

В. Л. ФЕДОТИНА

ЗАКУКЛИВАНИЕ ЗЛАКОВ — СМЕШАННАЯ ИНФЕКЦИЯ

(Представлено академиком А. А. Имшенецким 28 VI 1974)

Заболевание злаков, известное под названием «закукливание», впервые обнаружено в 1922 г. в окрестностях г. Омска. В 1938 г. показана ⁽⁴⁾ инфекционная вирусная природа этого вредоносного заболевания, распространенного в Сибири и на Дальнем Востоке. По данным авторов, закукливание злаков характеризуется следующими основными признаками: мозаикой листьев, карликовостью, кустистостью, пролиферацией колоса, наличием паракристаллических включений белковой природы. Заболевание передается специфическим переносчиком — цикадкой *Laodelphax striatellus* Fallen, в организме которой обнаружены такие же паракристаллические, а также аморфные включения ⁽⁵⁾. На основании вышеперечисленных признаков закукливание злаков было отнесено к группе вирусных желтушных заболеваний растений. До настоящего времени в литературе не имеется четких данных о морфологии возбудителя закукливания злаков и локализации его в клетках растения-хозяина.

В последние годы появилось большое количество исследований, показавших, что возбудителями многих желтух растений являются не вирусы, как считали раньше, а микроплазмopodobные организмы ⁽¹²⁾. Учитывая это, а также исходя из патологической картины заболевания, можно предположить, что закукливание злаков представляет собой смешанную инфекцию, вызванную вирусом и микроплазмой.

Настоящее исследование посвящено электронно-микроскопическому изучению тканей овса *Avena sativa*, пораженного закукливанием, с целью выявления возбудителя заболевания.

Материалом для наших исследований послужили разные сорта овса («Победа», «Пони», «Геркулес») с резко выраженными симптомами заболевания, собранные нами на полях Сибирского филиала Всесоюзного института растениеводства г. Новосибирска и Сибирского научно-исследовательского института сельского хозяйства г. Омска в течение 1972—1973 гг. Для получения ультратонких срезов использовали общепринятую методику, описанную нами ранее ⁽⁷⁾.

Результаты и их обсуждение. Во всех исследуемых образцах овса, пораженного закукливанием, выявлено большое количество закругленных с обоих концов бациллоподобных вирусных частиц, имеющих окружающую мембрану. Эти частицы обильно заполняли цитоплазму эпидермальных, паренхимных, мезофильных клеток, особенно много их в сосудах флоэмы (рис. 1а). Вирионы или диффузно разбросаны по цитоплазме клетки, или образовывали небольшие группы, расположенные правильными рядами. Скопления бациллоподобных вирусных частиц, как правило, окружены клеточными мембранами. Небольшие группы этих частиц могут располагаться в расширенных канальцах эндоплазматической сети, в перинуклеарном пространстве. В самих ядрах, хлоропластах, митохондриях вирусных частиц нет, хотя вблизи этих клеточных органелл наблюдаются их значительные скопления. Длина бациллоподобных частиц 167 ± 20 нм, ширина 57 нм. На поперечных срезах четко видна структура этих частиц: они окружены электронно-плотным слоем, за которым следует электронно-прозрачная зона, далее располагается сердцевина, по всей вероятности,

являющаяся нуклеопротеидом. Сердцевина состоит из периферийного электронно-плотного слоя и центральной электронно-прозрачной зоны, часто с уплотнением в центре (рис. 1а, внизу справа). Часто вблизи бациллоидных вирусных частиц видны тонкие спиралевидные стержни (рис. 1а). При рассмотрении этих фотографий К. С. Суховым было высказано предположение, что данные структуры представляют собой вирусную РНК.

Помимо описанных выше бациллоидных вирионов, во всех исследуемых образцах в цитоплазме клеток присутствовали в большом количестве тонкие тубулярные структуры разной длины, часто образующие паракристаллические тяжёлообразные включения. В отличие от вирусных частиц, скопления тубулярных структур не окружены клеточными мембранами. Во многих случаях наблюдается уплотнение тубулярных структур и их фрагментация на отдельные палочки (рис. 1б). На поперечных срезах четко видна структура: электронно-плотная зона окружает электронно-прозрачную область, часто с уплотнением в центре (рис. 1б, внизу слева). По ширине, по размерам электронно-плотной и электронно-прозрачной зон эти структуры соответствуют сердцевине бациллоидных вирусных частиц и представляют собой, по-видимому, стадию их формирования.

В наших препаратах на некоторых срезах видно, как клеточная мембрана окружает палочковидные образования. Кроме того, во многих случаях мембрана бациллоидных вирусных частиц находится на некотором расстоянии от их сердцевины. Это расстояние может быть большим или меньшим, вероятно, в зависимости от стадии созревания вирионов. (рис. 1в). Возможно, бациллоидные вирусные частицы формируются из тубулярных структур путем их уплотнения и последующей фрагментации на цитоплазматических мембранах растения-хозяина, где они приобретают окружающую мембрану. Созревание вирионов на клеточных мембранах показано для некоторых рабдовирусов⁽¹¹⁾.

Часто среди бациллоидных частиц обычной длины присутствовали частицы длиной до 800 нм, иногда изогнутой, петлевидной формы. Эти частицы также имеют единую мембрану. Некоторые исследователи считают, что образование удлиненных вирионов происходит за счет слияния пулевидных частиц, закругленных с одного конца и плоских с другого^(10, 13, 15). При закукливании злаков пулевидные частицы крайне редки. Не исключено также, что образование длинных бациллоидных вирионов связано с фрагментацией тубулярных структур на более длинные палочки, которые при созревании окружаются единой мембраной. Иногда эти вирионы как бы разламываются, образуя тандемы.

Ни в одном из исследуемых образцов овса не наблюдались только бациллоидные вирусные частицы или только тубулярные образования, они всегда находились вместе. Мало вероятно, что в данном случае мы имеем два разных вируса.

Выявленные нами тубулярные структуры в клетках больного овса несколько напоминают описанные⁽¹⁴⁾ скопления тонких тубулярных палочек в клетках цикадки *Laodelphax striatellus* Fallen — переносчика вируса северной мозаики злаков в Японии, а также описанные^(2, 3) тубулярные структуры в клетках цикадки *Psammotettix striatus* L. — переносчика мозаики озимой пшеницы в СССР. Авторы подчеркивают, что обнаружили тубулярные структуры только в клетках насекомых-переносчиков и не находили их у больных растений. Наблюдая моменты уплотнения и фрагментации тубулярных структур, Развязкина и Полякова предположили, что им удалось уловить отдельные этапы формирования бациллоидных вирионов мозаики озимой пшеницы в слюнных железах цикадок. При этом авторы отмечают, что аналогичные картины морфогенеза бациллоидных вирионов в растениях им обнаружить не удалось.

На ультратонких срезах овса, пораженного закукливанием, кроме вирусных частиц, мы обнаружили во флоэмной ткани полиморфные микоплазмоподобные тела (рис. 1, г).



Рис. 1. *a* — скопление бациллоидных вирусных частиц в паренхимной клетке овса, пораженного закручиванием злаков. Стрелками указаны спиралевидные стержни (63 000 \times). Внизу справа — поперечный срез (130 000 \times). *б* — тонкие тубулярные структуры в паренхимной клетке больного овса (63 000 \times). Внизу слева — поперечный срез (130 000 \times). *в* — бациллоидные вирусные частицы во флоэме пораженного овса. *г* — полиморфные митохондриоподобные тела во флоэме овса, пораженного закручиванием злаков (55 000 \times)

В литературе имеются данные о микоплазмах злаков: кукурузы, сахарного тростника, риса (¹²), пшеницы (¹).

В наших препаратах микоплазмоподобные тела были главным образом овальной или округлой формы, почкующиеся, с диаметром от 80 до 800 нм. Эти тела имели характерное для микоплазм ультратонкое строение. Большие скопления микоплазмоподобных тел были окружены мембранами растительных клеток. Необходимо отметить, что многие микоплазмоподобные тела выглядели деградированными, их цитоплазматическое содержимое сжато в виде комочков, мембраны разрушены. На исследуемой нами стадии заболевания с резко выраженными симптомами закукливания, микоплазмоподобные тела обнаруживались крайне редко. Из 15 исследованных растений больного овса мы нашли их лишь в 3, при этом в очень небольшом количестве клеток флоэмы. Нам не удалось наблюдать в одной плоскости среза клетки флоэмы вирусные частицы и микоплазмоподобные тела. Эти патогены, как правило, находятся в разных клетках. Внутри микоплазмоподобных тел вирусных частиц нет.

В литературе имеются сообщения о совместной инфекции микоплазмы желтухи астр и сферического вируса голубой карликовости овса у льна, экспериментально зараженного этими двумя патогенами (⁸), и у цитрусовых, зараженных тристеза-вирусом и микоплазмой (⁹), при этом симптомы заболевания на растениях более резко выражены. Ранее нами (⁶) было показано, что на томатах, в полевых условиях спонтанно инфицированных ВГМ и микоплазмой столбура, в одной и той же клетке флоэмы можно было видеть скопления палочковидных вирусных частиц и многочисленные микоплазмоподобные организмы. Взаимного подавления вируса и микоплазмы не наблюдалось. В данном случае процессы инфекции и размножения вируса и микоплазмы, скорее всего, независимы друг от друга.

Может быть, имеет место совершенно иной характер взаимоотношений патогенов при закукливании злаков: интенсивная репродукция имеющего мембрану вируса, по-видимому, угнетает размножение микоплазмы. Среди растений овса, пораженных закукливанием, мы не нашли экземпляры, содержащие микоплазму и не имеющие вируса, даже если на них не было мозаики. В здоровом овсе ни вирусные частицы, ни микоплазмоподобные организмы не обнаружены.

На основании того, что в пораженных закукливанием злаков растениях, собранных в течение 2 лет в разных местах страны, постоянно обнаруживались бациллоидные вирусные частицы и микоплазмоподобные тела и не имелось каких-либо других патогенов, мы пришли к выводу, что закукливание злаков — смешанная инфекция, вызванная вирусом и микоплазмой. За мозаичность листьев и внутриклеточные включения ответственен вирус, пролиферация колоса, очевидно, вызывается микоплазмоподобными организмами. Симптомы кустистости, карликовости, возможно, вызываются обоими патогенами и при совместной инфекции усиливаются.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
28 VI 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. М. Онищенко, Ф. Ю. Козар, Г. В. Краева, Микробиол. журн., № 4, 500 (1973).
² Г. М. Развязкина, Г. М. Полякова, ДАН, т. 174, № 6, 1435 (1967). ³ Г. М. Развязкина, Г. П. Полякова, ДАН, т. 193, № 5, 1171 (1970). ⁴ К. С. Сухов, А. М. Вовк, ДАН, т. 20, № 9, 743 (1938). ⁵ К. С. Сухов, ДАН, т. 40, № 4, 190 (1943). ⁶ В. Л. Федотина, Журн. общ. биол., т. 34, 5, 758 (1973). ⁷ V. L. Fedotina, Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz., B. 9, 5, 273 (1973). ⁸ E. E. Bantari, R. J. Zeyen, Virology, v. 49, 1, 307 (1972). ⁹ M.-H. Chen, T. Miyakawa, C. Matsui, Phytopathology, v. 62, 6, 663 (1972). ¹⁰ S. Hasan, J. Giannotti, C. Vago, Phytopathology, v. 63, 6 791 (1973). ¹¹ A. F. Howatson, Adv. in Virus Res., v. 16, 195 (1970). ¹² K. Maramorosch, R. Granados, H. Hirumi, Adv. in Virus Res., v. 16, 135 (1970). ¹³ G. P. Martelli, M. A. Castellano, Phytopathologia Mediterranea, v. 9, 1, 39 (1970). ¹⁴ E. Shikata, Y. T. Lu, Proc. Japan Acad., v. 43, 9, 918 (1967). ¹⁵ R. C. Sinha, Virology, v. 44, 2, 342 (1971).