

<https://doi.org/10.3176/biol.1981.3.05>

УДК. 581.192:547.96+576.858.8

Керсти ОЛСПЕРТ, Улрих ХЁДРЕЯРВ

РАСТВОРИМЫЕ БЕЛКИ В ЛИСТЬЯХ ТОМАТА ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ИХ ВИРУСОМ X КАРТОФЕЛЯ

Появление новых белков в растениях, зараженных вирусами, в настоящее время можно считать доказанным (van Loon, van Kammen, 1970; Gianinazzi и др., 1977 и др.). Известно также, что новые белки возникают не только под влиянием вирусной инфекции, но и при введении некоторых веществ, например, полиакриловой (Gianinazzi, Kassanis, 1974), ацетилсалициловой и других кислот (White, 1979). Так как эти вещества индуцируют в растениях одновременно с новыми белками и устойчивость к разным вирусам, то полагают (хотя считают еще не доказанным), что они сходны с животными интерферонами (Gianinazzi, Kassanis, 1974; Kassanis, White, 1978; Ладыгина, Таймла, 1979).

Количество новых белков в разных опытах разное — от 0 до 4—5 — и зависит от типа ответной реакции растений. Число их максимально при некротической реакции (van Loon, 1975; Coutts, 1978). По-видимому, в связи с тем, что большинство опытов было проведено с растениями табака, которые при выбранной комбинации вирус—хозяин реагировали на инфекцию локальными некрозами, преобладает мнение, что возникновение новых белков имеет место только в сверхчувствительных растениях (Ладыгина, Таймла, 1979).

В наших опытах (Olsper, Hödrejäv, 1979) при заражении вирусом X₁₇ картофеля растений табака последние реагировали на инфекцию как некрозами на инокулированных листьях, так и мозаикой на верхних листьях. В больных растениях были обнаружены новые фракции (R_f 0,69 и 0,43) невирусных белков. Они возникали в растениях в ответ на вирусную инфекцию.

Цель настоящей работы — проследить, как влияет заражение вирусом X картофеля на состав растворимых белков в листьях томата, у которых в наших условиях некротические симптомы отсутствовали. Для фракционирования белков использовали электрофорез в геле полиакриламида.

Материал и методика

Растения томата (*Lycopersicon esculentum* Mill., сорт 'Невский') выращивали в условиях теплицы. Для заражения использовали вирусы X₁₇ картофеля (ВХ₁₇К) и X₂₃ картофеля (ВХ₂₃К), полученные от исходного вируса X₃ картофеля путем электрофоретического фракционирования в градиенте плотности сахарозы (Хёдреярв и др., 1977). Вирусы размножали в табаке. Заражение проводилось путем инокуляции соком, содержащим соответствующий вирус. Контролем служили листья, натертые соком здоровых растений. Инокулированные листья собирали

через 4 и 11 дней после заражения. Листья растирали в кислой среде (фосфатно-цитратный буфер, pH 3). Извлечение и электрофорез белка, а также окрашивание гелей проводились способом, изложенным ранее (Olsper, Hödrejårv, 1979). Использовались 10%-ные гели полиакриламида. Анализ гелей проводили денситометрически.

Результаты

Так как у нас не было возможности поставить опыты одновременно с разными вирусами, то растения в разных опытах были не совсем одинаковыми. Поэтому для каждого опыта (заражение VX₂₃K и VX₁₇K) был поставлен параллельно контроль. Этим, вероятно, и обусловлены количественные различия во фракциях разных контролей и опытов.

Фракционирование растворимых белков листьев томата в 10%-ном геле полиакриламида дало в среднем 20 фракций.

Как видно по рис. 1, состав белковых фракций на 4-й день после заражения VX₂₃K в здоровых растениях был следующим: фракции с R_f 0,24, 0,32, 0,37, 0,40 и 0,46 имели самые большие пики, фракции с R_f 0,61 и 0,80 — пики средней величины, а с R_f 0,50, 0,53, 0,63, 0,65 и 0,69 — пики небольшой величины. Заражение растений VX₂₃K не вызывало изменений во фракциях белков растений на 4-й день после инокулирования. При этом новых белковых фракций не обнаружено, а также не отмечалось заметных количественных изменений в существующих фракциях.

Через 11 дней после инокулирования состав белковых фракций в здоровых растениях изменился (рис. 2). Фракции с R_f 0,24 и 0,63 исчезли, зато прибавилась фракция с R_f 0,93. Эти же изменения наблюдались и в зараженных VX₂₃K растениях. У здоровых растений фракции с R_f 0,25, 0,32 и 0,46 увеличились на 11-й день, а фракции с R_f 0,37, 0,40 и 0,79 уменьшились. Подобные изменения наблюдались и в зараженных VX₂₃K растениях. Однако в отличие от здоровых растений в зараженных обнаружены две новые фракции: одна малая (с R_f 0,73), а другая несколько больше (с R_f 0,82).

При заражении растений томата VX₁₇K (рис. 3) в здоровых растениях на четвертый день после инокуляции были найдены наибольшие фракции с R_f 0,10, 0,26, 0,32, 0,41 и 0,46. Фракции с R_f 0,13, 0,16,

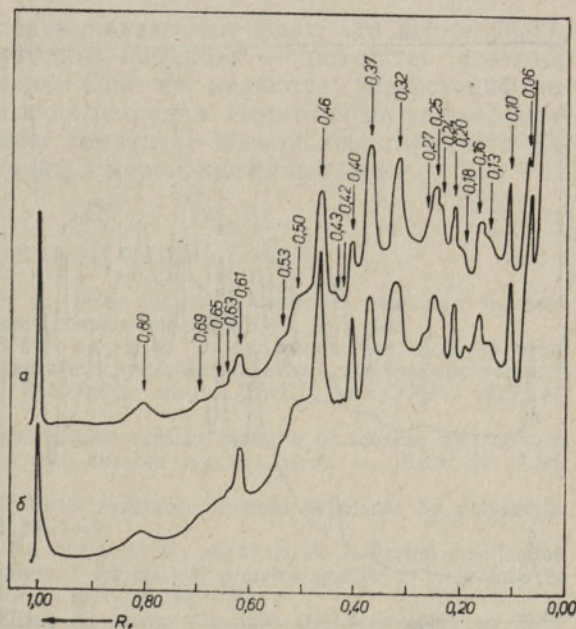


Рис. 1. Фракционный состав растворимых белков в листьях томата при заражении VX₂₃K (4-й день после инокуляции). а — зараженные растения, б — здоровые растения.

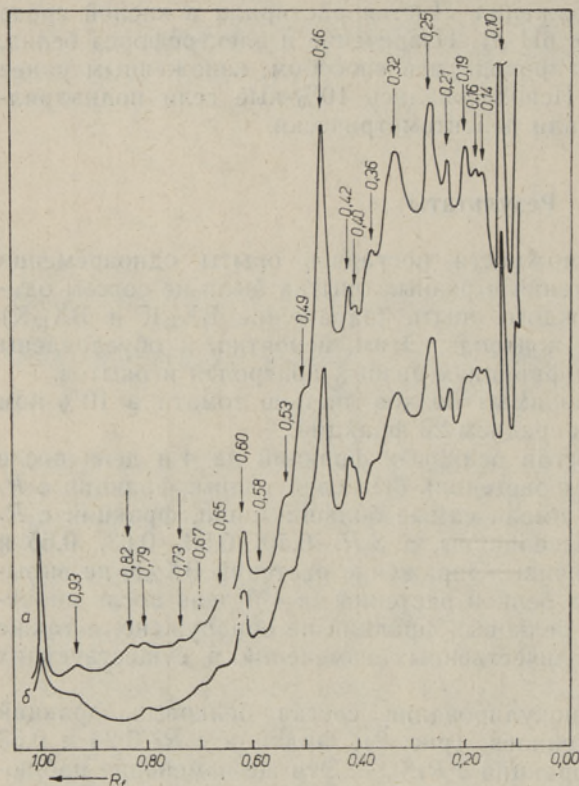


Рис. 2. Фракционный состав растворимых белков в листьях томата при заражении $VX_{23}K$ (11-й день после инокуляции). *a* — зараженные растения, *б* — здоровые растения. Новые белки обозначены двумя стрелками.

0,18, 0,22, 0,35, 0,38, 0,43, 0,47, 0,51, 0,54 и 0,62 были средней величины, а фракции с R_f 0,67 и 0,80 — небольшой величины.

При заражении как $VX_{23}K$, так и $VX_{17}K$ на 4-й день после инокулирования никаких изменений в составе фракций белков и их количестве не отмечено.

Сравнивая состав белковых фракций на 11-й день после инокулирования $VX_{17}K$ (рис. 4) с составом их на 4-й день, видно, что у здоровых растений фракции с R_f 0,10, 0,26 и 0,38 сильно увеличились, а фракции с R_f 0,32, 0,46 и 0,62 уменьшились. Появилась фракция с R_f 0,93. Заражение $VX_{17}K$ вызывало на 11-й день инокуляции увеличение фракций с R_f 0,22 и 0,79 и уменьшение фракций с R_f 0,16, 0,46 и 0,62. Исчезла фракция с R_f 0,93. Появилась новая фракция с R_f 0,82 в довольно заметном количестве. Исчезла фракция с R_f 0,73.

Если сопоставить результаты, полученные с двумя штаммами вируса X картофеля, то выясняется, что они частично совпадают. Заражение как $VX_{23}K$, так и $VX_{17}K$ вызвало в растениях томата образование новой белковой фракции с R_f

с R_f 0,32, 0,46 и 0,62 уменьшились. Появилась фракция с R_f 0,93. Заражение $VX_{17}K$ вызывало на 11-й день инокуляции увеличение фракций с R_f 0,22 и 0,79 и уменьшение фракций с R_f 0,16, 0,46 и 0,62.

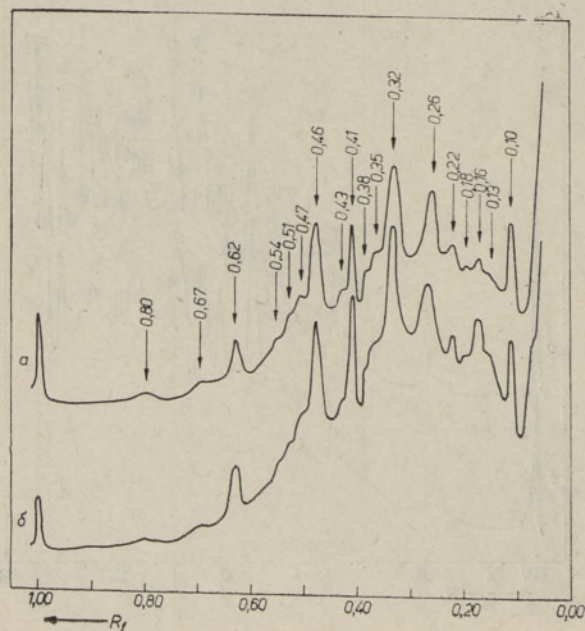


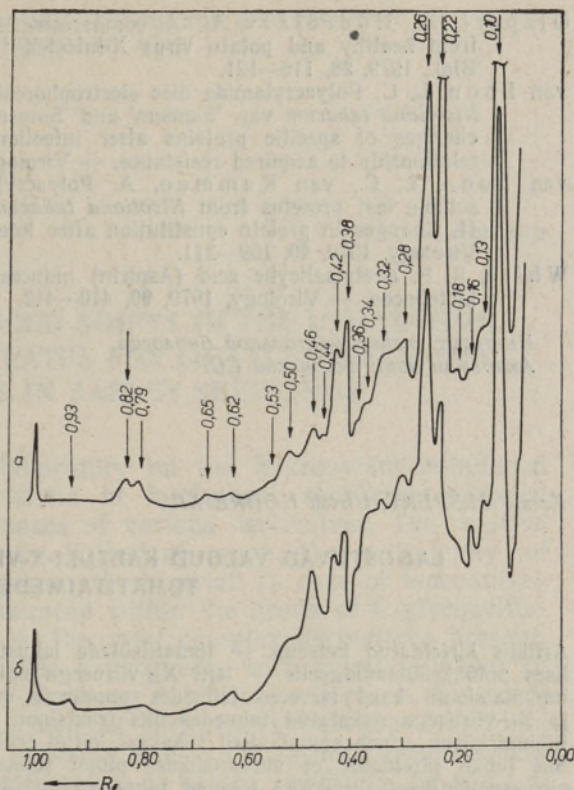
Рис. 3. Фракционный состав растворимых белков в листьях томата при заражении $VX_{17}K$ (4-й день после инокуляции). *a* — зараженные растения, *б* — здоровые растения.

Рис. 4. Фракционный состав растворимых белков в листьях томата при заражении ВХ₁₇К (11-й день после инокуляции). а — зараженные растения, б — здоровые растения. Новый белок обозначен стрелкой.

0,82 на 11-й день после инокулирования. Что касается фракции с R_f 0,73, обнаруженной в зараженных ВХ₂₃К растениях томата, то она является небольшой и, возможно, при заражении ВХ₁₇К в данных условиях не определима.

Настоящие данные расходятся с результатами, полученными при изучении растений табака. При заражении ВХ₁₇К в растениях томата мы не нашли новой белковой фракции с R_f 0,69, которая была обнаружена в растениях табака, причем фракция с R_f 0,86 в растениях табака может соответствовать фракции 0,82 в листьях томата. Однако в последнем случае эта фракция является новой, возникающей вследствие вирусной инфекции, тогда как в табаке она встречается и в здоровых растениях.

Полученные результаты подтверждают тот факт, что новые белки, возникающие вследствие вирусной инфекции — результат ответной реакции растений на заражение. Они не являются вируссpezifическими, а специфическими для вида растений. Несмотря на то что симптомы заболевания на растениях томата не носили некротического характера, в нем появился, по крайней мере, один новый белок.



ЛИТЕРАТУРА

- Ладыгина М. Е., Таймла Э. А. Роль белков в защитных реакциях растений против фитовирусов. — Успехи соврем. биол., 1979, 88, 387—400.
- Хёдреярв У., Олсперт К., Хёдреярв Х. Физико-химические свойства некоторых штаммов X-вируса картофеля, полученных путем электрофоретического фракционирования. — Тр. Биол.-почв. ин-та ДВНЦ АН СССР, 1977, 46, 118—123.
- Coutts, R. H. A. Alterations in the soluble protein patterns of tobacco and cowpea leaves following inoculation with tobacco necrosis virus. — Plant Sci. Lett., 1978, 12, 189—197.
- Gianinazzi, S., Kassanis, B. Virus resistance induced in plants by polyacrylic acid. — J. Gen. Virol., 1974, 23, 1—9.
- Gianinazzi, S., Pratt, H. M., Shewry, P. R., Miflin, B. J. Partial purification and preliminary characterization of soluble leaf proteins specific to virus infected tobacco plants. — J. Gen. Virol., 1977, 34, 345—351.
- Kassanis, B., White, R. F. Effect of polyacrylic acid and b proteins on TMV multiplication in tobacco protoplasts. — Phytopath. Z., 1978, 91, 269—272.

- Olspert, K., Hödrejärv, U. A comparative study of the soluble leaf proteins from healthy and potato virus X-infected tobacco plants. — ENSV TA Toim. Biol., 1979, 28, 116—121.
- van Loon, L. C. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. 'Samsun' and 'Samsun NN'. IV. Similarity of qualitative changes of specific proteins after infection with different viruses and their relationship to acquired resistance. — Virology, 1975, 67, 566—575.
- van Loon, L. C., van Kammen, A. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. 'Samsun' and 'Samsun NN'. II. Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. — Virology, 1970, 40, 199—211.
- White, R. F. Acetylsalicylic acid (Aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. — Virology, 1979, 99, 410—412.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
25/VI 1980

Kersti OLSPERT, Ulrich HÖDREJÄRV

LAHUSTUVAD VALGUD KARTULI-X-VIIRUSEGA NAKATATUD TOMATITAIEMES

Artiklis kirjeldatud katsetes — tomatilehtede lahustuvate valkude elektroforeesil 10% lises polüakrüülamiidgeelis — leiti X_{23} -viirusega nakatatud taimedes 11. päeval pärast inokulatsiooni kaks tervetes taimedes puuduvat valgufraktsiooni (R_f 0,73 ja 0,82) ja X_{17} -viirusega nakatatud taimedes üks fraktsioon (R_f 0,82). Uute valgufraktsioonide liikumiskiirus erineb samal viisil tubakast leitud fraktsioonide omast (R_f 0,69 ja 0,86). See lubab järeldada, et viirusnakkuse puhul taimedes esinevad uued valgud ei ole viirusspetsiifilised, küll aga tekivad taime vastureaktsiooni tulemusena viirusnakkusele.

Kersti OLSPERT, Ulrich HÖDREJÄRV

SOLUBLE LEAF PROTEINS IN POTATO VIRUS X-INFECTED TOMATO PLANTS

Two new protein bands (R_f 0.73 and 0.82) were found in potato virus X_{23} -infected tomato plants of 11-day-old infection when the leaf extract was electrophoresed in 10% polyacrylamide gel. Only one new fraction (R_f 0.82) was found when the plants were infected with potato virus X_{17} . The new proteins in tomato differed from those found by us in tobacco (R_f 0.69 and 0.86). The results allow us to draw a conclusion that the new proteins that arise as a result of virus infection are not virus-specific but they are formed as a response of a plant to infection.