

Юбилейна научна конференция с
международно участие
"60 години ИТТИ"
3-5 ноември 2004г. - Пловдив

ISBN 954-90094-1-6

ВЛИЈАНИЕ НА ОБИЧНИОТ МОЗАИК ВИРУС, ТОБАЦО МОСАИЦ ВИРУС (ТМВ) ВРЗ АНАТОМСКАТА СТРУКТУРА И СОДРЖИНАТА НА ХЛОРОПЛАСТНИТЕ ПИГМЕНТИ ВО ЛИСТОВИТЕ ОД ОРИЕНТАЛСКИОТ ТИП ТУТУН

Г. Мицеска¹, М. Димитриески¹, М. Спасеноски²,
И. Ристески¹, К. Кочоска¹
1. ЈНУ Институт за тутун, Прилеп
2. ПМФ -тет, Институт за биологија, Скопје

В о в е д

Бојата на тутунот е еден од најважните показатели за неговиот квалитет. Таа всушност се должи на содржината на пигментите хлорофил, каротин и ксантофил, кои ги има во различни количини во тутунските листови.

Имено, содржината на хлорофил зависи од сортата и условите на нејзиното одгледување.

Според Узуноски М. (1985), сортите со изразито зелена боја имаат 13,1 - 18,7 мг/г хлорофил од сувата материја, додека количината на хлорофил кај типот берлеј е помала и се движи од 7,7 - 14,8 мг/г сува материја.

Содржината на хлоропластни пигменти се променува во текот на сушењето на листовите, бидејќи хлорофилот лесно се распаѓа, за разлика од каротинот и ксантофилот. Содржината на хлоропластните пигменти може да биде изменета и под дејство на различните вирусни инфекции кои го зафаќаат тутунското растение во текот на неговиот развој, при што листовите се несодржајни, и ја менуваат својата форма и облик.

Симптомите кои се јавуваат кај тутунските листови заразени со ТМВ се различни, и лесно забележливи. Еден од најчестите карактеристични симптоми на вирусната инфекција кај тутунот е мозаичното шаренило, односно појавувањето на светлозелени и темнозелени делови на листовите, по што и болеста го добила своето име "мозаик".

Според Мицковски Ј. (1984), кај тутунските растенија заразените со ТМВ се појавуваат локални некрози, обично изразени како хлоротично - некротични дамки кои значително го намалуваат квалитетот на тутунот.

Според испитувањата на Ханусова и др. (1990), овие промени во листовите се должат на активноста на двата ензима циклоглукозо 6 фосфат - дехидрогеназата и рибонуклеазата, одговорни за синтезата на вирусната РНК. Како резултат на тоа доаѓа до намалување на содржината на вкупниот хлорофил за 23%, како и хлорофилот "а" за 21% и "б" за 14% во светлозелените делови на листовите каде е забележана и скоро за 250 пати поголема концентрација на вирусот во однос на здравите листови.

Мицковски Ј. (1984) истакнува дека хлорозите настануваат поради стимулацијата на клеточните ензими, кои го редуцираат жолтиот пигмент, воедно и ја менуваат нивната структура. Хлоропластите се менуваат како хемиски така и физиолошки и нивниот нормален развој е спречен.

Клуге (1990) забележува дека околу типичните темно-зелени мозаични некрози, се јавуваат и жолти до жолтозелени делови на околотото ткиво на листовите од тутунските растенија инфицирани со ТМВ. Овие делови не само што се разликуваат по содржината на хлорофилот туку и по содржината на протеините, кои се и за 20% помали во заразените листови во однос на здравите.

Имајќи го во предвид претходно изнесеното наша цел во овој труд беше

да го испитаме
анатомската
структура на

Материјал

Во текот на
лабораторните
испитанија од 3
Прилеп во
периодот
бутонизација
живен со
карборамид
одредувани
ски, а притоа
"б", даде
од тутун
формирање
тура беж
ти.

Резултати

1. Содржина

Промени во
ТМВ во
како и графички
Од графички
стенијата
дување
содржината
подврвни
питување

1.1. Г

Просек
вкупниот
Графички
Со на
леп 65/9
материја
Содржина
0,435 мг/
материја
како и е
зира со
мг/г све
сортата
Анализа
ти во г
до заклучок
хлоропласт
растени

**Юбилейна научна конференция с
международно участие
"60 години ИТТИ"
3-5 ноември 2004г. - Пловдив**

да го испитаме влијанието на времето на инокулацијата врз промените на анатомската структура и содржината на хлоропластните пигменти во листовите од тутунот заразен со мозаик вирус.

Материјал и метод на работа

Во текот на тригодишните испитувања 1997-1999 год. во Биолошката лабораторија при Институтот за тутун - Прилеп беа расадени по 120 саксии од 3 ориенталски сорти тутун (Прилеп 12-2/1- стандард, Прилеп 65/94, Прилеп 156/1). Инокулацијата на растенијата се вршеше во два временски периоди од развитокот на растенијата (30 дена по расадувањето и пред бутонизацијата на растенијата), по пат на механичка инокулација со инфективен сок од ТМВ на младите тутунови листови, со претходна употреба на карборундум прав по методот на Терновскии (1965). По инокулацијата се одредуваше содржината на хлоропластните пигменти спектрофотометриски, а пресметувањето по обрасците и коефициентите за хлорофилот "а" и "б", дадени од Хојм и Њетсттеин во мг/л (цит. по Сариќ, 1990) во листовите од тутуновите растенија во две фази од нивниот развиток : во фазата на формирање на средните листови и фаза на цветање. Анатомската структура беше следена на напречен пресек од листовите на испитуваните сорти.

Резултати и дискусија

1. Содржина на хлоропластни пигменти

Промените во содржината на хлоропластните пигменти под дејство на ТМВ во листовите од испитуваните сорти се прикажани на Табелите 1 и 2, како и Графиконите 1 и 2.

Од прикажаните податоци можеме да дојдеме до заклучок дека растенијата инокулирани со ТМВ во различниот временски период од расадувањето, во споредба со контролните растенија покажуваат помала содржина на хлоропластни пигменти како во правите средни така и во подврвните листови, со извесни исклучоци во текот на тригодишните испитувања.

1.1. Прави среден лист

Просечните вредности за содржината на хлорофилот "а" и "б" како и вкупниот хлорофил "а+б" во правиот среден лист дадени се на Табела 1, Графикон 1.

Со најмала содржина на хлорофил "а" се карактеризира сортата Прилеп 65/94 (0,749 мг/г свежа материја), а најголема Пв 156/1 (0,980 мг/г свежа материја).

Содржината на хлорофилот "б" се движи во границите од 0,311 мг/г до 0,435 мг/г свежа материја, а на хлорофилот "а+б" 1,063 - 1,416 мг/г свежа материја. Со најмала содржина на хлорофил "б" (0,311 мг/г свежа материја) како и вкупен хлорофил "а+б" (1,063 мг/г свежа материја) се карактеризира сортата Прилеп 65/94, а со најголема содржина на хлорофил "б" (0,435 мг/г свежа материја) и вкупен хлорофил "а+б" (1,416 мг/г свежа материја) сортата Прилеп 156/1.

Анализирајќи ги резултатите за содржината на хлоропластните пигменти во правиот среден лист кај испитуваните сорти, можеме да дојдеме до заклучок дека сите инокулирани растенија имаат помала содржина на хлоропластни пигменти во однос на контролните растенија, со исклучок на растенијата од сортата Прилеп 65/94, инокулирани пред бутонизација, ка-

**Юбилейна научна конференция с
международно участие
"60 години ИТТИ"
3-5 ноември 2004г. - Пловдив**

де содржината на хлоропластните пигменти е нешто поголема.

Негативното влијание на вирусната инфекција најмногу доаѓа до израз кај растенијата од сите сорти инокуирани 30 дена по расдувањето, при што содржината на хлорофилот "а" се намалува за 16,42% кај сорта Прилеп 65/94 во однос на контролните растенија. Кај растенијата инокуирани пред бутонизација, содржината на хлорофилот "а" се намалува за 6,48% кај сортата Прилеп 12-2/1 и 8,27% кај сортата Пв 156/1 во однос на контролните растенија и се движи од 0,724 мг/г свежа материја (Прилеп 12-2/1) до 0,889 мг/г свежа материја (Прилеп 156/1).

Воедно со намалувањето на содржината на хлорофилот "а" се намалува и содржината на хлорофилот "б", како и вкупниот хлорофил "а+б".

Најмал ефект на вирусната инфекција врз намалувањето на просечната содржина на хлорофилот "б" (8,24%), како и вкупниот хлорофил "а+б" (1,71%) забележан е кај растенијата од сортата Прилеп 12-2/1 инокуирани 30 дена по расдувањето, а најголем од 28,82% (хлорофилот "б") и 20,06% (вкупен хлорофил "а+б" кај сортата Прилеп 156/1, во однос на контролните растенија.

Растенијата инокуирани пред бутонизација имаа помала содржина на хлорофил "б" (од 8,81% кај Прилеп 12-2/1 до 13,33% кај Прилеп 156/1), како и вкупен хлорофил "а+б" (од 5,14% кај Прилеп 12-2/1 до 10,60% кај Прилеп 156/1), во однос на контролните растенија.

Во овој случај битно е да се спомене дека покасно инокуираните растенија, односно растенијата од сортата Прилеп 65/94 инокуирани пред бутонизација имаа поголема содржина на хлорофил "а" (13,22%), хлорофил "б" (14,14%), како и вкупен хлорофил "а+б" (13,07% во правиот среден лист во однос на контролните растенија (0,749; 0,311; 1,063 мг/г свежа материја).

Содржина на хлоропластни пигменти во правиот среден лист од тутунските растенија заразени со ТМВ, мг/г свежа материја

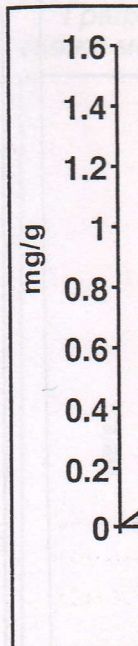
Табела 1. Содржина на хлоропластни пигменти во правиот среден лист од тутунските растенија заразени со ТМВ, мг/г свежа материја

СОРТИ	ВАРИЈАНТИ	Хлорофил					
		а 97-99	б 97-99	а + б 97-99	% а	% б	% а+б
Прилеп (П 12-2/1)	∅	0,766	0,352	1,109	100,00	100,00	100,00
	Зараз. 30 дена по расдување	0,766	0,323	1,090	100,00	91,76	98,29
	Зараз. пред бутонизација	0,724	0,321	1,052	94,52	91,19	94,86
Прилеп (П 156/1)	∅	0,980	0,435	1,416	100,00	100,00	100,00
	Зараз. 30 дена по расдување	0,808	0,314	1,132	82,44	72,18	79,94
	Зараз. пред бутонизација	0,889	0,377	1,266	91,73	86,67	89,40
Прилеп (П 65/94)	∅	0,749	0,311	1,063	100,00	100,00	100,00
	Зараз. 30 дена по расдување	0,626	0,245	0,873	83,58	78,78	82,20
	Зараз. пред бутонизација	0,848	0,355	1,202	113,22	114,14	113,07

Ваквото намалување на содржината на хлоропластните пигменти се должи на промените кои настануваат во физиолошкиот и хемискиот развој на хлоропластите.

Имено, според Мицковски Ј. (1965) хлоропластите кај вирусните тутунови растенија се издолжени и неправилни, додека нивниот состав е во вид на гранули, и се многу помали од нормалните.

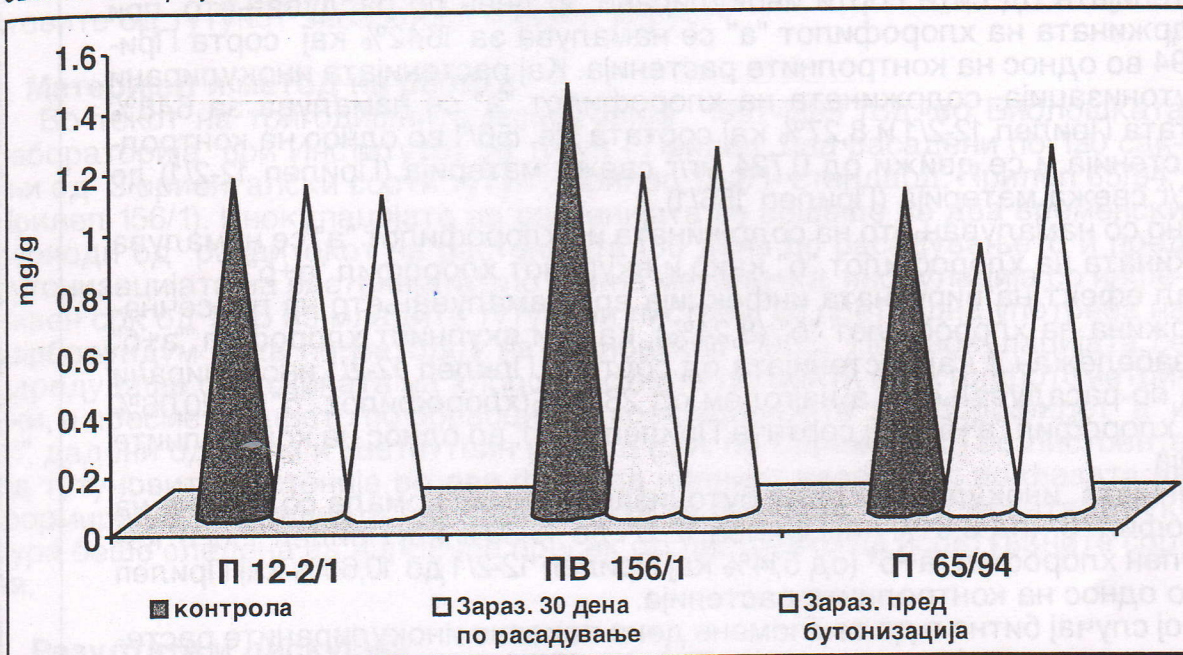
Графи
свежа ма



1. 2. П
Резул
нија од
подврвни
Од ов
пониска
стандард
Така, с
сортата
та Приле
ја), а ста
Што с
листови
156/1) до
Расте
временс
на контр
Именк
ат расте
кај кои с
за 0,364
та сорта
За ра
лирани в
та на вку
ку во од
Содрж
зација с

**Юбилейна научна конференция с
международно участие
"60 години ИТТИ"
3-5 ноември 2004г. - Пловдив**

Графикон 1. Содржина на хлоропластни пигменти во правиот среден лист, мг/г свежа материја



1. 2. Подврвни листови

Резултатите добиени од инокулацијата на расадените тутунови растенија од испитуваните сорти за содржината на хлоропластните пигменти во подврвните листови се прикажани на Табелата 2, Графикон 2.

Од овие резултати може да се забележи дека сите испитувани сорти имаат пониска содржина на хлоропластни пигменти во подврвните листови во однос на стандардната сорта Прилеп 12-2/1.

Така, содржината на хлорофилот "а" се движи од 0,818 мг/г свежа материја кај сортата Прилеп 156/1 до 0,900 мг/г свежа материја кај стандардната сорта. Сортата Прилеп 65/94 има најниска содржина на хлорофил "б" (0,298 мг/г свежа материја), а стандардната сорта Прилеп 12-2/1 највисока (0,402 мг/г свежа материја).

Што се однесува до содржината на вкупниот хлорофил "а+б" во подврвните листови од испитуваните сорти, тој се движи од 1,129 мг/г свежа материја (Прилеп 156/1) до 1,302 мг/г свежа материја (Прилеп 12-2/1).

Растенијата од испитуваните сорти инокулирани со ТМВ и во двата различни временски периоди имаат помала содржина на хлоропластни пигменти во однос на контролните растенија.

Имено, најголемо намалување на содржината на хлоропластни пигменти имаат растенијата од сортата Прилеп 12-2/1 инокулирани 30 дена по расадувањето, кај кои содржината на вкупниот хлорофил "а+б" се намалува дури за 27,96% или за 0,364 мг/г свежа материја помалку во однос на контролните растенија од истата сорта (1,302 мг/г свежа материја).

За разлика од претходната сорта, растенијата од сортата Прилеп 65/94 инокулирани во истиот временски период покажаа најмало намалување на содржината на вкупниот хлорофил "а+б" од 7,99%, или за 0,090 мг/г свежа материја помалку во однос на контролните растенија (1,142 мг/г свежа материја).

Содржината на хлорофилот "а" кај растенијата инокулирани пред бутонизација се движи од 0,692 мг/г свежа материја кај сортата Пв156/1 до 0,807 мг/г

Юбилейна научна конференция с
международно участие
" 60 години ИТТИ"
3-5 ноември 2004г. - Пловдив

свежа материја кај стандардната сорта Прилеп 12-2/1. Стандардната сорта има и највисока содржина на хлорофил "б" (0,330 мг/г свежа материја), како и вкупен хлоро- фил "а+б" (1,100 мг/г свежа материја).

Кај овие растенија содржината на вкупниот хлорофил во подврвните листови се намалува под дејство на вирусната инфекција од 11,74% или 0,134 мг/г свежа материја (Прилеп 65/94) до 15,52% (Прилеп 12-2/1) во однос на контролните растенија (1,142; 1,302 мг/г свежа материја).

Од добиените резултати за влијанието на вирусната инфекција врз промените на содржината на хлоропластните пигменти во правиот среден лист како и во подврвните листови, може да се заклучи дека времето на инокулацијата како и генетскиот потенцијал на самата сорта се едни од најодговорните фактори за обемот на намалувањето на хлоропластните пигменти во самите листови.

Според Ханусова М. и др. (1990) пак намалувањето на содржината на хлорофил е резултат на зголемувањето на концентрацијата на вирусот во светлоселените делови во листот за скоро 250 пати, што пак се должи на зголемената активност на ензимот при оксидацијата на пентозо - цикло шестфосфат - дехидрогеназата за 181% . Исто така, активността на рибонуклеинската киелина во светлите делови на листовите се зголемува за 203 % во однос на нејзината активност во здравите листови, кое зголемување се должи на синтезата на вирусната РНК.

Содржината на вкупниот хлорофил " а + б ", како и хлорофилот "а" и "б" во нашите испитувања се намалува кај инокулираните растенија пред бутонизација во правиот среден лист и подврвните листови кај сите испитувани сорти, со исклучок на растенијата од сортата Прилеп 65/94 кои имаат поголема содржина на хлорофил "а" и "б", како и вкупен хлорофил "а+б" во правиот среден лист во однос на контролните растенија .

Табела 2. Содржина на хлоропластни пигменти во подврвниот лист од тутунските растенија заразени со ТМВ, мг/г свежа материја

СО Р Т И	ВАРИЈАНТИ	Хлорофил					
		а 97-99	б 97-99	а + б 97-99	% а	% б	% а+б
Прилеп (П 12-2/1)	∅	0,900	0,402	1,302	100,00	100,00	100,00
	Зараз. 30 дена по расадување	0,668	0,269	0,938	74,22	66,91	72,04
	Зараз. пред бутонизација	0,807	0,330	1,100	0,896	82,09	84,48
Прилеп (П 156/1)	∅	0,818	0,311	1,129	100,00	100,00	100,00
	Зараз. 30 дена по расадување	0,686	0,280	0,966	83,86	90,03	85,56
	Зараз. пред бутонизација	0,692	0,296	0,989	84,59	95,18	87,60
Прилеп (П 65/94)	∅	0,875	0,298	1,142	100,00	100,00	100,00
	Зараз. 30 дена по расадување	0,763	0,294	1,052	87,20	98,66	92,11
	Зараз. пред бутонизација	0,708	0,288	1,008	80,91	96,64	88,26

Анатомска структура на листовите

Со цел да се проучат хистолошките промени кои настануваат на листовите од тутунот кај испитуваните сорти Прилеп 12-2/1, Прилеп 156/1, Прилеп 65 и Прилеп 84 под влијание на ТМВ, вршевме напоредни испитувања на овие

промени
рстенија.
Графи
свежа ма

g/g

Споре
ните кле
а палиса
здравите
правилни
ропласти
пластите
Овие
ски, Ј. (1
Кај зд
лен рас
поразви
должина
Од др
ниот кве
испитуве

З а к л

Врз ок
цијата в
разените
следните
1. Ви
на хлорс

Юбилейна научна конференция с
международно участие
"60 години ИТТИ"
3-5 ноември 2004г. - Пловдив

промени кај растенијата со изразени симптоми на мозаик и кај контролните растенија.

Графикон 2 - Содржина на хлоропластни пигменти во подврвните листови, мг/г свежа материја.



Според нашите испитувања (Слика бр. 1), може да се види дека епидермалните клетки кај листовите со изразени симптоми на мозаик се сполоскати, а палисадните се скратени по должината во однос на контролните, односно здравите листови (Слика бр. 2). Клетките на сунѓерестото ткиво се главно правилни, но се забележува намалување на меѓуклеточните простори. Хлоропластите се неправилни и заостануваат по големина во споредба со хлоропластите во здравите листови.

Овие и слични промени се забележуваат и при испитувањата на Мицковски, Ј. (1965) кај заразените со ТМВ листови од сортата Прилеп 103/2.

Кај здравите листови хистолошкиот пресек на листовите покажува правилен распоред на епидермалните клетки. Горните клетки на епидермисот се поразвиени од долните, а клетките на палисадното ткиво имаат нормална должина.

Од добиените резултати произлегува дека ТМВ има влијание врз намалениот квалитет на тутунот, како и лошите физички и хемиски својства на испитуваната тутунска суровина од дадените сорти во опитот.

Заклучоци

Врз основа на нашите испитувања за влијанието на времето на инокулацијата врз намалувањето на содржината на хлоропластните пигменти кај заразените растенија од сортите П 12-2/1, Пв 156/1, П 65/94 и П 84 дојдовме до следните заклучоци:

1. Вирусната инфекција со ТМВ предизвикува намалување на содржината на хлоропластните пигменти како во правиот среден лист така и во подврвни-

Юбилейна научна конференция с
международно участие
"60 години ИТТИ"
3-5 ноември 2004г. - Пловдив

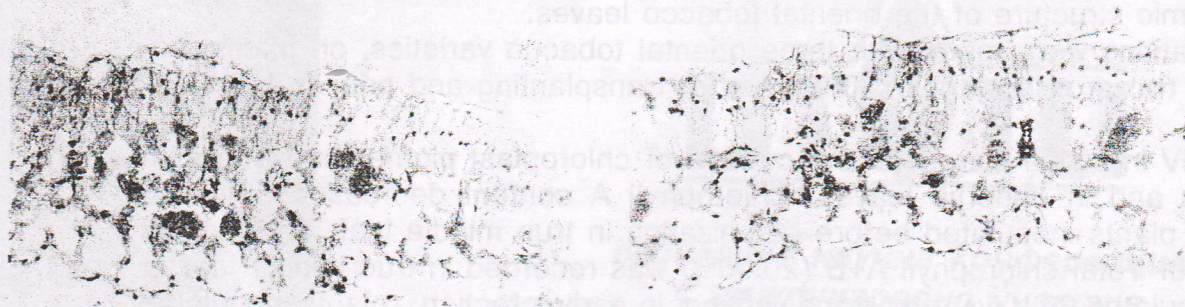
те листови:

- содржината на хлорофилот "а" се намалува од 5,16% кај растенијата инокулирани 30 дена по расадување до 54,8% кај растенијата од стандардната сорта Прилеп 12-2/1 инокулирани пред бутонизација во правиот среден лист.

- Најголемо намалување (20,06%) на содржината на вкупниот хлорофил "а+б" имаат растенијата од сортата Прилеп 156/1 во правиот среден лист инокулирани 30 дена по расадувањето.

- Раната инфекција, односно растенијата од сортата Прилеп 12-2/1 инокулирани 30 дена по расадувањето имаат најголемо намалување на содржината на вкупниот хлорофил "а+б" (27,96%) кај подврвните листови во однос на контролните растенија.

- Листовите од инокулираните растенија се празни, несодржајни, со помали меѓуклеточни простори



Слика бр. 1 - Напречен пресек на лист од заразени со ТМВ растенија

Слика бр. 2 - Напречен пресек на здрав лист

Литература

1. Горник Р. 1973. Облагородување на тутунот. Прилеп
2. Димитриески М. 1990. Биолошки производни и квалитетни својства на неколку нови сорти тутун од ароматичен тип. Магистерска тема, Скопје.
3. Клуге С. 1990. Пхксиологицал дифференцес бетњеен дарк греен вирус-ресистант анд селлоњ тиссуе исландс оф ТМВ - инфецтед тобаццо плантс. Бул. Спец. ЦОРЕСТА, Csmпосиум Каллитхеа, п. 184, абстр. ППО2.
4. Мицковски Ј. 1965. Прилог познавања вирусоза у Македонији. Докторска дисертација
5. Мицковски Ј. 1984. Болести на тутунот, Стопански весник, Скопје
6. Мицеска Г. 1993. Влијание на Гиберелинската киселина (ГАЗ) и хлорхолинхлоридот (ЦЦЦ) врз содржината на хлорофилот, никотинот и биоелементите Н, П, К, Ца, Мг и Фе кај Ницотиана табациум тип прилеп. Магистерски труд, Скопје.
7. Сарик М. 1990. Практикум из физиологије биљака, Београд
8. Спасеноски М. 1990. Влијание на ЦЦЦ врз приносот и содржината на хлоропластните пигменти, фосфор, магнезиум, железо, натриум, манган и бакар кај афионот во тек на растот (Папавер сомниферум Л.) Год. збор. Биол. Кн.41-42.
9. Терновски М.Ф. 1965. Состојба на проучувањата на имунитетот на тутунот спрема заразните болести и штетниците. Извест. на ИВ Всес. Совет. За имунитет на растенијата, Кишињев.
10. Узуноски М. 1985. Производство на тутун, Стопански весник, Скопје
11. Ханусова М., Синделар Л., Синделарова М. 1990. ТМВ-РНА биосинтезис ин лигхт-греен анд дарк-греен сецторс оф тиссуес ин тобаццо леавес. Оцхр. Ростл. 26-4, п. 241-6

ТН
С

Vi
and
In
culat
tion).
Th
dle I
21.84
decre
plant
30 da
in un
Lea
are ir

Юбилейна научна конференция с
международно участие
"60 години ИТТИ"
3-5 ноември 2004г. - Пловдив

THE EFFECT OF TOBACCO MOSAIC VIRUS (TMV) ON ANATOMIC STRUCTURE AND
CHLOROPLAST PIGMENTS CONTENT IN THE LEAVES OF ORIENTAL TOBACCO

G. Miceska, M. Dimitrieski¹, M. Spasenoski², I. Risteski, K. Kocoska¹

1. Tobacco Institute-Prilep

2. Faculty of natural sciences-Biology Institute-Skopje, Republic of Macedonia

Virus infection with TMV significantly affects the chloroplast pigments content and anatomic structure of the oriental tobacco leaves.

Investigations were made with three oriental tobacco varieties, on plants inoculated in two growth stages (30 days after transplanting and prior to butonization).

The TMV infection increased the content of chloroplast pigments in true middle leaves and in undertip leaves. Chlorophyll A content decreased 5.48% to 21.84% in plants inoculated before butonization in true middle leaf. The highest decrease of Total chlorophyll A+B (20.06%) was recorded in true middle leaf of plants inoculated 30 days after transplanting, In early infection, (plants inoculated 30 days after transplanting), decrease of Total chlorophyll A+B was the highest in undertip leaves (27.96%).

Leaves of inoculated plants are with smaller intercellular space. Chloroplasts are irregular and smaller in size compared to those in healthy leaves.