

МИКРОБИОЛОГИЯ

Е. Г. Будагян, В. Н. Ложникова, М. И. Гольдин и
М. Х. Чайлахян, чл.-корр. АН Армянской ССР

**О влиянии гиббереллиноподобных веществ на вирус
мозаики табака**

(Представлено 20/X 1962)

Взаимодействие вирусных частиц с клеткой хозяина—одна из ведущих проблем современной вирусологии. Теоретически важно выяснить условия и место репродукции вирусных частиц в сложной системе клетки. Естественно, что вирусные частицы не могут беспрерывно репродуцироваться в ограниченном пространстве ткани даже быстро растущих растений. Вирусные частицы могли бы очень скоро исчерпать емкость клетки, если бы растение не проявляло защитных свойств в той или иной мере, теми или иными средствами в зависимости от многих внутренних и внешних причин. Следовательно, от такого рода взаимоотношений клетки хозяина с вирусной частицей зависит в конечном счете степень потери урожая от вирусного заболевания. К. Мараморош ⁽¹⁾, Д. Виллиам и Е. Еркерс ⁽²⁾ выясняли условия восстановления роста растений, пораженных различными вирусами, с помощью гибберелловой кислоты. М. И. Гольдин и Н. Г. Лapidус ⁽³⁾ исследовали действие гиббереллина на вирус мозаики табака *in vivo* и *in vitro*. В этих опытах применялись гиббереллины, выделенные из фузариевого гриба.

Нам представлялось весьма интересным выяснить действие на вирус мозаики табака в различных условиях гиббереллиноподобных веществ, широко распространенных в тканях высших растений, где эти вещества могут встречаться с вирусными частицами в течение инфекционного процесса. Исследования были проведены на основании данных, полученных М. Х. Чайлахяном и В. Н. Ложниковой ⁽⁴⁾ по выявлению и установлению наличия гиббереллиноподобных веществ в листьях высших растений. М. Х. Чайлахяном и В. Н. Ложниковой было показано, что гиббереллиноподобные вещества имеются в листьях и других органах *Nicotiana glauca*, *N. tabacum* сорта Мамонт.

Гиббереллиноподобные вещества извлекались нами из листьев *N. glauca* и *N. tabacum* сорта Мамонт по следующей методике.

Для каждой навески бралось по 30 г листьев со средних ярусов, которые убивались спиртом при 100°С в течение 5 минут. После чего

проба закладывалась между двумя листками фильтровальной бумаги (12-х 20 см) и отжималась под ручным прессом. Затем для более полного извлечения клеточного сока масса листьев пропитывалась ацетоном и вторично отжималась. Листы фильтровальной бумаги после обоих отжимов подсушивались при комнатной температуре, измельчались, набивались слабо в колонку и для удаления липоидов промывались 40 мл бензола. Оставшаяся масса извлекалась из колонки и высушивалась, затем вторично набивалась в колонки, где уже по каплям промывалась 40 мл ацетона в выпарительную чашку. После испарения ацетона остаток растворялся в 4 мл дистиллированной воды.

Наличие гиббереллиноподобных веществ в этих экстрактах проверялось путем биологической пробы на карликовом горохе сорта Пионер.

В первых опытах выяснялось действие полученных гиббереллиноподобных веществ на вирус мозаики табака *in vitro*. С этой целью экстракты по 0,5 мл, выделенные параллельно из листьев табака сорта Мамонт и *Nicotiana sylvestris*, смешивались с 0,5 мл сока растений, содержащих вирус мозаики табака. После двухчасовой экспозиции при

Таблица 1

Влияние экстракта из листьев *Nicotiana tabacum* на вирус мозаики табака

Варианты	Число некрозов на половинках листьев <i>N. glutinosa</i>										Общее число некрозов	Среднее число некрозов
Экстракт из листьев Мамонт + ВМТ Вода + ВМТ	Опыт I	48	20	17	32	5	11	10	28	18	189	21,0
		42	13	18	22	10	15	14	32	9	175	19,4
	опыт II	36	11	4	3	33	6	17	9	4	123	13,6
		27	6	4	6	19	10	14	10	5	101	11,2
	Опыт III	11	11	7	9	7	14	8	8		75	9,4
		16	11	14	9	5	15	7	10		87	10,9

комнатной температуре этой смесью заражали половинки листьев *Nicotiana glutinosa*. Контролем служили другие половинки, зараженные соответственно смесью 0,5 мл вирусного сока и 0,5 мл воды.

Всего было поставлено по три опыта, в 8—10-кратной повторностях в каждом. Результаты опытов приведены в табл. 1 и 2.

Как видно из данных таблиц, гиббереллиноподобные вещества в испытанной концентрации и экспозиции не оказывают ни инактивирующего, ни стимулирующего действия на вирус мозаики табака.

Надо отметить, что в третьем опыте в обоих случаях была взята несколько повышенная концентрация гиббереллиноподобных веществ, т. е. остаток растворялся не в 4 мл воды, а только в 2 мл, но и в этом случае были получены аналогичные результаты.

В следующей серии опытов выяснялось действие гиббереллиноподобных веществ на образование некрозов на половинках листьев *N. glutinosa*, предварительно зараженных вирусом мозаики табака, а

позднее обработанных и не обработанных гиббереллиноподобными веществами.

Листья *N. glutinosa* для каждого опыта равномерно заражались вирусом мозаики табака, затем немедленно разрезались вдоль по средней жилке на половинки и погружались в чашки Петри с экстрактом гиббереллиноподобных веществ в количестве 4 мл. Контролем служили соответственно половинки зараженных листьев, помещенных

Таблица 2
Влияние экстракта из листьев *Nicotiana sylvestris* на вирус мозаики табака

Варианты	Число некрозов на половинках листьев <i>N. glutinosa</i>											Общее число некрозов	Среднее число некрозов
Экстракт из листьев <i>N. sylvestris</i> +ВМТ Вода+ВМТ	Опыт I	44	22	12	9	28	26	25	27	32	50	275	27,5
		41	11	22	12	16	38	25	25	31	38	265	26,5
	Опыт II	53	13	13	19	20	23	27	31	18		219	24,9
		44	10	22	21	14	37	36	12	10		206	22,9
	Опыт III	14	14	4	7	11	12	15	6			83	10,4
		15	13	12	1	11	12	14	13			91	11,4

в тех же условиях в чашки Петри с дистиллированной водой. Для большего контакта с гиббереллиноподобными веществами листья помещались зараженной стороной вниз. Опыт проводился во влажной камере при комнатной температуре, при дневном освещении. Некрозы подсчитывались на 4—5-й день с момента заражения.

Как видно из данных табл. 3 и 4, не отмечается какого-либо влияния гиббереллиноподобных веществ на вирус мозаики табака.

Таблица 3
Влияние экстракта из листьев *Nicotiana tabacum* на образование некрозов на листьях *Nicotiana glutinosa*

Варианты	Число некрозов на листьях <i>N. glutinosa</i> , зараженных ВМТ в чашках Петри							Общее число некрозов	Среднее число некрозов
Экстракт из листьев Мамонт вода	Опыт I	2	2	3	2	2	6	17	2,8
		8	1	4	6	7	5	31	5,1
	Опыт II	4	8	6	3	5		26	5,2
		4	7	6	6	4		27	5,4
	Опыт III	1	4	3	5	7		20	4
		4	6	4	5	3		22	4,4

В последующих опытах для более дифференцированного выделения гиббереллиноподобных веществ был использован метод химической очистки экстрактов с помощью бумажной хроматографии.

Для этой цели навеска 50 г свежего растительного материала

убивалась парами спирта при 100° в течение 5 мин., затем листья измельчались в механическом гомогенизаторе в 100 мл этанола в течение 4 минут. Надосадочная жидкость фильтровалась через бумажный фильтр и упаривалась до 50 мл. 2 мл этого экстракта наносилось на хроматограмму.

Наличие гиббереллиноподобных веществ определялось способностью их светиться зеленоватым светом в ультрафиолетовых лучах. Для

Таблица 1

Влияние экстракта из листьев *Nicotiana sylvestris* на образование некрозов на листьях *Nicotiana glutinosa*

Варианты	Число некрозов на половинках листьев <i>N. glutinosa</i> , зараженных ВМТ в чашках Петри								Общее число некрозов	Среднее число некрозов
Экстракт из листьев <i>N. sylvestris</i> вода	Опыт I	0	0	4	4	1	1	0	10	1,4
		2	3	2	1	4	2	2	16	2,2
	Опыт II	0	4	0	6	3	3		16	2,6
		2	4	0	7	3	3		19	3,1
	Опыт III	4	2	8	8	5			27	5,5
		5	5	6	9	8			33	6,6

этого узкая полоска разогнанной хроматограммы высушивалась от растворителя, опрыскивалась 5% H₂SO₄, подсушивалась и проявлялась в термостате при t—60° в течение 5 мин. и далее просматривалась в ультрафиолетовых лучах.

Таблица 2

Влияние элюатов из отдельных участков хроматограмм на вирус мозаики табака

Варианты	Число некрозов на половинках листьев <i>N. glutinosa</i> в чашках Петри с участками элюат								Среднее число некрозов
Элюаты из листьев <i>N. sylvestris</i> вода	Опыт I	18	18	18	13	13	17		16,3
		16	22	12	8	16	16		15,1
	Опыт II	8	17	10	15	8	12		11,8
		6	15	11	20	9	12		12,2
	Опыт I	14	9	8	11	15	—		11,4
		15	11	9	11	15	12		12,2
Элюаты из листьев табака Мамонт вода	Опыт II	11	19	17	13	5	8		11,3
		13	8	7	8	10	15		10,2

Ориентируясь по проявленной полоске, вырезались соответствующие отрезки из необработанной хроматограммы для применения их в опытах с вирусом мозаики табака.

Отрезки хроматограмм, полученные от разгонки экстрактов из растений табака Мамонт *N. sylvestris*, разрезались на мелкие кусочки.

которые помещались в чашки Петри и для растворения гиббереллино-подобных веществ заливались 4 мл воды. В эти чашки помещались под номерами половинки листьев *N. glutinosa*, зараженных вирусом мозаики табака. Контролем служили чашки с дистиллированной водой.

Таблица 6

Влияние вируса мозаики табака на содержание гиббереллиноподобных веществ в растении

В а р и а н т ы	Секции хро- матограмм	Длина проростков в мм										Средняя длина про- ростков в мм
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Экстракт обычный												
Гиббереллиноподобные вещества из листьев N. sylvestris, зара- женных В. М. Т.		48	50	43	50	48	48	50	45	47		47,6
Гиббереллиноподобные вещества из листьев здорового растения N. sylvestris		43	45	47	53	50	53	45	55	54	42	48,7
Вода		42	45	45	45	42	35	35	35	40	41	40,5
Гиббереллин		113	96	115	125	128	108	112	107	125	105	103,4
Экстракт хроматографически разделен												
Гиббереллиноподобные вещества из листьев N. sylvestris, зара- женных В. М. Т.	1	54	60	63	60	55	50	50	48	52	50	54
	2	50	50	52	55	55	55	50	35	40	50	53
	3	55	60	60	65	65	55	45	55	50	50	57
	4	75	65	70	70	68	70	65	73	68	60	68
	5	65	70	50	55	55	50	35	50			54
Гиббереллиноподобные вещества из листьев здорового растения N. sylvestris	1	50	45	50	35	50	60	60	60	50	35	50
	2	58	60	50	45	50	50	55	55	48	55	43
	3	55	57	65	55	45	50	55	50	55	55	53
	4	60	78	70	72	80	66	85	82	70	75	72
	5	65	55	60	63	60	55	60	60	65		60
Вода		50	47	50	45	48	50	46	43	40		47
Гиббереллин		130	139	145	110	132	138	120	135	125		130

Гиббереллиноподобные вещества сосредоточены в 4-й секции хроматограммы.

Условия опыта аналогичны предыдущим. И в этом случае, несмотря на более дифференцированное выделение гиббереллиноподобных веществ из растительных экстрактов, получены те же результаты (табл. 5).

Нас также интересовал вопрос о действии вируса мозаики табака на баланс гиббереллиноподобных веществ в растении. С этой целью растения *N. sylvestris* заражались вирусом мозаики табака и после 30 дней из сильно мозаичных листьев больного растения извлекались гиббереллиноподобные вещества по вышеописанной методике. Контролем служили листья здоровых растений, выращенных в тех же условиях. Обработка экстрактов проводилась двумя способами. В первом

опыте без хроматографии, во втором путем бумажной хроматографии. Активность гиббереллиноподобных веществ, выделенных из листьев больных и здоровых растений, проверялась на биологической пробе — карликовом горохе.

Одновременно учитывалось наличие гиббереллиноподобных веществ в этих экстрактах по сравнению с водой тем же способом. Как видно из табл. 6, в условиях проведенных нами опытов не наблюдается какого-либо влияния вирусной инфекции на наличие гиббереллиноподобных веществ в клетках больного растения.

Выводы 1. Гиббереллиноподобные вещества не влияют на активность вируса мозаики табака при 2-часовой экспозиции *in vitro*, а также на образование некрозов на листьях *Nicotiana glutinosa*.

2. В растении, пораженном вирусом мозаики табака, концентрация гиббереллиноподобных веществ не отличается от контрольных здоровых растений.

Институт микробиологии Академии наук Армянской ССР

Институт физиологии Академии наук СССР

Ե. Ղ. ԲՈՒԴԱՂՅԱՆ, Վ. Ն. ԼՈԺՆԻԿՈՎԱ, Մ. Ի. ԳՈԼԴԻՆ ԵՎ Մ. Խ. ԶԱՅԼԱՆՅԱՆ

ԳԻԲԵՐԵԼԼԻՆՈՎԱՆՈՒԱՆ ԵՍԵՐԵՐԻ ԱԳԳԵԳՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ ԺԽԱԽՈՏԻ ՄՈԳԱԽԿԱ ՎԻՐՈՒՍԻ ՎՐԱ

Մենք ուսումնասիրել ենք տարրեր պայմաններում գիրերելլինանման նյութերի ագգեգությունը ծխախոտի մոզաիկի վիրուսի վրա, որոնք լայն տարածում ունեն բարձրագույն բույսերի հյուսվածքներում և որոնք կարող են հանդիպել վիրուսային մասնիկների հետ փոխակիան պոչների ընթացքում:

Գիրերելլինանման նյութերն անջատվել են *Nicotina tabacum* և *Nicotiana sylvestris*-ի տերևներից, որոնց ագգեգությունը ծխախոտի մոզաիկա վիրուսի վրա ստուգվել է *in vitro* և *in vivo* պայմաններում:

Հետադա փորձում ուսումնասիրվեց, որ գիրերելլինանման նյութերը ագգում են *Nicotiana glutinosa*-ի տեսակի նեկրոզի առաջացմանը, որոնք նախօրոք վարակվել են իսկավելի ուշ մշակվել կամ չեն մշակվել գիրերելլինանման նյութերով:

Բացի այդ ստուգվել է ծխախոտի մոզաիկա վիրուսի ագգեգությունը բույսերում գիրերելլինանման նյութերի քանակի վրա: Գիրերելլանման նյութերի գիֆերենցիալ մեկուսացման համար օդաադործվել է էկստրակտի քիմիական մաքրման մեթոդը թղթի խրոմատոգրաֆիայի օգնությամբ:

Մեր ուսումնասիրության արդյունքներից պարզվել է, որ գիրերելլինանման նյութերը *in vitro* չեն ագգում ծխախոտի մոզաիկայի վիրուսի ախտավորության և *Nicotiana glutinosa*-ի տերևների նեկրոզ առաջացման վրա:

Գիրերելլինանման նյութերի կոնցենտրացիան ստուգվել է մոզաիկայով հիվանդ բույսերի վրա համարյա նույնն է:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն ՈՒ Թ Յ ՈՒ Ն

¹ К. Мараморов, Reverasol of virus-caused stunting in plants by gibberellic acid Sci. 126, 1957, 651—652. ² Д. Виллиам, Е. Еркепс, Phytophthology vol, 50, Num 7, 1960, 525—527. ³ М. И. Гольдин и Н. Г. Ланидус, Известия АН СССР (серия биол.), № 1, 1960, 129—131. ⁴ М. Х. Чайлахян и В. Н. Ложникова, Гиббереллиноподобные вещества в высших растениях и их влияние на рост и цветение, Физиология растений, том 7, вып. 5, 1960. ⁵ Г. С. Муромцев и И. В. Русанова, Количественное определение гиббереллинов по ростовой реакции гороха сорта Пионер Г-1, Труды ВИАУ, 1961.