

VÍRUSFERTŐZÖTT NÖVÉNYEK NÖVEKEDÉSE

Peroxidáz enzimek változásai kompatibilis és inkompatibilis gazda—parazita kapcsolatban

BALÁZS ERVIN — SÁGI FERENC — GÁBORJÁNYI RICHÁRD

Vírusfertőzött fogékony gazdanövényben a kórokozó akadálytalanul elszaporodik, a fertőzés szisztemizálódik (kompatibilitás). A szisztemikus fertőzést vagy tünetmentes, vagy látható szimptomák kísérik, mint a mozaikfoltosság, klorózis, levél- és virágdeformációk. A legjellemzőbb és legtöbb esetben szabad szemmel is megfigyelhető tünet a beteg növények növekedésgátlása. Ez a növekedésgátlás a levelek nagyságának csökkenésével és az internodiumok megrövidülésével jellemezhető. Legtöbb esetben a vírusfertőzés által indukált törpe növekedés oka a gazdaságilag is jelentős termés kiesésnek (HORVÁTH 1971). Mindezek ellenére a vírusfertőzés indukálta növekedésgátlás anyagcseréje a növénykörtán és a kórélettan gyakorlatilag tisztázatlan területe.

Rezisztens gazdanövény a kórokozó fertőzésére hiperszenzitív (túlérzékenységi) reakcióval válaszol és azt a fertőzés helyén lokalizálja (inkompatibilitás). Inkompatibilis gazda—parazita kapcsolatban (rezisztens növény) növekedésgátlására nem vagy csak igen korlátozott mértékben számíthatunk.

A kétféle gazda—parazita kapcsolat kórképében tapasztalt jelentős különbség egyik magyarázata lehet, hogy a szisztemikus és a lokális vírusfertőzés a gazdanövényben eltérő anyagcsereváltozásokat indukál. A lokálisan és a szisztemikusan vírusfertőzött növények eltérő anyagcseréje régóta vizsgált kérdés (FARKAS—KIRÁLY—SOLYMOSSY 1960, FARKAS—SOLYMOSSY 1965, GOODMAN—KIRÁLY—ZAITLIN 1968).

A figyelem elsősorban a rezisztencia okára, a kórokozó leküzdésének mechanizmusára összpontosult. Hasonló okokból vizsgálták a hiperszenzitív reakciót körülvevő aktív zóna anyagcseréjét mint a lokális (YARWOOD 1960, ROSS 1961a) és szisztemikus szerzett rezisztencia (ROSS 1961b) fő forrását. A betegség leküzdésének folyamatában feltehetőleg résztvevő néhány enzim (pl. peroxidázok) szerepe azonban tisztázatlan maradt és csak a legutóbbi időkben kapcsolódott a növekedésszabályozó anyagcseréjének kérdéséhez (GASTON—DAVIES 1969).

A megnyúlásos növekedést közvetve szabályozó indolecetsav-oxidáz enzim peroxidázal való azonosítása (RAY 1958) és a peroxidáz enzimek sejten belüli lokalizációjának tisztázása (HACKETT—RAGLAND 1962, RIDGE—OSBORNE 1971, SÁGI 1970, 1971) lehetőséget adott ennek az enzimnek komplex vizsgálatára nemcsak a sejt oldható, de a sejtfalhoz ionosan kötött frakciójában is. Vírusfertőzött növények peroxidáz-aktivitásának mérésére számos esetben sor került, ezek a vizsgálatok azonban egyrészt nem terjedtek ki az egyes peroxidáz-frakciók elkülönítésére, másrészt a kapott eredményeket nem hozták kapcsolatba a vírusfertőzés okozta törpe növekedéssel.

A peroxidáz enzimaktivitását a levélben és a szárban vizsgáltuk. Eredményeinkből kitűnik, hogy a szisztemikus vírusfertőzés során a peroxidáz enzim-aktivitása tartósan megnő mind a szárban, mind a levelek oldható és sejtfalhoz kötött frakcióiban, új izozimek azonban nem képződnek. Rezisztens

gazdanövényben a hiperszenzitív reakció során erős aktivitás mutatható ki a fertőzött levelek oldható és kötött peroxidáz-frakcióiban, ezt azonban új izozimek megjelenése is kíséri. Ugyanakkor a szár kötött és oldható frakciójában új izozimek nem jelennek meg, és a peroxidáz-aktivitás növekedése is csak időleges.

Anyag és módszer

Vírus-gazda kapcsolatok. Vírusfertőzéssel indukált növekedésgátlás vizsgálatára legalkalmasabbnak a dohány (*Nicotiana tabacum* L.) var. *Samsun*, illetve *Xanthi-nc* növényeit találtuk. A normál üvegházi körülmények között nevelt dohányokat 6–8 leveles stádiumban használtuk fel mesterséges vírusfertőzésre.

Fertőzési anyagként a dohány-mozaikvírus U1 törzset, illetve az uborka-mozaikvírus fehér törzset használtuk fel, melyek az alkalmazott *Samsun*, illetve uborka-mozaikvírus esetén *Xanthi* növényeken a mesterséges fertőzés után egy hónappal már jelentős növekedésgátlást okoztak (kompatibilis kapcsolat).

A nekrotikus gént magában hordozó *Xanthi-nc* dohány szolgált a dohány-mozaikvírus lokális gazdanövényeként (inkompatibilis gazda-parazita-kapcsolat).

Inokulumborrásként *Samsun* dohány növények szerepeltek. A fertőzött növények fiatal, felső leveleiből készített 1 : 10 hígítású vizes inokulumot használtuk a növények mechanikai fertőzésére.

A beteg növények növekedésének elbírálását és a szükséges enzimvizsgálatokat a szisztémikusan fertőzött növényeken a mesterséges fertőzés után egy hónap múlva végeztük el. Lokális fertőzéseknél a tünetek megjelenésének időpontját figyelembe véve az inokuláció után 5–7 nap után mértük az enzimaktivitásokat. Rezisztens gazdanövényen maradandó, szisztémikus hatás vizsgálatához 1 hónapos fertőzéseket alkalmaztunk, és a szisztémikushoz hasonlóan a felső levelekből vettünk mintát az enzimvizsgálatok céljára. A méréseket az évszakoknak megfelelően, de legalább négy alkalommal végeztük. Ezért reprezentatív kísérleti eredményeket közlünk.

Peroxidáz. A peroxidáz vizsgálatok céljára a növények felső harmadából vettük a mintákat. 10–10 g nyerssúlyú levél- és szármintákat hidegen dörzsmozsárban, azonos térfogatú desztillált vízzel eldörzsöltük, majd késes homogenizátorban homogenizáltuk. A desztillált vizes kivonat centrifugálása (1500 ford/perc, 10 perc) után a centrifugátum tisztáját különválasztottuk. A maradékhoz újra desztillált vizet adtunk, újra eldörzsöltük és centrifugáltuk. A felülúszó frakciókat 8 ismétlésben összegyűjtöttük. A 8–10. frakciót, mely már peroxidáz-aktivitást nem mutatott, elöntöttük. A felülúszók összegyűjtött anyagát preparatív ultracentrifugálásban (JANETZKI VAC 60 típus, 105 000 g, 1 óra) centrifugáltuk és használtuk fel az oldható peroxidáz-aktivitás mérésére.

A sejtfalhoz kötött peroxidáz enzimet a desztillált vizes frakcionálás maradékából 0,3 M NaCl-t tartalmazó foszfátpufferrel (0,15 M pH 7,2) szabadítottuk fel. A peroxidáz-aktivitásokat BELOSERSKI—PROSKURJAKOV (1956) pirogallolos módszerével spektrofotometrikan mértek. A fehérjetartalom mérésére LOWRY és munkatársai (1951) módszerét választottuk. A kivonatok egy részét poliakrilamid gél elektroforézisnek vetettük alá. A dializált enzimkivonatokat 50%-os polietilénlikollal (Carbowax 20 000) töményítettük. A töményített enzimkivonatokból 100–200 μ g fehérjének megfelelő mennyiséget vittünk fel poliakrilamid géltre (Cyanogum 41) és 0,1 M-os TRIS-EDTA pufferrel elektroforetizáltuk (30 perc, 2,5 mA majd 90 perc 5 mA/cső). A géleket 0,2 M Na-acetát pufferben (pH 5) áztattuk, majd a peroxidázokat benzidin + hidrogénperoxiddal végezt inokulálás után hívtuk elő (SÁGI 1971).

Eredmények és értékelés

Vírusfertőzéssel indukált növekedésgátlás

Mesterséges vírusfertőzés hatására a dohány-mozaikvírus fertőzésére fogékony *Samsun*, illetve az uborka-mozaikvírusra fogékony *Xanthi* dohányok felső levelein a mozaikfoltosság már a 12–15. napon megjelent (1. ábra). Növekedésgátlást csak a fertőzést követő második héttől lehetett megfigyelni. Ekkor a mozaikfoltosság, ill. a dohány-mozaik-

vírus U1 törzsének fertőzése esetén a levéldeformáció kifejezett volt. A fertőzött növényeken a kontrollal azonos számú levél fejlődött, csupán az internodiumok rövidültek meg. A növények hosszanti megnyúlását és levélprodukciónak az 1. táblázatban foglaltuk össze.

Rezisztens gazdanövény (inkompatibilis gazda—parazita kapcsolat) a vírusfertőzésre lokális védekezési reakcióval válaszol (2. ábra). A lokális nekrotizisok a fertőzést követő



1. ábra. Dohány-mozaikvírussal szisztemikusan fertőzött dohány (Kompatibilis gazda—parazita kapcsolat)

Fig. 1. Tobacco systemically infected (compatible host-parasite relation) with tobacco mosaic virus

második naptól láthatók, majd a hőmérséklettől függően érik el teljes nagyságukat. Az általunk használt magas inokulumkoncentráció a levelek felületének kb. 50%-os nekrotizálódását eredményezte. Az első táblázat eredményei lehetőséget adnak a rezisztens *Xanthi* növények növekedésének összehasonlítására is, ahol a növekedésgátlás és levélprodukciónak csökkenése messze elmarad a szisztemikus fertőzéseknél mért adatoktól.

Peroxidáz-aktivitás változások

Eddigi vizsgálatokban kimutatták, hogy a szisztemikusan fertőzött levelek oxidatív anyagcseréje a tünetek megjelenésével párhuzamosan enyhén fokozódik (LOEBENSTEIN—LINSEY 1961, NOVACKY—HAMPTON 1967, STAHMANN—DEMAREST 1972), némely esetben pedig a víruszaporodással is korrelációban van (WOOD—BARBARA 1971). Méréseink szerint (2. táblázat) a peroxidáz-aktivitás a levelekben szintén enyhe emelkedést mutat mind a citoplazmatikus, mind a sejtfalhoz kötött frakcióban. Tulajdonképpen a citoplazmatikus frakcióban mért enzimaktivitások adnak legjobb lehetőséget az irodalmi adatokkal való összehasonlításra, bár az általunk oldhatónak nevezett frakció nem tar-



2. ábra. Lokális léziók dohány-mozaikvírussal fertőzött hiperszenzitív dohányon (Inkompatibilis gazda—parazita kapcsolat)

Fig. 2. Local lesions on the leaves of hypersensitive tobacco after tobacco mosaic virus infection (Incompatible host—parasite relation)

I. táblázat
Table 1

*Egészséges és vírusfertőzött növények növekedése és levélsúlya**
Growth and leaf weight of healthy and virus infected plants

Gazda — parazita kapcsolat Host — parasite relation	Szárhossz (cm) Stem length	Levélsúly (g) Leaf weight
DMV — <i>Samsun</i> (kompatibilis)	8,6	61,5
Kontrol <i>Samsun</i>	19,0	89,0
UMV — <i>Xanthi</i> (kompatibilis)	9,5	50,0
Kontrol <i>Xanthi</i>	16,3	101,5
DMV — <i>Xanthi</i> (inkompatibilis)	16,5	88,5
Kontrol <i>Xanthi</i>	17,9	99,6

* Mérések a fertőzés után egy hónappal

Measures one month after inoculation

DMV = dohány-mozaikvírus = tobacco mosaic virus

UMV = uborka-mozaikvírus = cucumber mosaic virus

Peroxidáz-aktivitások fogékony gazda—parazita kapcsolatban
Peroxidase activities in susceptible host—parasite relation

Növényi rész Plant part	Peroxidáz-frakció Peroxidase fraction	Peroxidáz-aktivitás* Peroxidase activity	
		DMV—Samsun	UMV—Xanthi
Levél Leaf	oldható soluble	1,30	0,93
	kötött bounded	1,49	1,60
Szár Stem	oldható soluble	2,69	1,80
	kötött bounded	2,07	1,32

* Kontrollhoz viszonyított specifikus aktivitások 10 μg fehérjére vonatkoztatva
Specific activity rates presented per 10 μg protein

talmazza sem a riboszómális, sem a mitokondriális peroxidázokat. Ilyen formában eredményeink összhangban állnak az eddigi irodalmi adatokkal, bár azoknál általában alacsonyabb értékek. Különösen érvényes ez a *Xanthi*—dohány-mozaikvírus kapcsolatára. A sejtfalához kötött peroxidáz-aktivitás enyhe emelkedése részben magyarázhatja a levelek csökkent mértékű növekedését.

A szárban mért peroxidáz enzimaktivitások az egészségeshez viszonyítva szintén emelkedő tendenciát mutatnak, ami a fertőzéssel kapcsolatos általános stressz hatás tartós érvényesülését bizonyítja. Mind az oldható, mind a kötött frakciókban mért aktivitások a kontrollhoz viszonyítva átlag kétszeresére emelkednek. Ez a fokozott enzimaktivitás mind a dohány-, mind az uborka-mozaikvírus esetén megfigyelhető volt. A szárban mért peroxidáz-aktivitás emelkedésének számottevő szerepe lehet a sejtmegnyúlásért felelős indolecetsav eloxidálásában, az ezzel kapcsolatos erős növekedésgátlásban.

Rezisztens növények esetén a vírusfertőzéssel kapcsolatos nekrotén reakció az enzimek egész sorát aktiválja a fertőzött levélben mind a nekrotikus helyén, mind a léziókat körülvevő aktív zónában (SOLYMOSY—FARKAS 1963). A mért peroxidáz-aktivitások a tünetek teljes kifejlődésének idejében mutatnak maximumot (VAN LOON—GELEEN 1971).

Az inokulált levelekben a fertőzés utáni 5—7. napon mért peroxidáz-aktivitásokat a 3. táblázat mutatja. A tünetek kifejlődésének idejében mért adatok nagy eltéréseket mutatnak az enzím forrása szerint. A fertőzött levelek oldható frakciójában mért 3—4-szeres aktivitás emelkedés nem meglepő, hiszen az irodalmi adatokból jórészt ismert. Annál fontosabb azonban, hogy a többi levél-, ill. szárrészről nyert peroxidáz-aktivitások csak enyhe változást mutatnak.

Mért peroxidáz adataink különösen a tüneti megfigyelésekkel állnak jó összhangban. Az inokuláció után a rezisztens növények stressz hatásán mennek keresztül, s ha a fertőzés még nekrotén abortícióval is jár, elveszthetik egy vagy több levelüket. Így, érthető módon, rövid ideig növekedési zavarok állhatnak elő, melyeket jórészt kihevernek, s a kórokozó fertőzésnek lokalizációja után növekedésük újból normális lesz (vö. 1. táblázat).

SIMONS és ROSS (1970, 1971) vizsgálatai szerint azonban a peroxidáz-aktivitás lokális gazdanövény felső leveleiben magas szinten marad a fertőzést követő három hét után is. Az újonnan fejlődött egészséges levelekben mért peroxidáz-aktivitás korrelációban van a szisztémikus szerzett rezisztenciával. Más enzimek esetén ilyen tartós hatást nem lehetett megfigyelni.

Ezek az eredmények látszólag ellentmondásban vannak a fertőzött növények viszonylag kiegyensúlyozott növekedésével. Ha azonban a peroxidáz-aktivitásokat az említett felosztásban, tehát oldott és sejtfalhoz kötött formában és mind szárban, mind levélben

Peroxidáz-aktivitások inkompatibilis gazda–parazita kapcsolatban
Peroxidase activities in incompatible host–parasite relation

Növényi rész Plant part	Peroxidáz-frakció Peroxidase fraction	Peroxidáz-aktivitás* Peroxidase activity	
		DMV– <i>Xanthi</i> **	DMV– <i>Xanthi</i> ***
Levél Leaf	oldható soluble	3,60	1,29
	kötött bounded	1,29	0,98
Szár Stem	oldható soluble	0,95	0,72
	kötött bounded	1,44	1,02

* Kontrollhoz viszonyított specifikus aktivitások 10 μ g fehérjére vonatkoztatva
Specific activity rates presented per 10 μ g protein

** Mérés a fertőzést követő 6. napon, az inokulált részekben
Measurement 6 days after inoculation

*** Mérés a fertőzést követőleg újonnan kifejlődött levelekben, 30 nap múlva
Measurement 30 days after inoculation in the newly developed parts

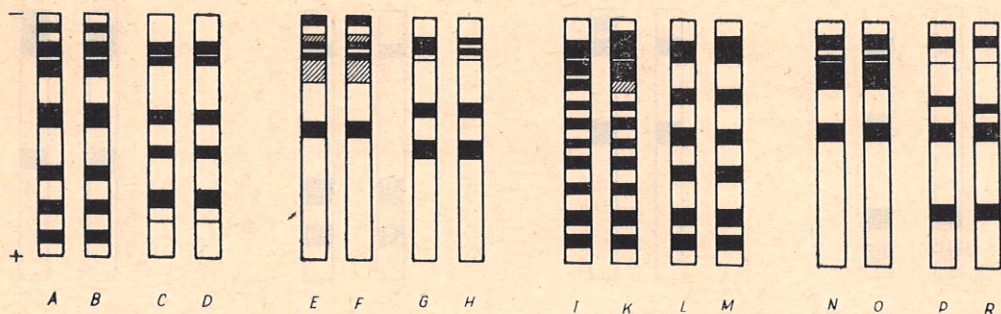
vizsgáljuk, az ellentmondás megoldódik. Egy hónappal a lokális fertőzés után a peroxidáz-aktivitások kisebbek a léziók kifejlődésekor mért értékeknél (3. táblázat).

SIMONS és ROSS (1970, 1971) említett vizsgálataiban mért tartós peroxidáz-aktivitás növekedés adataink szerint csak az újonnan fejlődött levelek oldható frakciójában jelentkezik. A levél kötött peroxidáz-aktivitása, ill. a szárfrakciókban mért aktivitások teljesen a kontrollhoz hasonlóan alakulnak. A tartós aktivitás-emelkedés itt nem mutatható ki. Az enzimaktivitás emelkedése csak olyan enzimfrakcióra vonatkozik, melynek a szár megnyúlásos növekedésében valószínűleg alárendelt jelentősége van.

Peroxidáz izoenzimek

A peroxidáz enzimek vírúsfertőzés hatására nemcsak aktivitásukban, de a komponensek számát tekintve is eltérést mutatnak. Eddigi adatok szerint szisztemikus gazda–parazita kapcsolatban az enzimösszetétel nem változik meg, míg a lokális védekezési reakció új enzimek szintézisével kapcsolatos (LOEBENSTEIN–LINSEY 1961, FARKAS–STAHMANN 1966, VAN LOON–GEELEN 1971, STAHMANN–DEMOREST 1972). Az utóbbi megfigyeléseknek ellentmondó adatokról is beszámoltak (NOVACKY–HAMPTON 1967, 1968, valamint CHANT–BATES 1970). Megállapításaik szerint a lokális gazdában ugyanazok a peroxidáz izoenzimek jelennek meg, mint amelyek a természetes előregedéssel (szeneszcencia) kapcsolatosak, s a megjelenő „új” izozimek csak a gazdaszervezet már meglévő enzimeinek aktív formái. Ezek szerint vírus-specifikus izozim nem de novo szintézissel képződik, hanem a meggyorsuló szeneszcencia eredménye. A dolgozat nem ad azonban tájékoztatást olyan izozimról, amely csak a vírúsfertőzött növényekben fordult elő, a szeneszcensben nem. FARKAS–STAHMANN (1966) és STAHMANN–DEMOREST (1972) a lokálisan fertőzött növények peroxidáz izoenzimeit között valóban talált szeneszcenciával összefüggő új izozimeket, de olyan enzimet is, mely csak a vírúsfertőzött növényben fordul elő, a szeneszcensben nem. Az új izozim képződése fehérje-szintézis inhibitorokkal megakadályozható, ami egyértelműen a de novo szintézisre utal.

Peroxidáz izozimek megoszlását az általunk használt felosztásban nem vizsgálták. Így az irodalmi adatokkal összehasonlításra legfeljebb egy a citoplazmatikus oldható frakcióban nyílik némi lehetőség (SOLYMOSEY et al. 1967).



3. ábra. Peroxidáz izoenzim-összetétel kompatibilis gazda – parazita kapcsolatban, szisztemikusan fertőzött dohányok levél- és szárfrakcióiban

Fig. 3. Peroxidase isoenzyme spectrum in compatible host – parasite relation, in the leaf and stem fractions of systemically infected tobacco

A	DMV – <i>Samsun</i>	(TMV – <i>Samsun</i>)
B	K – <i>Samsun</i>	(C – <i>Samsun</i>)
C	UMV – <i>Xanthi</i>	(CMV – <i>Xanthi</i>)
D	K – <i>Xanthi</i>	(C – <i>Xanthi</i>)
E	DMV – <i>Samsun</i>	(TMV – <i>Samsun</i>)
F	K – <i>Samsun</i>	(C – <i>Samsun</i>)
G	UMV – <i>Xanthi</i>	(CMV – <i>Xanthi</i>)
H	K – <i>Xanthi</i>	(C – <i>Xanthi</i>)
I	DMV – <i>Samsun</i>	(TMV – <i>Samsun</i>)
K	K – <i>Samsun</i>	(C – <i>Samsun</i>)
L	UMV – <i>Xanthi</i>	(CMV – <i>Xanthi</i>)
M	K – <i>Xanthi</i>	(C – <i>Xanthi</i>)
N	DMV – <i>Samsun</i>	(TMV – <i>Samsun</i>)
O	K – <i>Samsun</i>	(C – <i>Samsun</i>)
P	UMV – <i>Xanthi</i>	(CMV – <i>Xanthi</i>)
R	K – <i>Xanthi</i>	(C – <i>Xanthi</i>)

A–D levél oldható (leaf soluble)

E–H levél kötött (leaf bound)

I–M szár oldható (stem soluble)

N–R szár kötött (stem bound)

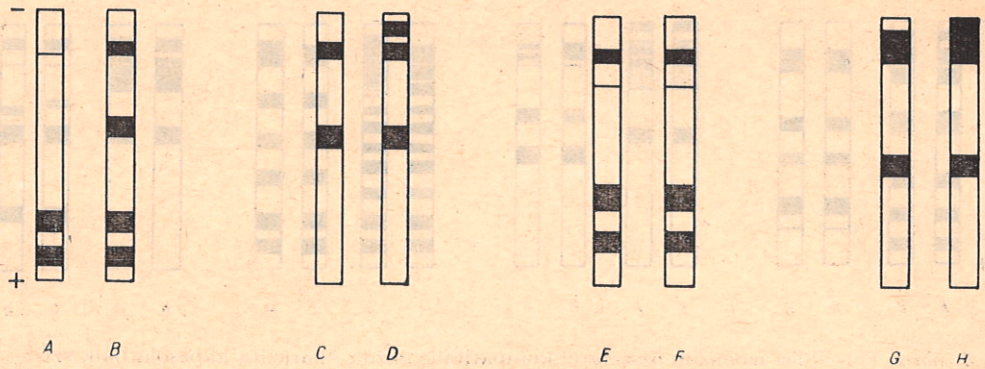
DMV = dohány-mozaikvírus, TMV = tobacco mosaic virus

UMV = uborka-mozaikvírus, CMV = cucumber mosaic virus

K = kontroll, C = control

Samsun dohányokon a levél oldható frakciójában a vártak megfelelően új izozimeket nem tapasztaltunk (3. ábra), csupán az egyes izoenzimek eltérő festődése utal a fertőzött növények emelkedett aktivitására. Hasonló eredményeket kaptunk a többi kombinációban is. Az 1. ábrán közölt eredmények is reprezentatív jellegűek. A méréseket a négy évszakra megfelelően többször megismételtük, de a DMV, ill. UMV fertőzése szisztemikus kapcsolatban soha sem járt új izozimek megjelenésével, bár különbségek az egyes vizsgálatokban a kontrollok között adódtak. Hasonló évszaki szerinti változásokról számolnak be McCOWN és munkatársai (1969) is. Aktivitásbeli különbségek azonban előfordultak. A fertőzött minták egyes izoenzimeit feltűnően erős aktivitást mutattak, ami összhangban áll a spektrofotometriás mérési eredményekkel.

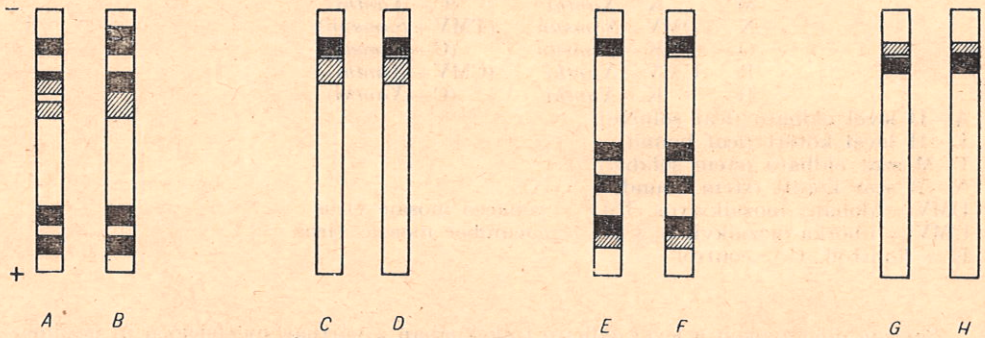
Rezisztens növényeken a kép teljesen eltérő. Az inokulált leveleket érintő lokális vírusfertőzés hatására új izoenzimek jelennek meg nemcsak a citoplazmatikus, de a sejtfalhoz kötött frakcióban is, jelezve a sejtfal peroxidáz enzimszisztémájának jelentős megváltozását (4. ábra). Az oldható frakcióban két, a kötött frakcióban egy új izozim jelenik meg. Különösen figyelemre méltó, hogy az új izozimek részben kationos peroxidázok. A kationos peroxidázokkal kapcsolatban megjegyezzük, hogy a torna-peroxidáz egy kationos izozimje az etilénképzésben aktívabb, mint egy anionos (YANG 1968). A dohány kationos peroxidázainak emelkedése rezisztens gazda–parazita kapcsolatba összhangban hoz-



4. ábra. Peroxidáz izoenzimek inkompatibilis gazda – parazita kapcsolatban lokális fertőzésű dohányok levél- és szárfraekcióiban

Fig. 4. Peroxidase isoenzymes in incompatible host – parasite relation, in the stem and leaf fractions of local infected tobaccos

A	K – <i>Xanthi</i>	(C – <i>Xanthi</i>)	} Levél oldható
B	DMV – <i>Xanthi</i>	(TMV – <i>Xanthi</i>)	
C	K – <i>Xanthi</i>	(C – <i>Xanthi</i>)	} Levél kötött
D	DMV – <i>Xanthi</i>	(TMV – <i>Xanthi</i>)	
E	K – <i>Xanthi</i>	(C – <i>Xanthi</i>)	} Szár oldható
F	DMV – <i>Xanthi</i>	(TMV – <i>Xanthi</i>)	
G	K – <i>Xanthi</i>	(C – <i>Xanthi</i>)	} Szár kötött
H	DMV – <i>Xanthi</i>	(TMV – <i>Xanthi</i>)	



5. ábra. Peroxidáz izoenzimek inkompatibilis gazda – parazita kapcsolatban az inokulációt követő 5. és 30. napon

Fig. 5. Peroxidase isoenzymes in incompatible host – parasite relation, 5 and 30 days after inoculation

A	Fertőzött levél (Inoculated leaf)
B	Újonnan fejlődött levél (Newly developed leaf)
C	Fertőzött levél (Inoculated leaf)
D	Újonnan fejlődött levél (Newly developed leaf)
E	Fertőzés után 5 nappal (Five days after inoculation)
F	Fertőzés után 30 nappal (Thirty days after inoculation)
G	Fertőzés után 5 nappal (Five days after inoculation)
H	Fertőzés után 30 nappal (Thirty days after inoculation)
A – B	Levél oldható (Leaf soluble)
C – D	Levél kötött (Leaf bound)
E – F	Szár oldható (Stem soluble)
G – H	Szár kötött (Stem bound)

Szisztemikus vírusfertőzés törpítő hatásának ellensúlyozása Xanthi dohányokon*
Reverse of dwarfing effect of systemic virus infection on Xanthi tobaccos

Kezelés Treatment	Szárhossz (cm) Stem length	Levélsúly (g) Leaf weight
Indol-3-ecetsav (10 ppm) Indole-3-acetic acid	17,2	61,3
3-Indolil-acetamid (10 ppm) 3-Indolyl-acetamide	14,7	57,6
5-Hydroxi-indol-3-il-ecetsav (10 ppm) 5-Hydroxy-indole-3-yl-acetic acid	14,2	59,6
Gibberellinsav (10 ppm) Gibberellic acid (GA 3)	20,4	72,0
Benziladenin (30 ppm) Benzyladenine	12,9	41,5
Fertőzetlen kontroll Non-infected control	21,8	85,7
Fertőzött kontroll Infected control	14,4	59,2

* Kiértékelés az uborka-mozaikvírus fertőzés után egy hónappal (20—20 mérés átlagában)

Measurement a month after inoculation with cucumber mosaic virus (Averages from 20—20 plants)

ható a vírusfertőzés hatására megnövekedett etiléntermeléssel is (GÁBORJÁNYI—BALÁZS—KIRÁLY 1971, NAKAGAKI—HIRAI 1971).

A szár kötött és oldható peroxidáz-frakciói új izozim megjelenését nem mutatták, ami azt jelenti, hogy a fertőzésnek ez esetben csak helyi hatása van a peroxidáz enzimekre. Aktivitásbeli különbségek természetesen itt is adódtak. Egy hónapos fertőzés után azonban a rezisztens gazdanövény szárában a kontrollhoz viszonyítva izoenzimbeli változásokat nem tapasztaltunk, míg a levelek oldható és kötött peroxidáz izoenzimeit a kontrollnál magasabb aktivitással tűntek ki (5. ábra). Ez a nagyobb aktivitás összhangban van a peroxidázok spektrofotometrikus úton mért aktivitásemelkedésével. A tartós vírusfertőzés-hatás tehát csak az újonnan fejlődött levelek peroxidáz-aktivitásra terjed ki.

Kísérleti eredményeink szerint tehát szisztemikus vírusfertőzés esetén tartós peroxidáz-aktivitás emelkedéssel kell számolnunk, új izoenzimek megjelenése nélkül, míg a rezisztens gazda—parazita kapcsolatban a vírusfertőzés hatására új izozimek jelennek meg. Tartós hatás csak a felső levelek oldható peroxidáz-frakciójában jelentkezik.

Vírusfertőzéssel indukált törpülés ellensúlyozása

A szisztemikus vírusfertőzés okozta törpe növekedésért feltehetően a peroxidáz enzimek (elsősorban az indolecetsav-peroxidáz) is felelősek az indolecetsav eloxidálása miatt. Joggal feltételezhető, hogy hormonok mesterséges pótlásával a vírus-indukált törpülés kiegyensúlyozható. E célból indol-3-ecetsav (10 ppm), indol-3-acetamid (10 ppm), 5-hidroxi-3-il-ecetsav (10 ppm), gibberellinsav (10 ppm) és benziladenin (30 ppm) oldataival uborka mozaik vírussal fertőzött Xanthi dohányokat hetente egy alkalommal, összesen négyszer permeteztünk. A vírusfertőzés okozta növekedésgátlást csak gibberellinsavval tudtuk ellensúlyozni (4. táblázat).

Az indol-3-ecetsav csak kis mennyiségben növeli a növények súlyát, s csak kis mértékben volt alkalmas a törpülés ellensúlyozására, míg a többi anyag hatástalannak bizonyult. A benziladenin a vártnak megfelelően még jobban törpítette a vírusfertőzött növényeket. Az exogén indolecetsav gyenge hatását az indokolhatja, hogy egy része megkötődik (vö. ANDREAE—GOOD 1955), másrészt mint az indolecetsav-peroxidáz szubsztátuma indukálja a bontó enzim képződését (GALSTON—DALBERG 1954).

Gibberellinsavval elért jó eredményeink kapcsolatba hozhatók KURAIISHI—MUIR (1962) korábbi megfigyeléseivel, mely szerint a gibberellines kezelés fokozza a növények auxin szintjét. Ezzel a hatással párhuzamosan SÁGI (1972) legújabb adatai alapján a gibberellinsav a sejtfalhoz ionosan kötött indolecetsav-peroxidáz aktivitását csökkenti. Így a vírusfertőzés indukálta enzimaktivitás emelkedése gibberellin kezeléssel kompenzálható lett. A vírusfertőzés törpítő hatását MARAMOROSCH (1957), valamint ORLOB—ARNY (1961) gibberellin kezeléssel korábban ellensúlyozták, így kísérleti eredményeink e szempontból nem meglepőek, de a törpülés ellensúlyozásának mechanizmusára szolgáltat adatokat.

Összefoglalás

Dohány-mozaikvírussal és uborka-mozaikvírussal szisztemikusan fertőzött *Samsun* dohányok (kompatibilis gazda—parazita kapcsolat) növekedés gátlását mértük a mesterséges vírusfertőzést követő egy hónap után. A fogékony gazdanövény növekedése a kontrollhoz képest erősen csökken. A vírusfertőzés-indukálta törpülés egyik oka a peroxidáz enzimek fokozott aktivitása lehet különös tekintettel az eddigi még nem vizsgált, szárban lokalizált és a sejtfalhoz ionosan kötött peroxidázokra. Szisztemikus vírusfertőzés nem indukál új peroxidáz izoenzimek szintézisét. Dohány-mozaikvírussal fertőzött *Xanthi* dohányon (inkompatibilis gazda—parazita kapcsolat) a növekedésgátlás jelentéktelen. A peroxidáz enzimek aktivitása jelentősen csak a fertőzött levelek oldható enzimeiben nő. A levelek oldható és kötött frakcióiban a vírusfertőzés hatására új izoenzimek jelennek meg. A fertőzés után egy hónappal a nagyobb peroxidáz-aktivitás csak az újonnan fejlődött levelek oldható frakciójában mutatkozik, ami a szisztemikus szerzett rezisztenciával ugyan korrelációban van, de a növekedés szempontjából valószínűleg nincs jelentősége. A peroxidáz-aktivitás emelkedése a szár enzimfrakcióiban nem mutatható ki.

A szisztemikus vírusfertőzés törpítő hatását gibberellinsavas kezeléssel ellensúlyoztuk. A gibberellinsav a sejtfalhoz kötött indolecetsav-peroxidáz aktivitását csökkenti, és feltehetőleg ezáltal közömbösíti a vírusfertőzés okozta növekedésgátlást.

IRODALOM — LITERATURE

- ANDREAE, W. A.—GOOD, N. E. 1955: The formation of indolylacetylaspartic acid in pea seedlings. — *Plant Physiol.* **30** p. 380—382.
- BELOSERSKI, A. N.—PROSKURJAKOV, B. 1956: *Praktikum der Biochemie der Pflanzen.* — Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, p. 298.
- CHANT, S. R.—BATES, D. C. 1970: The effect of tobacco mosaic virus and potato virus X on peroxidase isozymes in *Nicotiana glutinosa*. — *Phytochemistry* **9** p. 2323—2326.
- FARKAS, G. L.—SOLYMOSSY, F. 1965: Host metabolism and symptom production in virus-infected plants. — *Phytopathol. Z.* **53** p. 85—93.
- FARKAS, G. L.—STAHMANN, M. A. 1966: On the nature of changes in peroxidase isoenzymes in bean leaves infected by southern bean mosaic virus. — *Phytopathology* **56** p. 669—677.
- FARKAS, G. L.—KIRÁLY, Z.—SOLYMOSSY, F. 1960: Role of oxidative metabolism in the localization of viruses. — *Virology* **12** p. 408—421.

- GALSTON, A. W.—DALBERG, L. Y. 1954: The adaptive formation and physiological significance of indoleacetic acid oxidase. — *Amer. J. Bot.* **41** p. 373—380.
- GALSTON, A. W.—DAVIES, P. J. 1969: Hormonal regulation in higher plants. — *Science* **163** p. 1288—1297.
- GÁBORJÁNYI, R.—BALÁZS, E.—KIRÁLY, Z. 1971: Ethylene production, tissue senescence and local virus infection. — *Acta Phytopath. Hung.* **6** p. 51—55.
- GOODMAN, R. N.—KIRÁLY, Z.—ZAITLIN, M. 1967: The Biochemistry and Physiology of Infectious Plant Disease. — Van Nostrand, Princeton New Jersey. p. 354.
- HACKETT, D. P.—RAGLAND, T. E. 1962: Oxidation of menadiol by fractions isolated from non-photosynthetic plant tissues. — *Plant Physiol.* **37** p. 656—662.
- HORVÁTH J. 1971: A dohánypatogén vírusok és víruskomplexek okozta termésveszteségek hazai dohányfajtáinknál. 1. Burgonya Y-vírus, uborka mozaik vírus és dohány mozaik vírus. — Kísérletügyi Közlem. Növénytermesztés **62** p. 159—184.
- KIRÁLY Z. 1968: A növényi betegségellenállóság életana. — *Akad. Kiadó, Bpest.* p. 138.
- KURAISHI, S.—MUIR, R. M. 1962: Increase in diffusible auxin after treatment with gibberellin. — *Science* **138** p. 760—761.
- LOEBENSTEIN, G.—LINSEY, N. 1961: Peroxidase activity in virus infected sweet potatoes. — *Phytopathology* **51** p. 533—537.
- LOWRY, O. H.—ROSEBROUGH, N.—FARR, A. L.—RANDALL, R. 1957: Protein measurements with the Folin's phenol reagent. — *J. Biol. Chem.* **197** p. 265—275.
- MARAMAROSCH, K. 1957: Reversal of virus caused stunting in plants by gibberellic acid. — *Science* **126** p. 651—652.
- MCCOWN, B. H.—MC LEESTER, R. C.—BECK, G. E.—HALL, T. C. 1969: Environment induced changes in peroxidase zymograms in the stems deciduous and evergreen plants. — *Cryobiology* **5** p. 410—412.
- NAKAGAKI, Y.—HIRAI, T. 1971: Effect of detached leaf treatment on tobacco mosaic virus multiplication in tobacco and bean leaves. — *Phytopathology* **61** p. 22—27.
- NOVACKY, A.—HAMPTON, R. E. 1967: Peroxidase isozymes in tobacco infected with tobacco etch virus. — *Phytopathology* **57** p. 463.
- NOVACKY, A.—HAMPTON, R. E. 1968: Peroxidase isozymes in virusinfected plants. — *Phytopathology* **58** p. 301—305.
- ORLOB, G. B.—ARNY, D. C. 1961: Influence of some environmental factors and growth substance on the development of barley yellow dwarf. — *Plant Dis. Repr.* **45** p. 192—195.
- RAY, P. M. 1958: Destruction of auxin.—Ann. — *Rev. Plant Physiol.* **9** p. 81—118.
- RIDGE, I.—OSBORNE, D. J. 1971: Role of peroxidase when hydroxyprolinerich-protein in plant cell walls is increased by ethylene. — *Nature New Biol.* **229** p. 205—208.
- ROSS, F. A. 1961 a: Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. — *Virology* **14** p. 329—339.
- ROSS, F. A. 1961 b: Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. — *Virology* **14** p. 340—358.
- SÁGI F. 1970: Az indol-3-ecetsav-oxidáz sejten belüli lokalizációja a *Lupinus albus* L. hipokotiljában. I. Frakcionálás vizes közegekkel. — *Bot. Közlem.* **57** p. 251—257.
- SÁGI F. 1971: A kötött és oldható indolecetsavoxidáz és peroxidázzal való azonosságának vizsgálata. — XII. Biokémiai Vándorgyűlés Előadásai, Pécs. 39—43.
- SÁGI, F. 1972: Cell wall — bound indoleacetic oxidases in hypocotyls of the white lupine, *Lupinus albus* L. — *Int. Conf. on Natural Plant Growth Substances Libice*, p. 11—15.
- SIMONS, T. J.—ROSS, F. A. 1970: Enhanced peroxidase activity associated with induction of resistance to tobacco mosaic virus in hypersensitive tobacco. — *Phytopathology* **60** p. 383—384.
- SIMONS, T. J.—ROSS, F. A. 1971: Metabolic changes associated with systemic induced resistance to tobacco mosaic virus in Samsun NN tobacco. — *Phytopathology* **61** p. 293—300.
- SOLYMOSEY, F.—FARKAS, G. L. 1963: Metabolic characteristics at the enzymatic level of tobacco tissues exhibiting localized acquired resistance to virus infection. — *Virology* **21** p. 210—221.
- SOLYMOSEY, F.—SZIRMAI, J.—BECZNER, L.—FARKAS, G. L. 1967: Changes in peroxidase-isozyme patterns induced by virus infection. — *Virology* **32** p. 117—121.
- STAHMANN, M. A.—DEMAREST, D. M. 1972: Changes in isozymes of host and pathogen following some fungal infections. — *Symp. Biol. Hung.* **13** p.
- VAN LOON, L. C.—GEELEN, J. L. M. C. 1971: The relation of polyphenoloxidase and

- peroxidase to symptom expression in tobacco var. Samsun NN after infection with tobacco mosaic virus. — Acta Phytopath. Hung. 6 p. 9—20.
- WOOD, K. R.—BARBARA, D. J. 1971: Virus multiplication and peroxidase activity in leaves of cucumber (*Cucumis sativus* L) cultivars systematically infected with the two strain of cucumber mosaic virus. — Physiological Plant Pathology 2 p. 73—82.
- YANG, S. F. 1968: Biosynthesis of ethylene. In: Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances. — Runge. Press, Ottawa p. 1217—1228.
- YARWOOD, C. E. 1960: Localized acquired resistance to tobacco mosaic virus. — Phytopathology 50 p. 741—744.

GROWTH INHIBITION OF VIRUS INFECTED PLANTS

Alterations of peroxidase enzymes in compatible and incompatible host — parasite relation

E. Balázs¹ — F. Sági² — R. Gáborjányi³

The growth inhibition of tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L., cv *Samsun* and cv *Xanthi-ne*) was measured one month after systemic (compatible) infection with tobacco mosaic virus (TMV U1 strain) and cucumber mosaic virus (CMV White strain). A positive correlation was determined between the virus induced stunting of the host and the enhanced peroxidase activity with special regard to the cell-wall bound peroxidase enzymes of the host stem (Table 2). The systemic infection did not induce synthesis of new peroxidase isoenzymes (Fig. 3).

The growth inhibition in TMV infected hypersensitive tobacco (*N. tabacum* cv. *Xanthi-ne*, a local-lesion host) was insignificant (Table 1). Similarly, no significant change in the peroxidase activities was experienced in this case, excepting the soluble fraction of the inoculated leaves (Table 3). New peroxidase isoenzymes appeared in the soluble and cell wall bound fraction, but there was no change in the isozyme spectra of the stem fractions (Fig. 4).

Permanent effect of local virus infection on the peroxidase activities could be determined only in the soluble fraction of the young, non-infected leaves, connected with systemic acquired resistance. No change of activities was registered in the peroxidase enzyme fractions of the stems, correlated with the quite normal growing.

The stunting effect of systemic virus infection was reversed by treatment with gibberellic acid (GA 3). The gibberellin treatment could reduce the indolacetic acid oxidase activity in the cell wall fraction, possibly controlling thereby the growth processes.

(Addresses: ^{1,3}: Research Institute for Plant Protection. H—1022 Budapest, Hermann O. u. 15; ²: Institute for Horticultural Plant Breeding and Growing. H—9431 Fertőd)