

TOBAMOVİRUSLARLA YOLUXMUŞ TOMAT (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) BİTKİSİNDƏ QURU BİOKÜTLƏNİN, NİSBI SU TUTUMUNUN, QLİSİN-BETAİNİN VƏ HİDROGEN-PEROKSİDİN MİQDARI

Mirzəyeva S.T., Sultanova N.F. *, Əliyeva D.R., Hüseynova İ.M.

AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiya İnstitutu, Mətbuat prospekti 2A, Bakı AZ1073,
E-mail: nargizsultanova@mail.ru

Abşeron rayonu ərazisinə təşkil edilən fitopatoloji monitorinqlər zamanı tomat bitkisindən xarakterik tobamovirus əlamətlərinə malik bitki nümunələri toplanmışdır. Nümunələr ilkin olaraq seroloji diaqnostika metodlarının köməyi ilə tobamovirus infeksiyasını aşkar etmək məqsədilə yoxlanılmış, onlardan total RNT ayrılmış və tobamovirus genomuna uyğun olan tobamo 1 və tobamo 2 universal praymer cütükləri ilə aparılan əks - transkripsiya polimeraz zəncir reaksiyası (ƏT-PZR) metodu ilə simptomatik tomat bitkilərində tobamovirusların olduğunu təsdiq edilmişdir. Eyni zamanda sağlam və virusla yoluxmuş pomidor bitkisinin yarpaqlarında quru biokütlənin, nisbi su tutumunun və hidrogen-peroksidin miqdarı tədqiq edilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, bitkinin tobamovirusla yoluxması quru biokütlənin və hidrogen-peroksidin miqdarının artmasına, nisbi su tutumunun isə azalmasına səbəb olur.

Açar sözlər: *Solanum lycopersicum, tobamovirus, RT-PZR, nisbi su tutumu, hidrogen-peroksid, qlisin-betain.*

Giriş

Qeyd etmək lazımdır ki, tomat (*Solanum lycopersicum*) bitkisi qida sənayesində istifadə olunan əsas tərəvəz kulturası hesab edilir. BMT-nin Ərzaq və Kənd Təsərrüfatı Təşkilatının (FAO) məlumatına görə, dünyada hər il təxminən 4 milyon 734 min hektar sahədən 159 milyon ton pomidor yığılır və istehsal olunur. Dövlət Statistika Komitəsindən verilən məlumata görə ölkəmizdə 27,4 min hektar sahədə pomidor əkilir və bu göstərici 463,2 min ton təşkil edir. Tomat bitkisinin məhsuldarlığına mənfi təsir göstərən təhlükəli xəstəliklər arasında viruslar tərəfindən törədilən virozlar dünyada iqtisadi cəhətdən daha təhlükəli problem hesab edilir.

Hazırda elmə tomat bitkisini yoluxduran 50-dən artıq virus növü məlumdur [5]. Virozlar zamanı bitkinin inkişafı demək olar ki, dayanır, meyvələri və kökləri zədələnir, müxtəlif orqanlarda piqment ləkələr müşahidə olunur (xüsusilə, yarpaq və meyvələrdə), metabolizm pozulur (tənəffüs, fotosintez, ion mübadiləsi və s.) və nəticədə bitki məhv olur. Tobamovirusların identifikasiyası və sahib bitki ilə qarşılıqlı təsirinin öyrənilməsi iqtisadi cəhətdən əhəmiyyətli problem olaraq qalmaqdadır.

Tobamovirusların RNT genomu 4 polipeptid zəncirin kodlaşmasında iştirak edir: qeyri-struktur zülal, replikasiya fermentləri (RNT asılı RNT polimerazalar, RdRp), hüceyrələrarası virus genomunun transportunu həyata keçirən-transport zülal və örtük zülal. Transport zülal sahib bitkinin virusla yoluxmasının hələ erkən dövrlərində plazmodesmatalarda (ağızcıqlarda) lokalizə olunur, daha sonra isə sahib bitkinin növündən asılı olaraq, müxtəlif hüceyrə faktorları ilə əlaqəyə daxil olur [12]. Tobamovirusların diametrləri ~18 nm, uzunluqları isə 300-310 nm arasında dəyişir. Xətti, qeyri-seqmentar və təqribən 6,3-6,5 m.n.c. həcmində genomdan ibarətdirlər. Tobamovirus cinsinin nümayəndələrində replikasiya prosesi əsasən sitoplazmada lokallaşmışdır. Replikasiya prosesi, (+) ssRNA genomlu virusların replikasiya və transkripsiya proseslərinə uyğun gəlir. Virus sahib bitki genomunda monopartite şəkildə yerləşir. Virionların sahib bitkiyə transmissiyası əsasən mexaniki yolla baş verir.

Müxtəlif təbiətli patogenlərə qarşı bitkinin davamlılıq dərəcəsi stres vəziyyətlərində bitkinin metabolizmində baş verən dəyişikliklərə və həyatilik qabiliyyətinə cavabdeh olan bir sıra fizioloji və

biokimyəvi göstəricilərlə təmin olunur. Məlumdur ki, ətraf mühitin əlverişsiz amilləri hüceyrədə oksigenin fəal formalarının (OFF) əmələ gəlməsinə səbəb olur ki, bu da öz növbəsində oksidləşmə stresinə gətirib çıxarır. Tədqiqatlar göstərir ki, antioksidant fermentlərin yüksək miqdarına malik olan bitkilər oksigenin fəal formalarının təsirinə daha çox davamlılıq göstərir [4,11]. Hüceyrələrin oksidləşmə stresindən müdafiəsini təmin edən əsas fermentlərdən biri peroksidazalardır. Onlar hüceyrədə H₂O₂-nin və üzvi peroksidlərin miqdarının tənzimlənməsinə nəzarət edirlər. Təbiətdə tez-tez rast gəlinən və geniş təsir spektrinə malik olan peroksidazaları bitkilərin stresə davamlılığının markeri hesab etmək olar.

Tədqiqat işinin məqsədi sağlam və virusla yoluxmuş pomidor bitkisinin yarpaqlarında quru biokütlənin, nisbi su tutumunun və hidrogen-peroksidin miqdarının tədqiqatı olmuşdur.

Material və metodlar

Tədqiqatın obyektı. Tədqiqat işində Azərbaycan Tərəvəzçilik İnstitutunun təcrübə sahəsindən toplanmış sağlam və tobamoviruslarla (ToMV, TMV, PMMoV) yoluxmuş pomidor bitkisinin (*Solanum lycopersicum*) yarpaqlarından istifadə edilmişdir.

Seroloji diaqnostika. Fitopatoloji monitorinqlərin nəticələrinə əsasən tobamovirusların xarakterik simptomları müəyyən edilmiş və xəstə bitki nümunələri ilkin olaraq vizual qiymətləndirilmişdir. Vizual diaqnostikanın nəticələrinə uyğun olaraq virusla yoluxmuş tomat nümunələri seroloji metodlardan (spesifik test-zolaqlardan və immunoferment analizdən) istifadə etməklə yoxlanılmışdır [11].

RNT-nin ekstraksiyası. Xəstə və sağlam bitkilərin yarpaq nümunələrindən 30-50 mq götürülərək ekstraksiya üçün nəzərdə tutulmuş xüsusi steril paketlərdə üzərinə 500 mkl ekstraksiya buferi (TRİ-reagent) əlavə olunaraq homogen qarışıq alınanadək əzilmişdir və 10 dəq. müddətinə otaq temperaturunda saxlanılmışdır. Əmələ gəlmiş suspenziya pipetlə götürülərək 1ml-lik nömrələnmiş tyublara keçirilmiş və üzərinə 100 mkl xloroform əlavə edilmiş, vorteksdən sonra yenidən 10 dəq. müddətinə otaq temperaturunda saxlanılmışdır. 13500 dövr/dəq sürətlə 15 dəqiqə sentrifüqalaşdırılmışdır. Hər tyubdakı üst fazadan 900 µl götürülərək nömrələnmiş yeni steril 1,5 ml-lik tyublara keçirilmiş, üzərinə 250 µl izopropanol əlavə edilərək ehtiyatla qarışdırıldıqdan sonra 15 dəqiqə ərzində otaq temperaturunda saxlanılmış və 20 dəqiqə 13500 dövr/dəq sürətlə sentrifüqalaşdırılmışdır. Sentrifüqalaşdıqdan sonra supernatant kənarlaşdırılmış və tyubların dibinə çökmüş RNT 2 dəfə 70 %-li etanolda yuyularaq otaq temperaturunda qurudulmuşdur. Ekstraksiya olunmuş RNT nümunələri həll olması üçün 30 dəq otaq temperaturunda saxlanılmış və istifadə edilmək üçün -20°C temperaturda soyuducuya qoyulmuşdur.

RNT-nin təmizlik dərəcəsinin və qatılığının spektrofotometrik təyini. Ekstraksiya edilmiş RNT nümunələrinin təmizlik dərəcəsi və qatılığı spektrofotometriya metodu ilə yoxlanılmışdır. Bunun üçün spektrofotometrə 260 və 280 nm dalğa uzunluqlarında RNT nümunələrinin optik sıxlıqları ölçülmüşdür. RNT-nin təmizlik dərəcəsi 260 və 280 nm-də optik sıxlıqlar arasındakı nisbətə (OS260/OS280) əsasən təyin edilmişdir.

RNT ekstraktlarının RT-PZR və PZR metodları ilə amplifikasiyası. Ekstraksiya edilmiş RNT nümunələri RT-PZR metodu ilə yoxlanılmışdır. Reaksiya üçün (1 nümunə üçün): 4 µl RNT, 1.5 µl Tobamovirus universal praymer (TobRT do2), 1.5 µl dNTP (25 mM), 4 µl RT (5x) buffer, 1 µl M-MLV (enzyme RT), 8 µl ddH₂O istifadə edilmişdir. Reaksiya 1 saat olmaqla 42 °C -də aparılmışdır. Reaksiyanı dayandırmaq üçün nümunələr 10 dəqiqə 65 °C-də saxlanılmışdır. RT-PZR məhsulları elektroforetik analiz olunduqdan sonra PZR metodu ilə yoxlanılmışdır. Reaksiya üçün (1 nümunə üçün): 2,5µl Tampon (10x), 3 µl MgCl (50mM), 0,5 µl Tobamovirus universal praymer (Tob RT up 1və TobRT do2), 3 µl dNTP (2,5 mM), 13,5 µl dd H₂O, 0,3 µl Tag polymerase dan ibarət mix hazırlanmışdır. 1 nümunə üçün ümumi reaksiyanın həcmi 25 µl (5µl nümunə RNT-si + 20 µl reaksiya qarışığı) təşkil etmişdir. Reaksiya yığıldıqdan sonra nümunələr DNT Termal amplifikatora (Gene Amp PCR System 2720, Applied Biosystems) yerləşdirilmiş və protokola uyğun ardıcılıqda proqram tərtib olunaraq PZR həyata keçirilmişdir (İlkin olaraq reaksiya 95 °C

temperaturda DNT zəncirinin denaturasiyası, 94°C də 1 dəqiqə, 65°C də 45 saniyə, 70 °C-də 1 dəqiqə olmaqla 35 tsikl elonqasiya aparılmış və 72°C də 10 dəqiqə sintez tamamlanmışdır).

Qlisin betainin miqdarının təyini. Qlisin betainin miqdarı [9] metoduna əsasən təyin edilmişdir. Rənglənmiş məhlulun optik sıxlığı spektrofotometrə 365 nm dalğa uzunluğunda ölçülmüşdür. Qlisin betainin miqdarı standart şəklində qlisinbetain komersiya preparatından (Serva, Almaniya) istifadə etməklə kolibr əyrisinə əsasən müəyyən olunmuşdur.

Quru biokütlənin təyini. Tomat yarpaqlarında quru biokütlənin ölçülməsi üçün əvvəlcə xəstə və sağlam nümunələrdən eyni ölçülərdə kəsiklər hazırlanmış və elektron tərəzidə kütləsi təyin edilmişdir. Daha sonra hazırlanmış yarpaq nümunələri 80°C temperaturda 24 saat termostatda saxlanıldıqdan sonra yarpaqların quru çəkisi təyin olunmuşdur. Quru biokütləni hesablamaq üçün aşağıdakı düsturdan istifadə edilmişdir: $C = m_2/m_1 \times 100\%$. (C-kütləyə nəzərən quru maddə tərkibinin %-lə ifadəsi; m_1 -nümunənin qurudulmadan əvvəl çəkisi; m_2 -nümunənin qurudulmadan sonrakı çəkisi).

Nisbi su tutumunun təyini. Virusla yoluxmuş tomat nümunələrində suyun nisbi miqdarı metodikasına əsasən təyin edilmişdir. Virusla yoluxmuş və sağlam nümunələrinin hər birinin yarpağının mərkəzi hissəsindən 5-10 sm² hissə kəsilərək ilkin çəkisi ölçülmüşür. Daha sonra nümunələr Petri kasalarında üzərini distillə suyu örtənədək soyuq temperaturda 24 saat saxlanılmışdır (suyu dondurmamaq şərti ilə). Yarpaqların doymuş çəkisini ölçdükdən sonra 80 °C-də 24 saat onlar qurudulmuş və quru çəkisi də ölçülmüşdür. Su göstəriciləri aşağıdakı düsturla hesablanmışdır: $SNM = 100\%(Mf-Md)/(Mt-Md)$ (Mf - ilkin çəki; Mt – su ilə doymuş çəki (yaş çəki); Md – quru çəki).

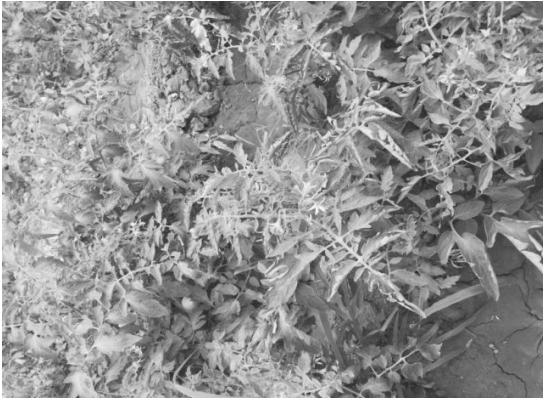
Nəticələr və onların müzakirəsi

Virus xəstəliklərini aşkar etmək məqsədilə həyata keçirilən fitopatoloji monitorinqlər zamanı xəstə bitkilərdə yarpaq ayasının səthində kələkötürlük, yarpağın burulub-qıvrılması, yarpağın xırdalanması (yarpağın həddən artıq kiçilməsi), qıjıya bənzər yarpaq formasının əmələ gəlməsi (yarpağın qıvrılması), yarpaqda nekroz ləkələrin əmələ gəlməsi, yarpaqda qəhvəyi rəngli həlqəvi ləkələrin və yarpaq mozaikasının əmələ gəlməsi (açıq sarı və tünd yaşıl hissələrin bir-birini əvəz etməsi), yarpaqların saralması, qızarması, bitkidə cırtdan boyluluğun əmələ gəlməsi, kollanmaya meyillilik, meyvələrin inkişafdan qalması, göyerməsi, meyvələrin həddən artıq yumşalması, çürüməsi, bitkinin solması kimi əlamətlər müşahidə edilmişdir (Şək. 1). Toplanmış tomat nümunələri vizual diaqnostikanın nəticələrinə uyğun olaraq müxtəlif indekator-seroloji metodlarla analiz olunmuş və nəticədə tomat bitkisinin dünyada geniş yayılmış və ciddi xəstəliklərə səbəb olan viruslar ToMV, TMV, PMMoV kimi tobamoviruslar aşkar edilmişdir.

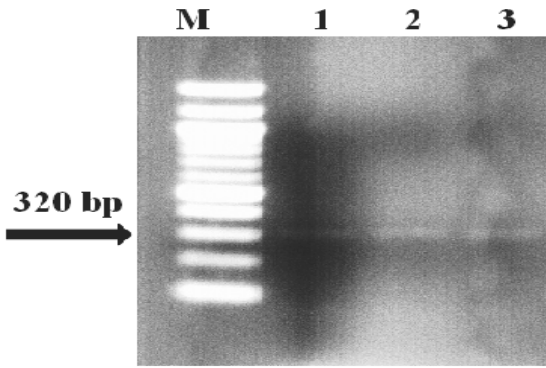
Tomat bitkisinin aşkar olunmuş virus xəstəliklərinin molekulyar diaqnostikasını həyata keçirmək məqsədilə seroloji analizlərin nəticələrinə görə pozitiv nümunələrdən RNT ayrılması və RT-PZR metodu ilə yoxlanılmışdır. RT-PZR amplifikasiyası zamanı tobamoviruslar üçün universal praymerlər olan Tobamo 1 (5' -CGACATCAGCCGATGCAGC-3') və Tobamo 2 (5' -ACCGTTTTCGAACCGAGACT-3') seçilmişdir. Nəticədə gözlənilən ölçüdə 320 bp uzunluqda fraqment sintez olunmuşdur (Şək. 2).

Tobamovirusların təsirindən tomat bitkisinin baş verən biokimyəvi dəyişikliklərin tədqiqi mühüm əhəmiyyətə malikdir. Bu məqsədlə sağlam və virusla yoluxmuş pomidor bitkisinin yarpaqlarında quru biokütlənin, nisbi su tutumunun və hidrogen-peroksidin miqdarı müqayisəli şəkildə öyrənilmişdir.

Müxtəlif abiotik və biotik stres amillərinin təsiri zamanı bitkidə ən çox öyrənilən fizioloji göstəricilərdən biri də quru biokütlənin miqdarıdır. Quru biokütlə bioloji materialda suyun olduğunu istisna etdiyi üçün bitkilərin kütləsini göstərən ən düzgün göstərici sayılır. Ümumi quru biokütlə çox vaxt bitkinin inkişafının və böyüməsinin qeydə alınması üçün ölçülür, çünki vegetativ orqanların (kök, gövdə, yarpaq) quru biokütləsi, ümumiyyətlə, reproduktiv kütlə ilə sıx əlaqəlidir.



Şək. 1. Tobamoviruslarla yoluxmuş tomat nümunələrində müşahidə olunan xarakterik simptomlar.



Şək. 2. Abşeron rayonunda yerləşən Azərbaycan Tərəvəzçilik Institutunun təcrübə sahəsində aparılmış fitopatoloji monitorinqlər nəticəsində toplanmış xəstə tomat nümunələrinin RT- PZR metodu ilə analizi. M-100 bp DNA ladder, 1- #1; 2- #2; 3-#3.

Quru biokütlə, eyni zamanda bitki materialının keyfiyyətini qiymətləndirən əsas göstəricilərdən biridir. Bu baxımdan, quru biokütlənin bitkinin fizioloji vəziyyətini qiymətləndirən göstəricilərdən biri olduğunu nəzərə alaraq, tədqiqat zamanı tobamoviruslarla yoluxmuş tomat nümunələrində quru biokütlə təyin edilmişdir. Tədqiqatlar nəticəsində virusla yoluxmuş nümunələrdə sağlam nümunələrlə müqayisədə quru biokütlənin əhəmiyyətli dərəcədə artması müşahidə edilmişdir (Cədvəl 1). Belə ki, sağlam hüceyrələrdə quru biokütlə 14% təşkil etdiyi halda virusla yoluxmuş yarpaqlarda bu göstərici uyğun olaraq 18, 17, 16% təşkil edir. Bu artım yarpaq hüceyrələrinin zədələnməsi nəticəsində transpirasiyanın güclənməsi hesabına ola bilər. Eyni zamanda bitkinin virusla yoluxması zamanı yaş çəki/quru çəki nisbəti aşağı düşür ki, bu da bitkinin patogenlə yoluxmasının əlamətlərindən sayıla bilər.

Suyun nisbi miqdarı və quru biokütlənin ölçülməsi zamanı əldə edilmiş nəticələr bir-birini tamamlamışdır. Belə dəyişikliklər virusların təsirindən bitkidə yaranan stres zamanı yarpaqlarda tənəffüsün artması və fotosintetik aktivliyin azalması ilə əlaqədar ola bilər [8].

Digər tədqiqat işlərində patogenlərin bitkidə CO₂ assimilyasiyasına neqativ təsir etməsi ilə yanaşı yarpaqlarda su tutumuna da mənfi təsir göstərməsi müşahidə olunmuşdur [17]. Bəzi müəlliflər virusların təsiri zamanı bitkidə baş verən fizioloji dəyişiklikləri bitkinin stresə qarşı hipersensitiv cavab reaksiyaları ilə əlaqələndirirlər [18,10].

Suyun nisbi miqdarı (SNM) fizioloji nöqtəyi nəzərdən, hüceyrədə su qıtlığı və ya çatışmamazlığı kimi qiymətləndirilir. SNM yarpağın tam hidratlaşmış və tamamilə məhv olmuş vəziyyətindəki suyun tutumu olub müxtəlif əlverişsiz amillərinin təsirinə qarşı bitkidə suyun vəziyyətini öyrənməyə kömək edən göstəricidir. Aparılan tədqiqatlar zamanı virusla yoluxmuş yarpaq nümunələrində SNM göstəricisi sağlam nümunələr ilə müqayisədə xeyli aşağı olmuşdur. Oxşar nəticələr TMV virusu ilə yoluxdurulmuş bibər bitkisinə də müşahidə edilmişdir. Belə ki, virus ilə yoluxmuş bibər sortlarında SNM sağlam nümunələrlə müqayisədə əhəmiyyətli dərəcədə azalmışdır [22,3]. Tədqiqatlar zamanı, virusla yoluxmuş bitkilərdə sağlam nümunələrlə müqayisədə vegetativ orqanların inkişafının zəifləməsi, yarpaqların səthinin kiçilməsi, nisbi su tutumunun azalması müşahidə edilmişdir.

Üzümün bir neçə sortu üzərində tədqiqatlar aparan Marković et al. [16] GLRaV-3 ilə yoluxmuş bitki nümunələrində sağlam nümunələrlə müqayisədə bitkinin vegetativ orqanlarının inkişafının zəifləməsini, yarpaqların səthinin kiçilməsini, nisbi su tutumunun azalmasını müşahidə etmişdir. GLRaV-3 virusu ilə [7], Grapevine leafroll virusları ilə [23] və Grapevine fanleaf virus (GFLV) [1] ilə yoluxmuş üzüm nümunələrində də in vitro şəraitdə aparılan tədqiqatlar zamanı da oxşar nəticələr alınmışdır. Virus infeksiyasının bitkinin fizioloji inkişafına neqativ təsir etməsi Watanabe et al. [24] Kristov et al. [13], Zhang et al. [25] Li et al. [14] və Cui et al. [7] işlərində də öz əksini tapmışdır. Eyni zamanda üzüm yarpaqlarının burulması virusu ilə yoluxmuş bitkilərdə sağlam bitki ilə müqayisədə osmotik stresin daha yüksək olması müşahidə edilmişdir [6,7]. Oxşar nəticələr ZYMV virusunun (Zucchini yellow mosaic virus) təsiri nəticəsində bitkidə yaranan fizioloji və biokimyəvi dəyişikliklərin tədqiqi zamanı da müəyyən edilmişdir [18].

Cədvəl 1.

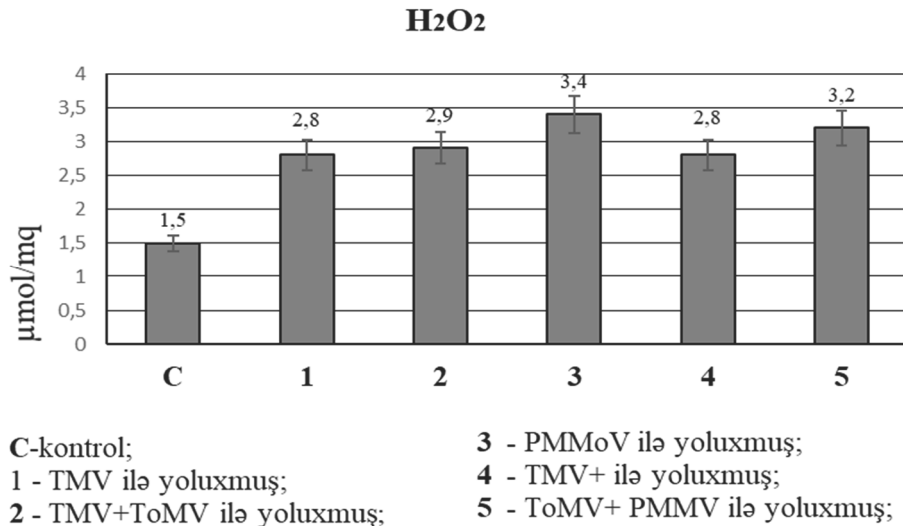
Virusla yoluxmuş tomat yarpaqlarında quru biokütlənin (Q/B)və nisbi su tutumunun (NST) miqdarının təyini. C - nəzarət variantı, 1-TMV ilə yoluxmuş, 2-TMV+ToMV ilə yoluxmuş, 3-PMMoV ilə yoluxmuş, 4-TMV ilə yoluxmuş, 5-ToMV+ PMMoV ilə yoluxmuş.

Variantlar	NST (%)	Q/B (%)
C	81	14
1	68	18
2	75	17
3	75	16
4	73	16.4
5	72	18.3

Qlisin - betain (QB) dördlü ammonium birləşmələri qrupuna aiddir. Qlisin - betain qlisinin məhsuludur və hüceyrə membranının fosfolipidlərinin sintezində aktivator rolunu oynayır. Onun bakteriya və bitkilərdə sintez olunmağında əsas rolu xolin və iki ferment (xolin monooksigenaza və betain dialdehid dehidrogenaza) oynayır. Bir sıra biotik və abiotik stres amillərinin təsirindən onun yarpaqlarda toplanması halları müşahidə olunur. Osmolit və protektor rolunu oynayan qlisin betain hüceyrə daxilində osmotik balansını tənzimləməklə bitkinin stressdən müdafiəsində [20,15], antioksidant fermentlərin və FS2-in oksigen ayıran kompleksinə aid membran zülallarının quruluşunun stabilləşməsində [19] iştirak edir. Bir çox müəlliflərin fikrincə stres şəraitində QB fotosintetik aparatın fəaliyyətini tənzimləməklə, bitki hüceyrələrini zədələnmələrdən qoruyur. Belə ki, digər kiçik molekul kütləli azotlu birləşmələrlə müqayisədə, QB Rubisko və FSII-nin oksigen

ayıran kompleksini daha effektiv müdafiə edir [21,2]. Bizim tədqiqatlarda qlisin betainin miqdarı virusla yoluxmuş nümunələrdə sağlam bitkilərlə müqayisədə yüksək olmuşdur və bu artım ikinci və beşinci nümunələrdə daha nəzərəçarpandır (Cədvəl 1).

Hüceyrədə biokimyəvi tsiklin normal funksiyasının pozulması nəticəsində toxumalarda sərbəst radikalların və oksigenin fəal formalarının miqdarı kəskin artır ki, bunun nəticəsində də hüceyrə və onun strukturu zədələnir. Hidrogen peroksid OFF-nin ən stabil komponentlərindən biridir. O, həm də hüceyrədə siqnal molekulu rolunu oynayır. Abiotik və biotik təbiətli stressorların təsirindən hüceyrədə H_2O_2 -nin miqdarı artır ki, bu artım da stressorun gücündən və təsir etmə müddətindən asılıdır. Bundan başqa, hidrogen peroksidin miqdarı stressorun tipindən və hansı hüceyrə kompartmentində toplanmasından da asılı ola bilər. Bizim təcrübələrdə sağlam və tobamaviruslarla yoluxmuş yarpaqlarda hidrogen peroksidin toplanması şəkil 3-də verilmişdir.



Şək. 3. Sağlam (C) və virusla yoluxmuş (1, 2, 3, 4, 5) tomat bitkisinin yarpaqlarında H_2O_2 -nin miqdarı ($\mu\text{mol}/\text{mq}$).

Şəkil 1-dən görüldüyü kimi sağlam hüceyrələrdə H_2O_2 -in konstitutiv miqdarı $1,5 \mu\text{mol}/\text{mq}$ təşkil edir. Patogenez zamanı bu göstərici 1-ci və 4-cü nümunələrin yarpaqlarında $2,8 \mu\text{mol}/\text{mq}$, 2-ci nümunədə $2,9 \mu\text{mol}/\text{mq}$, 3-cü nümunədə $3,4 \mu\text{mol}/\text{mq}$, 5-ci nümunədə isə $3,2 \mu\text{mol}/\text{mq}$ olmuşdur. Diaqramdan görüldüyü kimi PMMoV virusu ilə yoluxmuş yarpaq hüceyrələrində H_2O_2 -nin miqdarı daha yüksək olmuşdur. Güman olunur ki, tobamovirus infeksiyaları və onların qarışıq formalarının təsirindən yarpaqlarda stresin indikatoru sayılan H_2O_2 -in miqdarının kəskin artması antioksidant müdafiə sisteminin işə düşməsi üçün messenger ola bilər.

Aparılan tədqiqatlardan belə qənaətə gəlmək olar ki, tomat bitkisinde virus infeksiyası zamanı baş verən fizioloji və biokimyəvi dəyişikliklər bitkinin infeksiyaya qarşı cavab reaksiyası kimi qiymətləndirilə bilər.

Ədəbiyyat

1. **Abracheva P.**, Rozenova L., Todorova M. (1994). The influence of grapevine fanleaf virus and stem pitting on in vitro grapevine cultures. *Vitis* 33: 181–182.
2. **Allakhverdiev S.I.**, Hayashi H., Nishiyama Y., Ivanov A.G., Aliev J.A., Klimov V.V., Murata N., Carpentier R. (2003) Glycinebetaine protects the D1/D2/Cyt b 559 complex of photosystem II against photo-induced and heat-induced inactivation. *J Plant Physiol.*, 160: 41-49
3. **Al-Saleh M.A.**, Melouk H.A, Mulder P. (2007). Reaction of peanut cultivars to Tomato spotted wilt virus (TSWV) under field conditions and their response to mechanical inoculation by TSWV under greenhouse conditions. *Peanut Science* 34:44-52.

4. **Baek K.-H.**, Skinner D.Z. (2003) Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. *Plant Sci.*, 165: 1221-1227.
5. **Blancard D.** (2012) Tomato diseases identification, biology and control second edition. P. 561-627
6. **Chaves M. M.**, Santos T., Souza C. R., Ortuño M. F., Rodrigues M. L., Lopes C. (2007). Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Ann. Appl. Biol.* 150: 237–252.
7. **Cui Z. H.**, Bi W. L., Chen P., Xu Y., Wang Q. C. (2015). Abiotic stress improves in vitro biological indexing of Grapevine leafroll-associated virus-3 in red grapevine cultivars. *Aust. J. Grape Wine Res.* 21, 490–495. doi: 10.1111/ajgw.12146
8. **Gonçalves L. S. A.**, Rodrigues R., Diz M. S. S., Robaina R. R., do Amaral Júnior A. T., Carvalho A. O. (2013). Peroxidase is involved in Pepper yellow mosaic virus resistance in *Capsicum baccatum* var. Pendulum. *Genet. Mol. Res.* 12:1411–1420.
9. **Greive, C.M.**, Grattan, S.R. (1983) Rapid assay for determination of water-soluble quaternary amino compounds. *Plant Soil*, 70: 303-307.
10. **Hanan E.A.**, Monterob R., Medrano H, Bota J. (2016) Interactive effects of grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) and water stress on the physiology of *Vitis vinifera* L. cv. Malvasia de Banyalbufar and Giro-Ros. *Journal of Plant Physiology*, 196–197:106–115.
11. **Huseynova I.M.**, Nasrullayeva M.R., Rustamova S.M., Aliyeva D.R., Aliyev J.A. (2014) Differential Responses of Antioxidative System to Soil Water Shortage in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes. *Advances in Biological Chemistry*, 4: 351-359.
12. **Janecko, A.**, Dziurka, M., Gullner, G. et al. (2018) Comparative studies of compatible and incompatible pepper–Tobamovirus interactions and the evaluation of effects of 24-epibrassinolide. *Photosynthetica* 56: 763. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0725-0>.
13. **Khrstov I. K.**, Stefanov D., Goltsev V.N., Abrasheva P. (2001). Effects of grapevine fanleaf and stem pitting viruses on the photosynthetic activity of grapevine plants grown in vitro. *Russ. J. Plant Physiol.* 48: 473–477.
14. **Li J. W.**, Wang B., Song X. M., Wang R. R., Zhang H., Zhang Z. B. (2013). Potato leafroll virus (PLRV) and Potato virus Y (PVY) influence vegetative, physiological metabolism of in vitro-cultured shoots of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Tiss.* 114: 313–324.
15. **Ma C.Л.**, Ван Я.Ц., Си С.Л., Ван Ч., Ван В. (2007) Обработка глицинбетаином снижает вредное влияние засухи на растение. *Физиология растений*, 54: 534-541.
16. **Marković Z.**, Preiner D., Bošnjak A. M., Safner T., Stupić D., Andabaka Ž. (2014). In vitro introduction of healthy and virus-infected genotypes of native Croatian grapevine cultivars. *Cent. Eur. J. Biol.* 9, 1087–1098. doi: 10.2478/s11535-014-0337-7
17. **Montero R.**, Pérez-Bueno M.L., Baron F., Tohge T., Fernie A.R. (2016) Alterations in primary and secondary metabolism in *Vitis vinifera* ‘Malvasia de Banyalbufar’ upon infection with Grapevine leafroll-associated virus 3. *Physiologia Plantarum*, 157: 442–452.
18. **Radwan D. E. M.**, Fayez K. A., Mahmoud S. Y., Hamad A., Lu G. Q. (2007). Physiological and metabolic changes of Cucurbita pepo leaves in response to zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments. *Plant Physiol. Biochem.* 45: 480–489.
19. **Rajasekaran I.R.**, Kriedemann P.F., Aspinall D., Paleg I.G. (1997) Physiological significance of proline and glycinebetaine: Maintaining photosynthesis during NaCl stress in wheat. *Photosynthetica*, 34: 357-366
20. **Robinson S.P.**, Jones G.P. (1986) Accumulation of glycinebetaine in chloroplast provides osmotic adjustments during salt stress. *Aust. J Plant Physiol.*, 13: 659-668
21. **Sakamoto A.**, Murata N. (2002) The role of glycinebetaine in the protection of plants from stress: Clues from transgenic plants. *Plant Cell Environ.*, 25: 163-171
22. **Synková H.**, Semorádová S, Schnablová R, Müller K, Pospíšilová J. (2006). Effects of biotic stress caused by Potato virus Y on photosynthesis in ipt transgenic and control *Nicotiana tabacum* L. *Plant Science* 171:607-616.

23. **Tanne E.**, Spiegel-Roy P., Shlamovitz N. (1996). Rapid in vitro indexing of grapevine viral diseases: the effect of stress-inducing agents on the diagnosis of leafroll. *Plant Dis.* 80: 72–974.
24. **Watanabe S.**, Kojima K., Ide Y., Sasaki S. (2000). Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* in vitro. *Plant Cell Tiss.* 63: 199–206.
25. **Zhang K.**, Song Y. P., Wang Y., Li K., Gao L., Zhong Y. K. (2014). Differential necrotic lesion formation in soybean cultivars in response to Soybean mosaic virus. *Eur. J. Plant Pathol.* 139: 525–534.

Мирзоева С.Т., Султанова Н.Ф., Алиева Д.Р., Гусейнова И.М.

**СОДЕРЖАНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА, СУХОГО ВЕЩЕСТВА,
ОТНОСИТЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ ВОДЫ (ОСВ) И ГЛИЦИН БЕТАИНА В
ЛИСТЯХ ТОМАТА (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.), ИНФИЦИРОВАННОГО
ТОБАМОВИРУСАМИ**

При проведении фитопатологических мониторингов на территории Абшеронской области, были собраны растения томата с характерными признаками тобамовирусов. Для обнаружения тобамовирусной инфекции, образцы растений вначале были проверены с помощью серологических методов диагностики (ИФА и иммунострипы). Наличие тобамовирусов в растительных образцах было подтверждено результатами анализа полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), проведенной с использованием универсальных праймеров tobamo 1 и tobamo. Одновременно были исследованы некоторые физиологические параметры, такие как, содержание сухого вещества, относительное содержание воды (ОСВ), перекиси водорода и глицин бетаина. Выявлено, что в зараженных листьях по сравнению с здоровыми относительное содержание воды уменьшается. Также в зараженных листьях томата обнаружено повышенное содержание перекиси водорода, сухого вещества и глицин бетаина.

Ключевые слова: *Solanum lycopersicum*, тобамовирусы, ОТ-ПЦР, относительное содержание воды (ОСВ), перекись водорода, глицин бетаин

Mirzayeva S.T., Sultanova N.F., Alieva D.R., Huseynova I.M.

**CONTENT OF DRY BIOMASS, RELATIVE WATER CONTENT,
GLYCINE BETAINE AND HYDROGEN PEROXIDE IN VIRAL INFECTED
LEAVES OF TOMATO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) PLANTS**

During phytopathological surveys tomato plant samples with tobamovirus symptoms were collected from Absheron regions. Initially, to detect a tobamovirus infection, the plant samples were tested using serological diagnostic methods (ELISA and immunostrips). The analysis of plant material using reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) with universal primers tobamo 1 and tobamo 2 confirmed the presence of tobamoviruses in the samples under study. At the same time, several physiological parameters were investigated, such as amount of dry biomass, relative water content, hydrogen peroxide and glycine betaine. It was revealed that the relative water content decreases in infected leaves compared to healthy ones. Also, an increase in the content of hydrogen peroxide, dry biomass and glycine betaine in the infected leaves of tomato was found.

Keywords: *Solanum lycopersicum*, tobamovirus, RT-PCR, relative water content, hydrogen peroxide, glycine betaine

Redaksiyaya daxil olma tarixi: 4.XII.2018