

Новое о вирусных включениях и клетках растений, в тканевых культурах и отдельных клетках

М. ГОЛЬДИН, В. ТУМАНОВА, З. ГЕВОРКЯН, А. РУСТАМБЕКОВ
и Г. ЧЕРНОИВАНОВА

Институт микробиологии АН СССР, Москва СССР

В 1939 г. Гольдиным [1] был обнаружен в клетках ткани заразики (*Orobanche oegyptica*), паразитирующей на табаке, пораженным обыкновенным штаммом ВТМ, были обнаружены характерные для этого вируса кристаллические шестиугольные включения. Уже тогда был поставлен следующий вопрос; может ли ВМТ репродуцироваться в тканях растения, лишенного хлорофилла, или же вирус накапливается в тканях заразики механически? Паразит-заразиха, поглощая из тканей табака частицы вируса вместе с другими веществами, возможно может использовать эти частицы как продукты своего питания? И в этом случае исследования включений, возникающих в клетках ткани заразики, позволят также выяснить условия и закономерности их образования и разрушения. Значительно позже, когда Гольдиным был обнаружен казахский штамм ВТМ, характеризующийся наличием нитевидных паракристаллических включений не только в цитоплазме, но и в ядре, возникла мысль вырастить заразику на табаках, зараженных именно казахским штаммом ВТМ. Как было установлено Гольдиным [2], в ядрах клеток растений, зараженных казахским штаммом ВТМ, вначале в ядре образуются небольшие нитевидные включения, которые разрастаясь выходят далеко за его пределы. Как видно из фото 1, в клетка волоска стебля заразики *Orobanche oegyptica*, паразитирующей на табаке, предварительно зараженном казахским штаммом ВТМ, образуются не только нитевидные включения в цитоплазме, но и в ядре, как и в клетках паразитируемого табака. Такого рода рост и развитие вирусных включений в клетках заразики свидетельствуют о том, что в данном случае в клетках заразики осуществляется репродукция ВТМ.

Несколько лет temu назад на табачных плантациях Армении Гольдиным, совместно с Е. Будагян, был обнаружен весьма своеобразный штамм ВТМ, названный нами — армянский штамм ВТМ. В клетках табака, зараженного этим вирусом, формируются плотные шестиугольные или иной формы кристаллические включения, которые или находятся рядом или погружены в студенистую нежную (тонкую) массу — точно изюм в тесте.

В 1967 г. такого же рода включения были обнаружены З. Геворкяном в тепличном хозяйстве у томатов с сильным проявлением желтой мозаики, искри-



Фото 1. Нитевидные включения казахского штамма ВТМ в цитоплазме в ядре заразики (*Orobanche oegyptiaca*).

влением листьев. Эта производственная теплица находится в Армении в сельскохозяйственном институте, который также работает с табаками. Можно сделать заключение, что наличие такого своеобразного штамма у томатов связано с занесением инфекции от табаков. Такие включения оказались устойчивыми и они сохранялись после неоднократных последовательных заражений. Такие же включения были в клетках тканевых культур, полученных из каллюсов растений, зараженных нами этим штаммом (фото 2). В дальнейших исследованиях предполагается выяснить механизм формирования такого рода сочетания включений, в свободно живущих клетках табака.



Фото 2. Кристаллические и студенистые включения армянского штамма ВТМ в свободноживущих клетках табака.

М. Гольдиным, В. Сергеевой и Г. Черноивановой был обнаружен вирус зорьки — (*Lychnis chalconica*, который характеризуется уникальной формой вирусных включений. При заражении этим вирусом образуются нитевидные включения с поперечной штриховатостью, но в ряде случаев концы этих включений переходят в пластинчатые кристаллы (фото 3). Таким образом, если

иметь в виду, что нитевидные включения относятся к паракристаллическим образованиям, а пластинки, например, кристаллические включения ВТМ являются истинными кристаллами, то включения зорьки представляют собой удивительное сочетание паракристаллических и кристаллических структур. Дальнейшие наши опыты должны выявить механизм их формирования в отдельных клетках.



Фото 3. Нитевидные включения зорьки (*Lychnis chalconica*) переходящие в пластинки.

По Кошимизу, а также Иизука [5], и других, X-тела и кристаллические вирусные включения у бобовых образуются из хлоропластов и их остатков. Нами получены различные вирусные включения в клетках тканевой культуры бобовых, зараженных вирусом фасоли 2 и вирусом гороха 2. Как известно, в тканевых культурах хлоропласты отсутствуют. Эти включения, как показали наши опыты, возникают и во вновь образующихся и делящихся отдельных клетках бобовых (фото 4 а, б).

Длительные прижизненные исследования тканей растений, зараженных вирусами дали Гольдину [3] возможность выдвинуть учение о непосредственном физическом взаимодействии клеток и их компонентов с вирусными частицами. Большой простор для такого рода исследований представляется в условиях культуры ткани и отдельных клеток.

В этих исследованиях Гольдиным и рядом других, устанавливается возможность разрушения оболочек ядра в процессе вирусной инфекции. Это явление примечательно уже потому, что в этом случае нарушается граница между двумя системами — ядром и цитоплазмой и при этом вирусные частицы и их нуклеиновые кислоты получают возможность свободно распространяться по

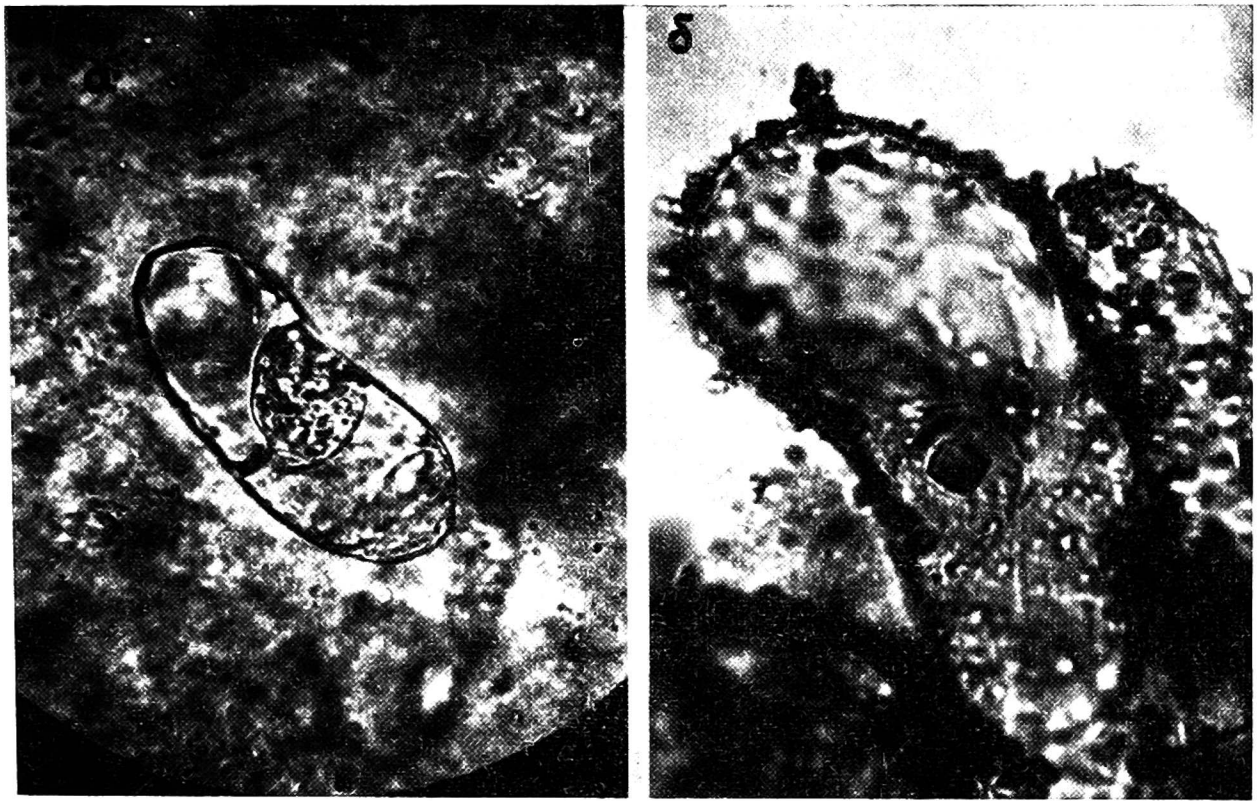


Фото 4. Вирусные включения бобовых в отдельных клетках табака: *а* — большое X-тело, *б* — внутриядорное включение.

цитоплазме вместе с содержимым ядра. Как показали наши исследования, частичное разрушение оболочки ядра может обуславливаться своеобразным лизисом, а также непосредственным физическим действием — разрывом оболочки разрастающимися из ядра остроконечными упругими включениями казахского штамма ВТМ, или других вирусов. Длительное примизненное микроскопирование в камере Гольдина [4] свободноживущих клеток табака, зараженных этим штаммом и содержащих сравнительно толстые пронзающие ядра, веретеновидные вирусные включения выявили следующее явление.

В процессе длительного развития инфекции, включения эти распались и в результате с двух сторон оболочки такого ядра, выявиться отверстия, сквозь которые проходили токи мелкой зернистости в цитоплазму. Клетки с такими ядрами сохранялись жизнедеятельными 2-3 и более дней. По литературным данным, вирусные частицы ВТМ не способны проникать через неповрежденные плазмалемму и тонопласт [6]. Как показали наши исследования, нитевидные, упругие, остроконечные включения казахского штамма ВТМ способны, сами не разрушаясь, прорывать эти оболочки. В этих случаях вирусные частицы вступают в непосредственный контакт с фенольными и другими соединениями, которые находятся в клеточном соке. Непосредственное физическое действие включений казахского штамма ВТМ проявляется также и в том случае, когда эти петлевидные или кольцеобразные включения, передвигаясь в разных плоскостях, захватывают слой цитоплазмы и отрывают ее от стенок клетки, как это видно на фото 5 *а,б*.

Весьма интересно, что даже такие грубые нарушения целостности клетки не погубили ее. Наблюдая день за днем за такой клеткой, мы могли констатировать постепенное восстановление цитоплазмы, в которой обращали на себя

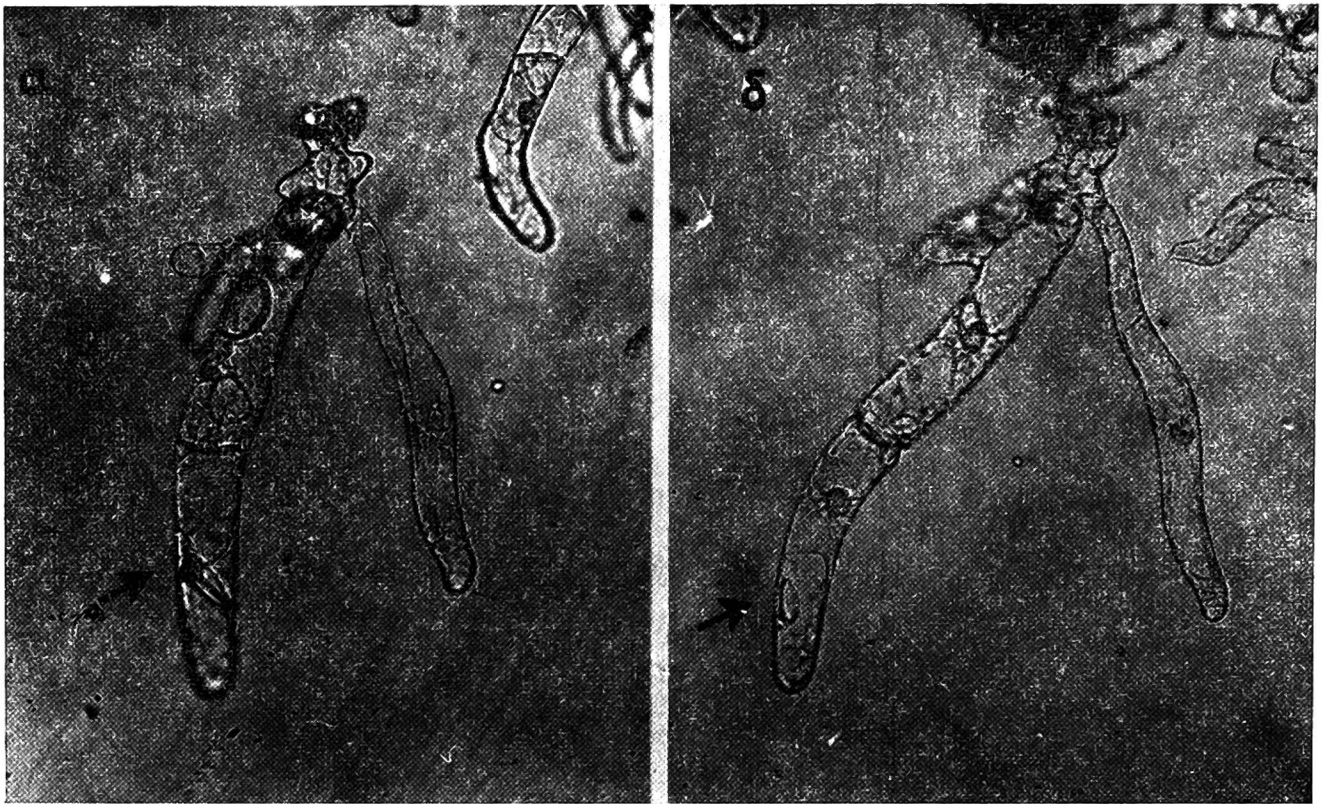


Фото 5. Левая часть клона состоит из двух клеток табака: *а* — в нижней клетке длинное кольцеобразное включение захватило цитоплазму и в результате резких движений оторвало ее от стенок, *б* — та же клетка через 5 дней. Включение превратилось в небольшое кольцо. Цитоплазма восстановилась.

внимание энергичные токи и передвижения зернистости. В процессе такого рода взаимодействий заметно изменилось в оклечение — вместо занимающего в длину почти полклетки вытянутого кольца (см. конечную клетку клона, фото 5*а*), оно превратилось в небольшое колечко (см. ту же клетку на фото 5*б*).

В тканевых культурах и в отдельных свободноживущих клетках, пораженных ВТМ, встречаются своеобразные, различных размеров капли, в которых ранее нами были обнаружены пластинчатые кристаллы включений ВТМ. Аналогичные исследования, проведенные с казахским штаммом ВТМ, привели к обнаружению длинных игловидных кристаллов, разрастающихся из капли, подобно включениям, которые распространяются в цитоплазму из ядра в клетках растений [2].

На основании этих наблюдений очевидно, что эти капли являются одним из возможных центров формирования вирусных включений (фото 6). Следует также отметить явление окольцевания капли нитевидным кольцом подобно описанному Гольдиным ранее [2] явлению окольцевания ядра включением казахского штамма ВТМ. В одном из опытов окольцованная капля изменила свою форму и вследствие чего отчетливо выявилось, что включение обрамляло каплю не сплошь, а кольцом. Можно быть уверенным, что аналогичным способом окольцовано и ядро в клетках растений.

Изложенные результаты свидетельствуют о преимуществе сравнительного сопряженного изучения вирусных включений в тканях растений, в культуре ткани и отдельных клеток. На основании такого рода исследований выявляются существенно важные закономерности во взаимодействии вирусных частиц и их агрегатов в виде включений и клеток растения и их компонентов. Иссле-

дования различных вирусных включений в тканях растений, в культуре ткани и отдельных свободноживущих клеток дает все новые и новые данные о закономерностях взаимодействия вирусов с клеткой хозяина.

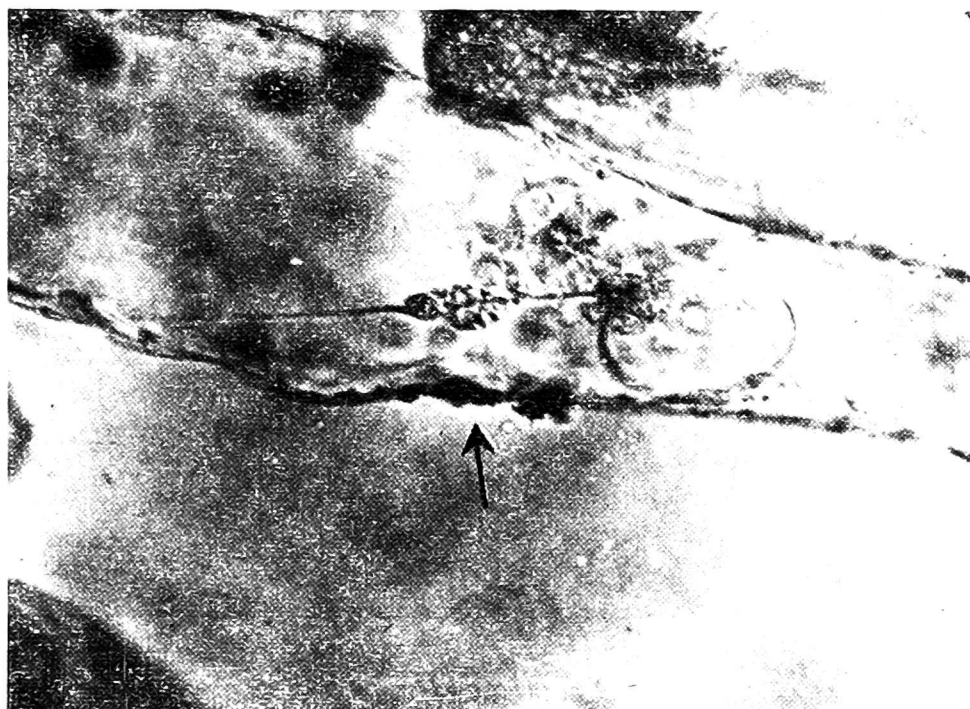


ФОТО 6. Капля, пронзенная нитевидным включением в свободной клетке табака пораженного казахским штаммом ВТМ.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Гольдин М., 1941. Исследования включений, возникающих при мозаичных заболеваниях томатов, Сб. Вирусные болезни растений и меры борьбы с ними, 36-48, Москва.
2. Гольдин М., 1963. Вирусные включения в растительной клетке и природа вирусов, Изд-во АН СССР.
3. Goldin M., 1966. The physical action of viruses on the plant cell. *Viruses of plants. Proceedings of the International conference on plant viruses*, 158-165, Amsterdam.
4. Goldin M., 1967. *In vivo* investigations on viral inclusions of the kazakhstan strain of tobacco mosaic virus in tissue cultures and free living cells. *Acta virology* **11**, 462-463.
5. Koshimizu J., Iizuku N., 1957. Origins and formation of intracellular inclusions associated with two leguminous virus diseases. *Protoplasma* **48**, 1, 113-133.
6. Mundry K., 1963. Plant virus-host cell relations. *Annual review of phytopathology* **1**, 173-196.