Доклады Академии наук СССР
1955. Том 104, № 5

МИКРОБИОЛОГИЯ

К. С. СУХОВ и Г. С. НИКИФОРОВА

КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ВКЛЮЧЕНИЯ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ В ПЛАСТИДАХ МОЗАИЧНОГО ТАБАКА

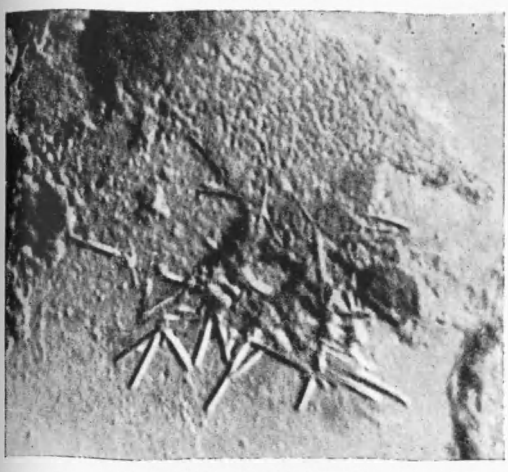
(Представлено академиком А. И. Опариным 24 V 1955)

Большинство вирусов, вызывающих заболевания растений типа мозаики, хорошо размножаются в клетках паренхимы. Для вируса табачной мозаики главной тканью, где он накапливается особенно интенсивно, является ассимиляционная паренхима листьев. Избирательное накопление вируса в ассимиляционной паренхиме и связанные с этим симптомы мозаичности, являющиеся результатом паталогических нарушений в пластидном аппарате, выдвигают вопрос о роли пластид в репродукции вируса.

В 1938 г. путем титрования вируса на листьях Nicotiana glutinosa было показано (1), что вирус табачной мозаики не может быть удален из фракции многократно промытых хлоропластов, извлеченных из мозаичных листьев табака. В то же время было обнаружено, что прибавление вирусной суспензии к здоровым хлоропластам не сопряжено со сколько-нибудь стойкой его адсорбцией. После нескольких промывок такие хлоропласты оказывались практически свободными от вируса. На основании этих опытов был сделан вывод, что при мозаичном заболевании вирус может проникать в хлоропласты и накапливаться в них. Это относится к тем случаям, когда симптомы заболевания проявлены в форме мозаичности. В случае же инокуляции зрелых листьев табака, несмотря на интенсивное накапливание в них вируса — он в хлоропластах не обнаруживается, внешние симптомы мозаичности при этом также не развиваются. Это делало вероятным, что вирус способен проникать только в пластиды, находящиеся в ранней фазе развития и не проникает в пластиды зрелых листьев (2).

В литературе имелись указания на нахождение вируса табачной мозаики в хлоропластах (3), при помощи электрического микроскопа, однако эти данные не отличались достаточной достоверностью. Недавно Лейон (4) более убедительно продемонстрировал связь вирусных частиц с хлоропластами. Он исследовал в электронном микроскопе хлоропласты свеклы, пораженной желтухой, и обнаружил в них, или во всяком случае в контакте с ними, нити, отсутствующие у хлоропластов здоровых растений и, повидимому, представляющие вирусные частицы. Подобные же картины были найдены им на хлоропластах в препаратах, содержащих *y*-вирус картофеля, вирус мозаики гороха и мозаики капусты. Нужно отметить, что эти картины не являются достаточно доказательными, поскольку препараты готовились непосредственно из сока пораженных листьев, и пластиды не отмывались.

Прежде чем приступить к исследованию хлоропластов мозаичного табака, с целью обнаружения в них вируса табачной мозаики с помощью электронного микроскопа, мы провели сравнение инфекционности тщательно промытых хлоропластов и промывных вод. Было проведено восьмикратное промывание суспензии хлоропластов, причем соотношение объема массы хлоропластов с объемом промывных вод в общей сложности



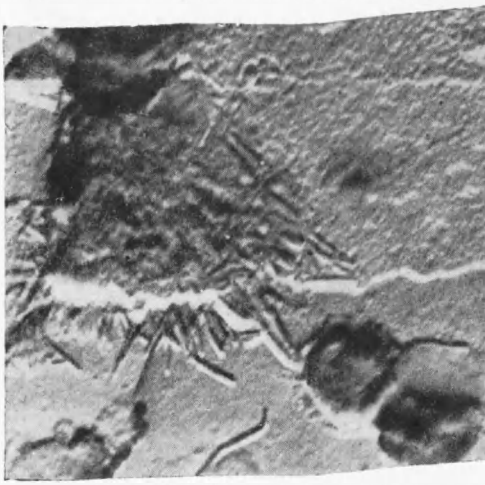
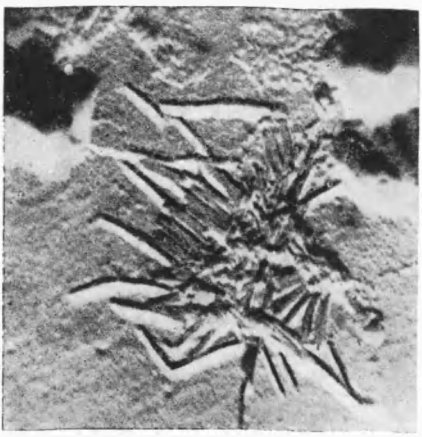


Рис. 1. Скопление палочковидных частиц вируса табачной мозаики в строме разрушенного хлоропласта мозаичного табака



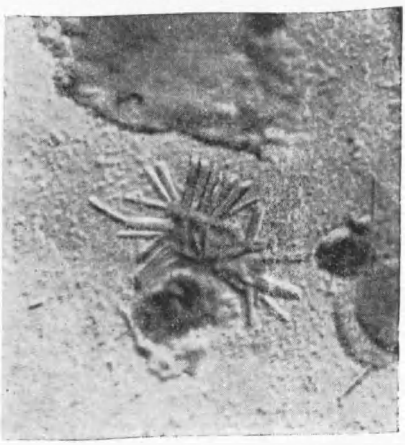


Рис. 2. Кристаллические агрегаты вируса табачной мозаики из разрушенных хлоропластов

составило около 1 : 1 000 000. После каждой промывки хлоропласты осаждались в центрифуге и затем вновь взвешивались в новом объеме воды. В последней порции инфекционность определялась отдельно в поверхностной жидкости и в осажденных хлоропластах. Для разрушения последних и лучшего выхода из них вируса препараты были заморожены, так же как и поверхностная жидкость.

Спустя сутки после оттаивания инокулюмом, приготовленным из хлоропластов, а также поверхностной жидкостью, были заражены противоположные половинки листьев N. glutinosa. Появившиеся в результате заражения местные некрозы были учтены на третьи сутки. На 6 половинках листьев, зараженных инокулюмом из хлоропластов, развилось 219 некрозов, на соответственных их половинках,— инокулированных поверхностной жидкостью, появилось только 16 некрозов. Это подтверждало ранее установленный факт, что с хлоропластами связана значительная инфекционность. Остатки инфекционности в последней промывной воде, вероятно, были связаны с постоянно идущим разрушением части хлоропластов, в результате чего из них все время могло освобождаться некоторое количество вируса.

Материал из фракции хлоропластов был параллельно использован для электронной микроскопии. Разбавленная водой суспензия хлоропластов наносилась на сеточки и после высыхания подтенялась хромом.

На первых же препаратах удалось установить присутствие значительной массы вируса в хлоропластах (рис. 1). В других порциях, не подвергавшихся замораживанию, в хлоропластах были обнаружены кристаллические агрегаты вируса, частично распавшиеся на отдельности, что, вероятно, было связано с разрушением хлоропластов в момент их высыхания (рис. 2).

В результате того, что некоторые элементарные частицы вируса отщепились от кристаллов и хорошо различимы — природа кристаллических образований не вызывает сомнения — они составлены из вирусных частиц.

Относительно крупные агрегаты вируса расположены среди остатков индивидуальных разрушенных пластид, что позволяет заключить о том, что они находились в строме последних. В отдельных гранулах пластид подобные агрегаты пока не обнаружены. Однако в гранулах встречаются линзовидные образования, не найденные пока в здоровом материале и, возможно, представляющие собой паракристаллические скопления вируса. Их природа остается пока невыясненной.

Как известно, кристаллы вируса табачной мозаики очень неустойчивы и разрушаются в клетках при незначительных механических повреждениях.

В экстрактах из мозаичных листьев вирус диспергирован на отдельные элементарные частицы, которые частично могут быть агрегированы концами. Кристаллические формы в экстрактах отсутствуют. Это говорит о том, что найденные кристаллы могли сохраниться только благодря тому, что они были заключены внутри пластид. Разрушение пластид при высыхании на препарате происходило настолько мгновенно, что кристаллы оказались зафиксированными, не успев подвергнуться значительному разрушению. Очевидно, предположить возможность сохранения кристаллов, адсорбированных на поверхности пластид, невозможно, если учесть многократно проведенные промывки и центрифугирования. Это было подтверждено, когда в другом опыте хлоропласты были приготовлены в двух порциях, одна из которых была извлечена из листьев с резко проявленной мозаичностью, а другая — из листьев того же растения, но слабо пораженных и не проявляющих признаков мозаичности. В этом последнем случае вирус присутствовал в клетках в большой массе, но размножение его в тканях произошло сравнительно поздно и хлоропласты оказались незатронутыми. В случае же адсорбции вирусных кристаллов на пласти-

дах они, очевидно, могли быть здесь обнаружены с таким же успехом, как и в мозаичном материале.

Просмотр в электронном микроскопе препаратов из указанных двух порций показал, что кристаллы встречаются только в разрушенных хлоропластах из мозаичных листьев и отсутствуют в хлоропластах, выделенных из бессимптомных листьев.

Образование кристаллических агрегатов вируса в хлоропластах, вероятно, говорит о его способности размножаться в этих органоидах. Большой интерес представляет вопрос о роли других органоидов клетки в репродукции вируса и, в частности, о значении цитоплазматических гранул, с которыми связываются основные белковые синтезы.

Электронная лаборатория
Отделения биологических наук
Академии наук СССР

Поступило
26 III 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] В. Л. Рыжков, В. А. Смирнова, Микробиология, **9**, 178 (1940). [2] В. Л. Рыжков, Г. И. Лойдина, ДАН, **99**, 459 (1954). [3] J. A. Kausche, H. Ruska, Naturwissenschaft, **28**, 303 (1940). [4] H. Leyon, Exp. Cell. Res., **4**, 362 (1953).