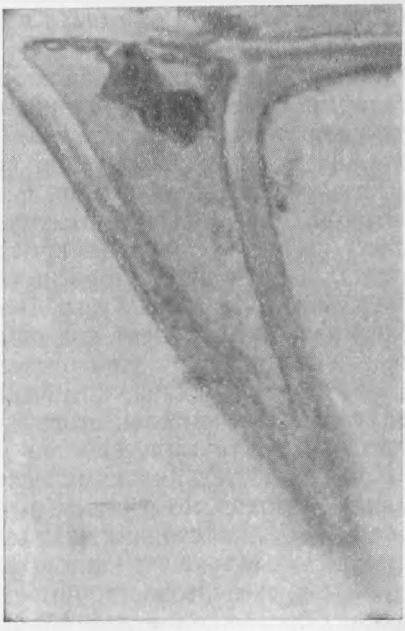


Рис. 2. Внутриядерные включения в волоске Иван-да-Марья. Окрашено по Унна

ных. Эти нитевидные кристаллы рассматривались как своеобразные скопления резервных веществ, накопляющихся в тканях здоровых растений. В 1953 г. в листьях огурцов, пораженных вирусом мозаики, нами были обнаружены также нитевидные кристаллы. При этом было доказано, что эти образования являются одной из форм вирусных включений возникающих у растений, пораженных вирусом из группы Cucumis virus 2.

Еще в конце XIX века у эпифиллум и у других «здоровых» кактусов были описаны белковые кристаллы ([4]), которые также рассматрива-

лись как продукты обмена здорового растения. В обстоятельной работе Розенцопф [5] доказано, что эти включения возникают у кактусов только в результате вирусного заболевания. Есть основание предполагать, что некоторые из белковых включений у здоровых растений или многие из них окажутся отложением вирусных частиц, хотя никаких внешних признаков вирусных заболеваний пока обнаружить у них не удалось.

Нами было обследовано большое число растений Иван-да-Марьи, собранных в различных районах Подмосковья. Во всех случаях в тканях этих растений были обнаружены внутриядерные включения. В то же время самый внимательный просмотр не позволил обнаружить каких-либо внешних признаков заболевания.

Известно, что все до сих пор исследованные вирусы растений представляют собой рибонуклеопротеидные соединения.

Исходя из указанных соображений и доказав предварительно, что включения у Иван-да-Марьи содержат белки, мы сделали попытку обнаружить в них нуклеопротеиды. После обработки срезов последовательно растовором Люголя, гипосульфитом и по Гимза внутриядерные включения Иван-да-Марьи окрасились в ярко красный цвет, что должно указывать на присутствие в них рибонуклеиновой кислоты [6]. Точно так же окраска по Унна [1] срезов ткани Иван-да-Марьи, которые фиксировались пикриновой или 5% трихлоруксусной кислотой, дала красное окрашивание включений.

Для контроля в наших дальнейших опытах часть срезов ткани Иван-да-Марьи в целях удаления нуклеиновых кислот обрабатывалась в течение 5 мин. 5% раствором трихлоруксусной кислоты без нагрева, и другая часть при 90° в течение 30 мин. При этом только в срезах, обработанных без нагрева, включения окрасились по Унна в красный цвет. Эти данные дают некоторое основание предполагать, что белковые включения у Иван-да-Марьи, а возможно, и у других растений, являются не просто белками, а нуклеопротеидами. Можно предположить, что ряд включений у здоровых растений, если они не идентичны, то аналогичны вирусным включениям. Возможно, что между ними имеется и филогенетическая связь.

Институт микробиологии
Академии наук СССР

Поступило
11 X 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] В. Л. Рыжков, ДАН, **78**, № 2, 363 (1951). [2] Д. Глик, Методика гисто- и цитохимии, ИЛ, 1950. [3] A. Zimmermann, Die Cucurbitaceen, **1**, 1922, S. 192. [4] H. Molisch, Ber. Deutsch. bot. Ges., **3**, 195 (1885). [5] E. Rosenzopf, Phyton, **3**, 95 (1951). [6] Y. Bald, Phytopath., **39**, 5, 395 (1949).