

О ДИНАМИКЕ ОТНОСИТЕЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИНФЕКЦИОННОГО НАЧАЛА И АНТИГЕНА X-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ В ТАБАКЕ

Концентрация вируса в зараженном растении не является стабильной и со старением растения постепенно снижается (Matthews, 1970). Механизм и причины этого явления представляют собой в вирусологии до сих пор нерешенную проблему. Данные о сроках наступления максимума концентрации каждого вируса в разных видах растений имеют большое практическое значение, особенно в работах по получению чистых препаратов вирусов, при производстве антисывороток, а также при диагностике вирусов и т. д.

Концентрацию вирусов в растениях можно выявить следующим образом: непосредственным подсчетом вирионов электронно-микроскопически (Backus, Williams, 1950), определением относительной концентрации инфекционного начала (ОКИН) при помощи биотеста на локально реагирующих индикаторах (Holmes, 1929) и определением относительной концентрации вирусного антигена (ОКАГ) в растительных тканях при помощи серологических методов — иммуноэлектрофореза (Laurell, 1966), иммуно-электронной микроскопии (Derrick, 1973; Milne, Luisoni, 1977) и иммуноферментного анализа (Voller и др., 1976; Clark, Adams, 1977).*

В литературе имеется множество данных о динамике ОКИН разных вирусов. В секторе вирусологии Института экспериментальной биологии АН ЭССР проводились исследования динамики ОКИН X-, Y-, N-вирусов картофеля (ХВК, УВК, NBK) и вируса огуречной мозаики (ВОМ) в растениях *Nicotiana glutinosa* L. Выяснилось, что ОКИН названных вирусов достигает максимума в глютинозе соответственно на 15-й, 12-й, 11-й и 12-й день после инокуляции, а после этого снижается. При этом отмечено, что снижение уровня ОКИН у ХВК менее заметно, чем у других изученных вирусов (Агур, 1974). По данным У. Хёдрейрва и сотрудников (Hödrejäv и др., 1970), концентрация M-вируса картофеля, которую определяли при помощи электронного микроскопа, достигла максимума в виде *Solanum demissum* L. на 21-й день после инокуляции. В обоих названных исследованиях подчеркивается скачкообразный характер динамики концентрации изученных вирусов.

До сих пор в литературе имеется мало данных о динамике ОКАГ вирусов. Это можно объяснить отсутствием простого и удобного метода определения. Все вышеназванные серологические методы относительно трудоемки и требуют специальной аппаратуры. На основе многолетнего опыта диагностики вирусов картофеля у нас сложилось мнение о том, что при старении растений определяемость вирусов серологическими методами не снижается. Такое явление подтвердилось в опытах с сахарной свеклой, зараженной вирусом хлороза сахарной свеклы (Smrž и др., 1974). Это, однако, не согласуется с господствующим до сих пор представлением о динамике концентрации вирусов, сложившимся на основе

* Авторы, описавшие метод впервые.

определения ОКИН. Из этого вытекает необходимость изучения в растениях наряду с динамикой ОКИН и динамики ОКАГ. В секторе вирусологии Института экспериментальной биологии АН ЭССР в этих целях разработана несложная методика, основывающаяся на капельной агглютинации и микроцентрифугировании (Агур, 1984; Agur, 1985).

В настоящей статье приводятся данные о динамике ОКИН и ОКАГ трех форм ХВК в табаке с целью сравнения интенсивности синтеза и характера динамики концентрации инфекционного начала и антигена в определенном виде растения.

Материал и методика

Динамику ОКИН и ОКАГ трех форм ХВК изучали на зараженных растениях индикаторного вида *Nicotiana tabacum* L. 'Samsun' в тепличных условиях в весенне-летний период. Опыты проводили со следующими формами вируса: изолятом Х₃ВК из семян картофеля 'Камераз X Агрие IV 1957' и его штаммами Х₁₇ВК и Х₂₃ВК, полученными с помощью электрофоретического фракционирования (Хёдреярв и др., 1977) и различавшимися по инфекционным свойствам (Агур, 1977). Названными вирусами инокулировали 110 растений по схеме: 10 растений через каждые 4—5 дней. В течение опыта наблюдали за проявлением признаков заболевания и их интенсивностью. Для обеспечения проведения анализов в равных условиях пробы от всех зараженных растений табака собирали одновременно на 48-й день после инокуляции первой группы растений (соответственно на 7-й день после инокуляции последней группы). От каждого растения брали по два верхушечных листа и определяли ОКИН и ОКАГ в выжатом из них соке.

ОКИН определяли при помощи биологического титрования на супротивных листьях вида *Gomphrena globosa* L. по методу латинского квадрата (Király и др., 1970). Для разбавления инокулята использовали дистиллированную воду или сок здоровых (незараженных) растений табака в соотношении 1:2 (0,3 мл сока и 0,6 мл дистиллированной воды). В каждом варианте опыта заражали не менее 10 листьев. Число некрозов на одном листе подсчитывали на 5-й день после инокуляции.

Инокуляцию гомфрены проводили также на отдельных листьях, которые инкубировали в чашках Петри на увлажненной фильтровальной бумаге. Чашки Петри содержали при комнатной температуре в условиях света 8000—10 000 лк (Агур, 1984).

ОКАГ определяли методом микроцентрифугирования в капиллярных трубочках (Агур, 1984; Agur, 1985) в четырех повторностях.

Результаты и обсуждение

Наряду с основным опытом определения динамики ОКИН ХВК были поставлены следующие специальные опыты для выяснения влияния некоторых факторов на результаты биологического титрования вирусов. Во-первых, сравнивали результаты, полученные при разбавлении инокулята как дистиллированной водой, так и соком здоровых растений табака. Во-вторых, сравнивали результаты, полученные при инокуляции листьев растущих растений, а также отдельных листьев вида *G. globosa* L.

В результате опытов выяснилось, что оба изученных фактора действовали на количественные показатели. Так, при использовании дистиллированной воды для разбавления изучаемого инокулята титр инфекционного начала Х₃ВК был более высоким, чем при использовании сока здорового табака (табл. 1). Ингибирующее действие соков разных видов растений при разбавлении инокулята отмечено нами и ранее (Агур,

Влияние разных разбавителей инокулята на результаты биологического титрования Х₃ВК

Разбавление	Число пораженных растений табака (от 10 опытных) при разбавлении инокулята		Число некрозов на одном листе гомфрены при разбавлении инокулята	
	дистиллированной водой	соком здорового табака	дистиллированной водой	соком здорового табака
1 : 10	10	10	225,8	158,8
1 : 100	10	10	119,3	99,5
1 : 1 000	10	10	65,2	37,0
1 : 10 000	10	9	8,5	6,3
1 : 100 000	7	2	0,45	0,15
1 : 1 000 000	4	1	0,07	0
1 : 10 000 000	1	0	0	0

неопубликованные данные). Интересно заметить, что результаты определения титра антигена не зависели от вариантов разбавления сока. В обоих вариантах вирус был установлен методом капельной агглютинации при разбавлении опытного сока до 1 : 100 (табл. 2). При разбавлении соком табака образовывался зеленый, крупный и хорошо прослеживаемый осадок, а при разбавлении дистиллированной водой — сероватый и мелкий. Это объясняется тем, что в первом случае в образовании осадка принимали участие и хлоропласты, которые как и добавляемые при некоторых серологических методах специальные вещества (латекс, бентонит и др.) увеличивают хлопья осадка, повышая тем самым его наблюдаемость.

В опытах биологического титрования инфекционного начала Х₃ВК на растениях *G. globosa* L. появилось некрозов больше, чем при инокуляции отдельных листьев (табл. 3). Кроме того, некрозы появились на отдельных листьях немного позже, чем на самом растении.

Таблица 2

Влияние разных разбавителей на интенсивность серологической реакции Х₃ВК

Разбавление	Интенсивность серологической реакции при разбавлении сока	
	дистиллированной водой	соком здорового табака
1 : 2	+++*	++++
1 : 4	++	+++
1 : 8	+(+)	+++
1 : 10	+	++(+)
1 : 100	(+)	++
1 : 1000	—	—

* Результаты, полученные при помощи метода капельной агглютинации, оценивались по 4-балльной шкале.

Таблица 3

Реакция растений и отдельных листьев *Gomphrena globosa* L. при инокуляции Х₃ВК

Разбавление	Число некрозов в среднем на одном листе при инокуляции	
	растений	отдельных листьев
1 : 10	86,0	62,6
1 : 100	42,4	29,7
1 : 1000	20,1	13,3
1 : 10 000	5,2	1,3
1 : 100 000	0,8	0
1 : 1 000 000	0	0

Итак, результаты опытов находятся в прямой зависимости от условий их проведения, т. е. сравнение данных биологического титрования оправдано лишь при полном совпадении условий проведения опытов. В настоящей работе при определении ОКИН на растущих растениях

гомфрены в качестве разбавителя использовали дистиллированную воду. При определении ОКАГ антиген разбавляли соком здоровых растений табака.

Признаки заболевания на верхушечных листьях растений табака, зараженных X_3 ВК, X_{17} ВК и X_{23} ВК, начали проявляться на 7—10-й день после инокуляции и оставались яркими в течение всего вегетационного периода. Данные биологического титрования концентраций этих вирусов показали, что их динамика имеет скачкообразный характер (рис. 1—3). При всех изученных формах ХВК кривые ОКИН имели два практически равных пика — на 12-й и 21-й день после инокуляции. После этого ОКИН всех трех названных форм вируса снижалась, оставаясь, однако, относительно высокой. Так ОКИН в растениях с 48-дневной инфекцией составляла при X_3 ВК 50%, при X_{17} ВК 52% и при X_{23} ВК 61% от максимального. ОКИН в табаке X_{23} ВК как в момент максимума, так и после этого заметно превосходила X_3 ВК, и в некоторой мере X_{17} ВК.

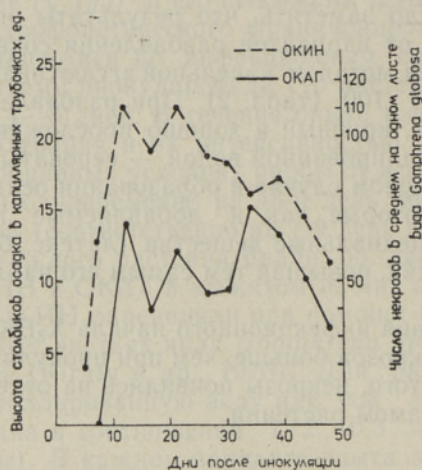


Рис. 1. Динамика ОКИН и ОКАГ X_3 ВК в растениях табака после инокуляции (1 ед.=0,05 мм).

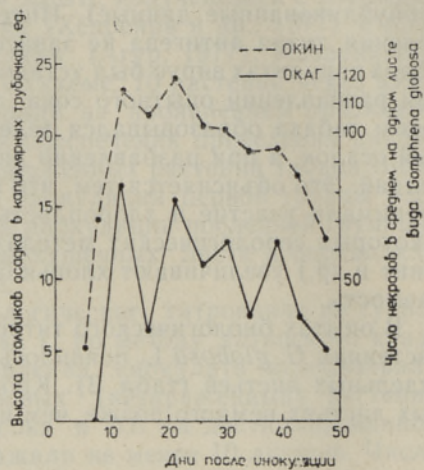


Рис. 2. Динамика ОКИН и ОКАГ X_{17} ВК в растениях табака после инокуляции (1 ед.=0,05 мм).

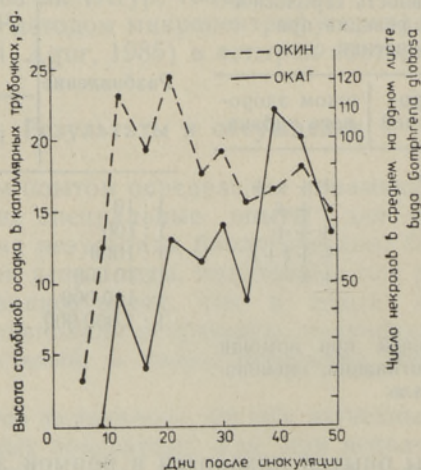


Рис. 3. Динамика ОКИН и ОКАГ X_{23} ВК в растениях табака после инокуляции (1 ед.=0,05 мм).

Исследования, проведенные на растениях *N. glutinosa* ранее (Хёдрев, 1973; Агур, 1974, 1977), показали что динамика ОКИН Х₃ВК и его штаммов имела один высокий пик максимума и оставалась на относительно высоком уровне даже после спада. Это дает возможность объяснить причину, почему ХВК легко изолируется из растений как вида *N. tabacum*, так и *N. glutinosa* в течение всего вегетационного периода. Динамика ОКИН УВК, НВК и ВОМ в *N. tabacum* и *N. glutinosa* после достижения максимума быстро снижалась, приближаясь к нулю. Изолирование вируса из этих растений с двухмесячной инфекцией было связано с трудностями, хотя признаки заболевания на них оставались яркими (Агур, 1974). Сравнивая динамику ОКИН ХВК с данными, полученными при НВК, УВК и ВОМ, выявилось, что синтез разных вирусов в одних и тех же видах растений происходит по-разному и судить об изолируемости вируса из растений лишь по появлению и суровости признаков заболевания невозможно. Для этого требуются данные о динамике ОКИН для каждой определенной комбинации «вирус — вид растения» отдельно.

Анализ методом капельной агглютинации растений табака, инокулированных Х₃ВК, Х₁₇ВК и Х₂₃ВК, показал, что все три опытные формы вируса определяемы в верхушечных листьях этого вида уже с 10—12 дня после инокуляции. Самые интенсивные осадки были зарегистрированы на 21—30-й день, затем интенсивность осадка снижалась, но вирус был определен в растениях табака и на 48-й день инфекции.

При диагностике вирусов серологическими методами уровень концентрации антигена в изучаемом материале имеет первостепенное значение, так как от него зависит интенсивность серологической реакции. Это, в свою очередь, определяет выбор метода анализа. До сих пор данных как об уровне концентрации антигена, так и о динамике ОКАГ вирусов в растениях относительно мало. Подобные данные дали бы указания, в каких видах растений накапливается наибольшее количество антигена, а также о том, какое время после инокуляции наиболее выгодно для собирания проб для анализов.

Данные определения динамики ОКАГ изучаемых трех форм ХВК в табаке методом микроцентрифугирования (рис. 1—3) показали, что она имеет скачкообразный характер, который, однако, по формам вируса различается. При заражении табака Х₁₇ВК ОКАГ достигала максимума в верхушечных листьях растений на 12-й день после инокуляции; следующие пики ОКАГ, уступившие первому по высоте незначительно, были отмечены на 21-й, 30-й и 39-й день после инокуляции. При заражении табака Х₃ВК ОКАГ имела два практически равных по высоте пика — на 12-й и 34-й день после инокуляции. Динамика ОКАГ Х₂₃ВК в табаке отличалась от других двух форм вируса, достигая максимальной высоты на 39-й день после инокуляции, хотя пики были отмечены и ранее (на 12-й, 21-й и 30-й день), но они заметно уступали по высоте максимальному. Интересно отметить, что уровень ОКАГ Х₂₃ВК в момент максимума заметно превышал уровень ОКАГ других изученных форм ХВК, а в остальные периоды заметной разницы в уровнях ОКАГ не отмечалось. К 48-у дню инфекции уровень ОКАГ Х₂₃ВК составлял 60% от максимального, у Х₃ВК — 50%, у Х₁₇ВК — лишь 30%.

Итак, динамика ОКИН и ОКАГ Х₃ВК, Х₂₃ВК и Х₁₇ВК в табаке имела скачкообразный характер. Однако сравнение кривых динамики ОКИН и ОКАГ этих вирусных форм показало, что в растениях табака, зараженных Х₁₇ВК, кривые в течение всего опытного периода (до 48 дня) были практически параллельными, т. е. время максимума, а также следующие снижения-повышения их динамики происходили одновременно и в одном и том же направлении, а при Х₃ВК и Х₂₃ВК — расходились. Если ОКИН этих двух форм вируса достигала максимума соот-

ветственно на 12-й и 21-й день после инокуляции, а затем постепенно снижалась, то ОКАГ в то же время со старением инфекции (до 35—40 дня инокуляции) повышалась. Это говорит о том, что синтез нуклеиновой кислоты и белка вируса — процессы несинхронные. Процесс вирусной инфекции можно разделить на три этапа: 1) синтез нуклеиновой кислоты и белка вируса и упаковка вирионов, 2) трансформация вирионов в неинфекционные, 3) разрушение вирионов (Dawson, Kuhn, 1974). Данные определения динамики ОКИН и ОКАГ изучаемых трех вирусных форм ХВК в табаке в общих чертах согласуются с этим представлением. Однако несовпадение характера динамики ОКИН и ОКАГ при инфекции Х₃ВК, и особенно при Х₂₃ВК, подчеркивает, что длительность и интенсивность названных этапов при разных формах может различаться.

В литературе различия в характере динамики ОКИН и ОКАГ отмечены ранее при инфекции дыни вирусом мозаики арбуза (Moayer и др., 1985) и ячменя вирусом полосатости мозаики ячменя (Palomar, Brakke, 1976). Этот феномен вышеназванные авторы объясняют повышением резистентности при старении растения. При этом выдвигается мнение о том, что у растений существуют разные типы резистентности к инфекционному началу вируса и его антигену (Moayer и др., 1985). Аналогичного мнения относительно интенсивности синтеза вируса как показателя степени восприимчивости, выраженной в ОКИН и ОКАГ, придерживается и автор настоящей статьи (Агур, 1984, 1987; Тийтс, Агур, 1989).

Полученные данные определения динамики ОКИН и ОКАГ трех форм ХВК в табаке указывают на то, что для описания концентрации вируса в зараженном растении требуются данные об интенсивности синтеза как инфекционного начала, так и антигена вируса, а также об их изменениях в процессе инфекции. Такие данные дают нам возможность использовать для проведения опытов виды и сорта, в которых эти процессы протекают наиболее интенсивно и собирать пробы с зараженных растений в наиболее подходящий период после их инокуляции. Следует обратить внимание на то, что процесс вирусной инфекции при разных формах определенного вируса в одном и том же виде растения может происходить по-разному. Из этого вытекает необходимость определения динамики ОКИН и ОКАГ при каждой интересующей нас комбинации «вид растения — форма вируса» отдельно, с учетом условий роста растений. Изучение влияния этих условий на уровень и динамику ОКИН и ОКАГ вируса в зараженных растениях является задачей будущих исследований.

Сопоставление данных динамики ОКИН и ОКАГ вирусов в зараженном растении дает возможность открыть новые аспекты в исследованиях по синтезу вирусов, а также по проблемам резистентности растений к вирусной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

- Агур М. О динамике относительной концентрации некоторых мозаичных вирусов и интенсивность симптомов заболевания. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1974, 23, № 3, 233—245.
- Агур М. О. Характеристика инфекционных свойств штаммов Х-вируса картофеля, изолированных при электрофорезе. — В кн.: Штаммы вирусов растений. Владивосток, 1977, 179—182.
- Агур М. О. Некоторые дополнения к методам определения концентрации фитовирусов. — В кн.: Тез. докл. VIII Всесоюз. совещ. «Теория и практика использования иммунитета сельскохозяйственных культур к вирусным болезням». Вильнюс, 1984, 192—194.
- Агур М. Восприимчивость сортов томата к инфекции М- и S-вирусов картофеля. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1987, 36, № 4, 306—312.

- Туйтс А., Агур М. О некоторых категориях фитовирусологии, важных для селекции. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1989, 38 (в печати).
- Хёдрярв У. Г. Очистка вирусов М и N картофеля и изучение некоторых их физико-химических свойств. Автореф. канд. дис. Таллин, 1973.
- Хёдрярв У. Г., Олсперт К. Э., Хёдрярв Х. Х. Некоторые физико-химические свойства штаммов X-вируса картофеля, полученных путем электрофоретического фракционирования. — В кн.: Штаммы вирусов растений. Владивосток, 1977, 118—123.
- Agur, M. A simple method for the quantitative serological assay for plant viruses. — Proc. Acad. Sci. ESSR. Biol., 1985, 34, N 3, 188—191.
- Backus, R. C., Williams, R. C. Use of spraying methods and volatile suspending media in the preparation of specimens for electron microscopy. — J. Appl. Physiol., 1950, 21, 11—15.
- Clark, M. F., Adams, A. N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. — J. Gen. Virol., 1977, 34, 475—483.
- Dawson, W. O., Kuhn, C. W. Kinetics of multiplication, inactivation and particle-breakdown of cowpea chlorotic mottle virus in cowpea. — Phytopathology, 1974, 64, N 7, 951—957.
- Derrick, K. S. Quantitative assay for plant viruses using serologically specific electron microscopy. — Virology, 1973, 56, 652—653.
- Holmes, F. O. Local lesions in tobacco mosaic. — Bot. Gas., 1929, 87, 39—55.
- Hödrejäre, U., Olsperg K., Tarassova, K. A method for purification of potato virus M. — ENSV TA Toim. Biol., 1970, 19, N 3, 231—234.
- Kiraly, Z., Klement, Z., Solymosy, F., Vörös, J. Methods in Plant Pathology. Budapest, 1970.
- Laurell, C. B. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. — Analyt. Biochem., 1966, 15, 45—52.
- Matthews, R. E. F. Plant Virology. New York—London, 1970.
- Milne, R. G., Luisoni, E. Rapid immune electron microscopy of virus preparations. — In: Methods in Virology. New York—London, 1977, VI, 265—282.
- Moyer, J. W., Kennedy, G. G., Romanow, L. R. Resistance to watermelon mosaic virus. II. Multiplication in Cucumis melo. — Phytopathology, 1985, 75, N 2, 201—205.
- Palomar, M. K., Brakke, M. K. Concentration and infectivity of barley stripe mosaic virus in barley. — Phytopathology, 1976, 66, N 12, 1422—1426.
- Smrž, J., Filigarova, M., Pozdina, J. The changes in the titre of the sugar beet yellow virus in sugar beet leaves in the course of the vegetation period. — Biol. Plant. Acad. Sci. Bohemosl., 1974, 16, N 2, 127—131.
- Voller, A., Barlett, A., Bidwell, D. E., Clark, M. F., Adams, A. N. The detection of viruses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). — J. Gen. Virol., 1976, 33, N 1, 165—167.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
10/III 1987

Milvi AGUR

KARTULI X-VIIRUSE INFEKTSIOONILISE ALGE JA ANTIGEENI SUHELISE KONTSESTRATSIOONI DÜNAAMIKA TUBAKAS

On võrreldud kartuli X-viiruse kolme tüve (KX₃V, KX₁₇V, KX₂₃V) infektsioonilise alge ja antigeeni suhtelise kontsentratsiooni (IASK ja ASK) dünaamikat indikaatorliigis *Nicotiana tabacum* L. 'Samsun' pärast taimele inokulatsiooni 48 päeva jooksul. IASK määrati bioloogilise tiitrimise abil liigil *Gomphrena globosa* L., ASK samal liigil mikrotsentrifugeerimisega. Lisaks sellele saadi andmeid mõnede tegurite (inokulaadi lahjendamine destilleeritud veega või terve tubaka mahlaga, inokulatsioon *G. globosa* kasvavate taimelehtedele või eemaldatud ja Petri tassis inkubeeritud lehtedele) toimest bioloogilise tiitrimise arvulistele tulemustele.

Tubaka nakatumisel KX₃V, KX₁₇V ja KX₂₃V-ga oli niihästi IASK-i kui ka ASK-i dünaamika hüppeline. Kõigi kolme viirustüve IASK-i dünaamikas märgiti kaht suurt tõusu — 12. ja 21. päeval, seejärel toimus langus. Tubaka nakatumisel KX₁₇V-ga oli ASK-i dünaamika sünkroonne IASK-i dünaamikaga, tüvede KX₃V ja KX₂₃V puhul saavutas ASK maksimumi tunduvalt hiljem nende IASK-i maksimumist: KX₃V — 12. ja 34. päeval, KX₂₃V — 39. päeval pärast inokulatsiooni.

KXV kolme tüve IASK-i ja ASK-i dünaamika võrdluse andmed näitasid, et viiruse komponentide süntees nakatatud tubakataimedes ei toimu üheaegselt ega võrdse intensiivsusega, vaid on suuresti viiruse tüvest.

Virooloogilistes uurimistöödes tuleb viiruse kontsentratsiooni iseloomustamiseks taimele ja viiruse kasutamiseks katsetes optimaalsel ajal arvestada iga konkreetse kombinatsiooni viiruse tüvi—taimeliik puhul niihästi IASK-i kui ka ASK-i taset ja nende dünaamikat.

DYNAMICS OF RELATIVE CONCENTRATION OF INFECTIOUS VIRUS
AND VIRAL ANTIGEN OF POTATO VIRUS X IN TOBACCO

The dynamics of the relative concentration of infectious virus and viral antigen of three strains (PVX₃, PVX₁₇, PVX₂₃) of potato virus X (PVX) in tobacco plants (*Nicotiana tabacum* 'Samsun') after inoculation have been studied.

The temporal pattern of the relative concentration of infectious virus as well as viral antigen of the strains of PVX tested have more than one peak. The relative concentration of infectious PVX₃, PVX₁₇ and PVX₂₃ reached two practically equal maximum peaks on the 12th and 21st day after inoculation, and then decreased. The temporal patterns of the accumulation of viral antigen of PVX₃ and PVX₂₃ differed from the patterns of infectious virus of these strains. The relative concentration of the viral antigen of these strains reached the maximum later than the infectious virus — on the 12th and 34th day after inoculation in plants infected by PVX₃, and on the 39th day after inoculation by PVX₂₃. The infectious PVX₁₇ and its antigen reached the maximum at the same time and their temporal patterns have similar characteristics.

On the 48th day after inoculation the relative concentration of infectious virus as well as of viral antigen remained at the relatively high level (50—62 and 30—60% from the maximum, respectively). It might be considered as the simplest explanation of the phenomenon of the easy determination and isolation of PVX from old plants.

The analysis of the data leads to a conclusion that biosynthesis of viral protein and nucleic acid are the processes occurring not simultaneously and not with the same intensity. The role of the combinations virus—plant species as well as virus strain—plant species is noticeable. The data giving information about the changes in the concentration of the infectious virus as well as of viral antigen during the vegetation in the plants infected are necessary in the virological works, particularly in such as the purification of viruses, diagnosis of viruses, etc.