

DANUTA KSIAŻEK

Zakład Ekologii PAN, Warszawa

O NIEKTÓRYCH CHOROBACH WIRUSOWYCH ROŚLIN W ŚWIETLE NAJNOWSZYCH BADAŃ ELEKTRONO-MIKROSKOPOWYCH

Wśród licznych chorób wirusowych roślin uprawnych wyróżnia się m. in. grupa chorób o charakterze żółtaczkowym — yellows type disease. Jako czynnik infekcyjny tych chorób podawano dotychczas wirusa żółtaczki astra — *Callistephus virus 1*, Smith. Grupa chorób żółtaczkowych, z uwagi na straty gospodarcze przez nie wywoływane, były i są tematem zainteresowań wielu badaczy od kilkudziesięciu lat niemal na wszystkich kontynentach (Maramorosch 1950, Heinze, Kunze 1955, Valenta 1961, Kochman, Książek 1964, Książek 1960).

Rośliny porażone żółtaczką wykazują charakterystyczną chlorozę, przejaśnienia nerwów, zniekształcenia liści, skarłowacenia pędów, tworzenie licznych, bocznych pędów oraz zielenienie i sterylność kwiatów. Zakres żywicieli obejmuje ponad 270 gatunków z 39 rodzin m. in. marchew, sałatę, szpinak, pietruszkę, selery, cebulę, ziemniaki, rośliny ozdobne i wiele innych.

Pionierskie prace badawcze w tym zakresie przeprowadził Kunkel (1926) w USA, który udowodnił, że żółtaczkę astra z rośliny na roślinę przenoszą skoczki — *Macrostelus fascifrons* Stal. Aby jednak tego dokonać, muszą one żerować na chorych roślinach co najmniej przez 9 dni w celu nabycia zdolności do przeniesienia choroby z rośliny chorej na roślinę zdrową. Ten niezbędny 9-dniowy okres inkubacji żółtaczki w ciele wektora-skoczek autor tłumaczył namnażaniem się wirusa w owadzie, jak i potem w roślinie. Następnie stwierdził w dalszych badaniach (1937, 1938, 1941), że ten czynnik infekcyjny żółtaczki astra może być zinaktywowany przez działanie niskich temperatur bez szkody dla owada i rośliny. Autor ten wykazał, że maksymalna temperatura wynosi 36°C, powyżej której owad jest niezdolny do przenoszenia choroby tracąc zdolności infekcyjne. Natomiast chora roślina trzymana przez kilka dni w temperaturze 44°C może być całkowicie wyleczona.

Black (1940), w celu wykazania, że czynnik infekcyjny żółtaczki namnaża się w ciele skoczki, przeniósł ten czynnik przez wstrzyknięcie zawiesiny do organizmu tego owada.

Również Maramorosch (1952) potwierdził ten fakt pasażując żółtaczkę

astra przez 10 pokoleń zdrowych skoczaków. Stwierdził przy tym, że długość okresu inkubacji zależna jest od ilości zawiesiny zużytej do inokulacji owada.

Ponadto Kunkel (1955) wykazał interferencję między 2 szczepami żółtaczki astra nie tylko w inokulowanych roślinach lecz również w skoczakach. Także Freitag (1958, 1964) donosi o wzajemnym oddziaływaniu 3 szczepów żółtaczki astra w roślinach i owadach. Również Valenta (1959) zjawisko to stwierdził u europejskich i amerykańskich szczepów żółtaczki.

Sądzić należało, że większość z przedstawionych i cytowanych wyżej wyników badań dowodziła, że czynnikiem infekcyjnym, powodującym choroby roślin o charakterze żółtaczkowym, jest wirus. Jednakże w toku dalszych badań natrafiono na duże trudności przy oczyszczaniu tego czynnika infekcyjnego oraz określaniu jego właściwości morfologicznych i chemicznych. Okoliczności powyższe potwierdzają badania Steere (1967), Black (1943), Lee, Chykowski (1963).

W tej sytuacji w roku 1964 Shikata (1966) rozpoczął badania nad zlokalizowaniem czynnika infekcyjnego w chorych roślinach — *Nicotiana rustica* lub *Callistephus chinensis*. W tym celu analizował pod mikroskopem elektronowym odpowiednio utrwalone skrawki liścia o grubości 50 μ . Ponieważ autor sugerował się tym, że czynnikiem infekcyjnym jest wirus, przeto uwagę skoncentrował na poszukiwaniu cząstek wirusowych. Jednak w tych badanych skrawkach liści nie mógł stwierdzić żadnych cząstek o kształcie pałeczek czy kulistym, więc zjawisko to tłumaczył brakiem wirusa lub jego niską koncentracją w komórkach rośliny. Natomiast w komórkach floemu przygotowanych z bocznych, chlorotycznych pędów rośliny chorego astra zauważył nagromadzenie się ciał pleomorficznych, wielkości 80—800 μ o kształcie kulistym lub nieco nieregularnie wydłużonym. Wszystkie te struktury nie posiadały błony komórkowej, tylko otoczone były osłonką jednolitej grubości 75—90 angstrom. Zaobserwował również małe jakby ciała elementarne wielkości 80—100 μ . W centrum tych pleomorficznych ciał znajdowała się jakby strefa jądrowa z przypuszczalnymi elementami DNA, a na obwodzie strefa cytoplazmatyczna z ziarnami ribozomopodobnymi. Tylko część tych ciał posiadała wakuole (rys. 1). W tytoniu *Nicotiana rustica* porażonym żółtaczką astra (Maramorosch i wsp. 1968) zidentyfikowali ciało podobnej struktury do tych opisanych ciał. Natomiast w roślinach zdrowych nie znaleziono podobnych, pleomorficznych struktur.

Do identycznych spostrzeżeń doszli Plaie, Granados, Maramorosch (1968) na przykładzie rośliny *Vinca rosea*, którą zakazili trzema sposobami, a mianowicie: przy pomocy kianiaki (*Cuscuta campestris*), przez szczepienie oraz przy udziale skoczaków, następującymi czynnikiem infekcyjnymi z grupy chorób żółtaczkowych: krymską żółtaczką z ZSRR, eu-

ropejską karłowatością koniczyny i para-stołburem z CSRS oraz stołburem z Rumunii. Autorzy nie stwierdzili w skrawkach pod mikroskopem elektronowym żadnych cząstek wirusowych. Stwierdzili natomiast w komórkach sita, w rurkach sitowych i w komórkach towarzyszących we floemie ciała pleomorficzne wielkości 80—800 m μ , podobne do wyżej opisanych przez Shikata.

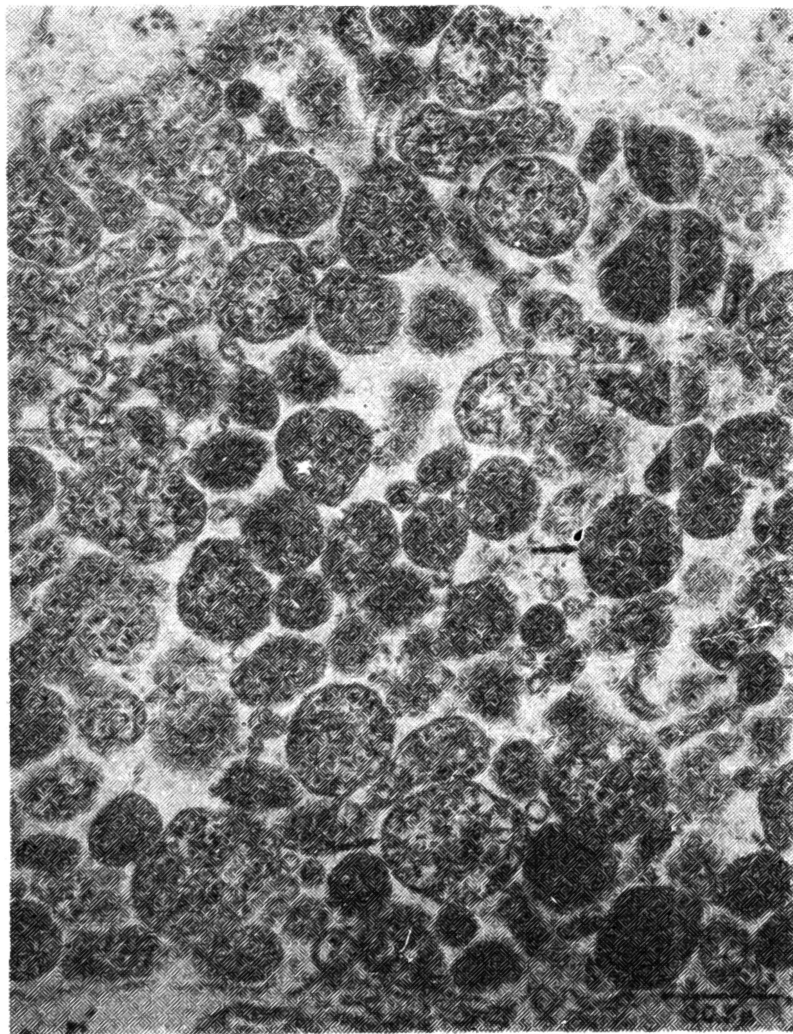


Rys. 1. Ciała mykoplazmopodobne w komórce floemu młodego, chlorotycznego, bocznego pędu astra porażonego żółtaczką. W centrum tych ciał widoczna jest strefa jądropodobna (N) z ziarnami siatkopodobnymi, na obwodzie strefa cytoplazmatyczna (C) z cząsteczkami ribozomopodobnymi oraz wakuola (V). Powiększenie $\times 48\,500$. (Według Maramoroscha i współautorów, 1968)

Również w trzcinie cukrowej porażonej chorobą „White leaf” oraz w ryżu porażonym żółtą karłowatością na Tajwanie nie stwierdzono cząstek wirusowych (Shikata, 1968).

Podobne badania mikroskopowe prowadzono nad kukurydzą porażoną karłowatością. Choroba ta przenoszona jest przez skoczki: *Dalbulus maidis*, *D. elimatus* i *Graminella nigrifrons*. Kunkel (1948) wykazał, że okres in-

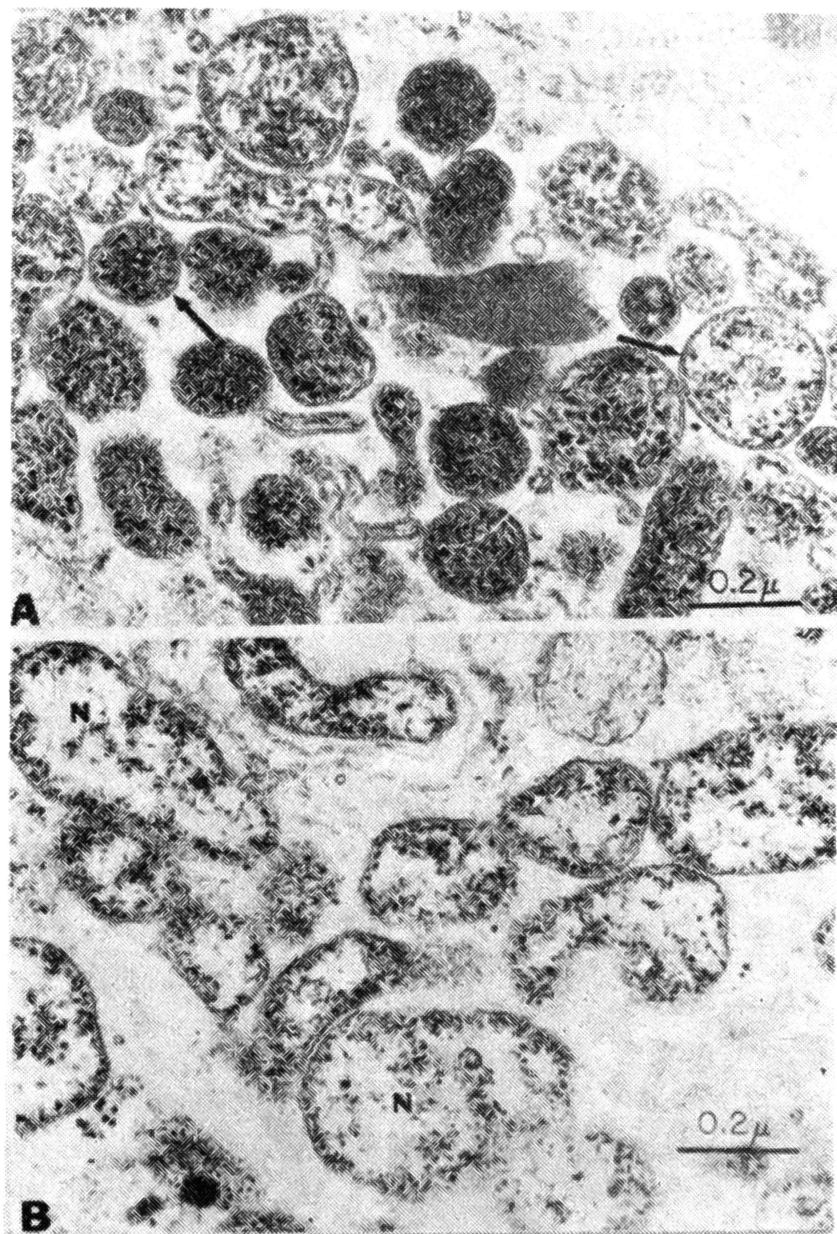
kubacji tego czynnika infekcyjnego w roślinie i w skoczku *D. maidis* wynosił ponad 14 dni. Maramorosch (1958) donosi o występowaniu kilku szczepów tego czynnika infekcyjnego oraz o ich interferencji w roślinach i owadach. W 1951 r. Maramorosch przeniósł ten czynnik infekcyjny do ciała owada przez wstrzyknięcie zawiesiny otrzymanej z chorej rośliny. Nie udało się natomiast przenieść go drogą inokulacji na rośliny zdrowe.



Rys. 2. Preparat mikroskopowy przedstawiający cytoplazmę w komórce gruczołu wewnętrznego skoczka (*Dalbulus elimatus*) porażonego karłowatością kukurydzy. Ciała mykoplazmopodobne otoczone osłonką (strzałka) zawierają cząsteczki ribozomopodobne. Widoczne są ciała elementarnopodobne wielkości 80—90 m μ . Pow. \times 52 500 (Według Maramonoscha i współautorów, 1968)

Granados i wsp. (1968) przeprowadzili badania mikroskopowe na skrawkach przygotowanych z jelit, gruczołów i mózgu ze skoczków porażonych karłowatością oraz na skrawkach z pędów kukurydzy porażonej karłowatością. W wyniku tych badań nie stwierdzili w porażonych komórkach cząstek wirusowych, podobnie jak przy badaniach chorób żółtaczekowych i innych wyżej wymienionych. Natomiast stwierdzili w ko-

mórkach gruczołów i jelit ciała mykoplazmopodobne, wielkości 80 — 800 m μ (rys. 2 i 3). Każde ciało otoczone było cienką osłonką grubości 70—85 angstrom. Nie zanotowano u tych ciał błony komórkowej. Wyróżniono 2 odmienne typy struktur ciał mykoplazmopodobnych. Jedna struktura charakterystyczna była dla ciał występujących w komórkach



Rys. 3A. Preparat mikroskopowy przedstawiający cytoplazmę w komórce nerwowej skoczka (*Dalbulus elimatus*) porażonego karłowatością kukurydzy. Ciała mykoplazmopodobne otoczone osłonką (strzałka) zawierają cząsteczki rybozomopodobne

Rys. 3B. Ciała mykoplazmopodobne w komórce jelita skoczka (*Dalbulus elimatus*) porażonego karłowatością kukurydzy. W centrum tych ciał jest strefa jądropodobna (N), a na obwodzie strefa cytoplazmatyczna z cząsteczkami rybozomopodobnymi. (Według Granadosa i współautorów, 1968)

gruczołów. Cechowała się ona małą ilością elementów ribozomopodobnych wielkości 10—15 μ oraz niewyraźną strefą jądrową z elementami siatkopodobnymi. Drugi typ struktury występujący w komórkach jelit charakteryzował się wyraźną strefą jądrową z większą strefą elementów siatkopodobnych. W cytoplazmie znajdowała się większa ilość elementów ribozomopodobnych. Ponadto występowały w dużej ilości ciała elementarne wielkości 80—95 μ . Tego typu struktur mykoplazmopodobnych nie znaleziono w skrawkach kontrolnych, pochodzących ze zdrowych owadów.



Rys. 4. Preparat mikroskopowy przygotowany z komórki tkanki floemu kukurydzy porażonej karłowatością. W centrum ciał mykoplazmopodobnych widoczna jest strefa jądrowa (N) i na obwodzie strefa cytoplazmatyczna z cząsteczkami ribozomopodobnymi (Według Granadosa i współautorów, 1968)

Podobne struktury stwierdzono w komórkach floemu kukurydzy porażonej karłowatością (rys. 4). Ponadto w komórkach tych znaleziono małe, kuliste ciała oraz wydłużone, nitkowate struktury.

Autorzy stwierdzili jednomyślnie, że choroby typu żółtaczkowego, które dotychczas uważane były za choroby pochodzenia wirusowego (bowiem uważano, że są przenoszone przez skoczki i rozmnażają się w ciele owada i w roślinie) są spowodowane różnymi gatunkami organizmów mykoplazmopodobnych.

Potwierdziły to również badania przeprowadzone przez Doi i współautorów (1967) w Japonii. Autorzy stwierdzili we floemie morwy, ziemniaka, astra i „paulownia” porażonych kolejno: karłowatością, czarciomiotlastością, japońską żółtaczką i czarciomiotlastością, struktury mykoplazmopodobne lub podobne do L-form bakterii.

Ponadto stwierdzono, że są to takie same struktury czynników infekcyjnych, jakie stwierdzono przy chorobach ptaków i ludzi, a mianowicie: przy papuzicy (*Psittacosis*), ziarnicy (*Lymphogranuloma*) i jaglicy (*Trachoma*), nazwanych w skrócie PLT (Maramorosch i współ. 1968, Grana-dos i współ. 1968).

Stwierdzić również należy, że w wielu podręcznikach (Przesmycki 1963, Burdon 1964, Collins 1967, Baker 1967) dotychczas podawano, że choroby PLT są pochodzenia wirusowego. Collins (1967) i Baker (1967) wyróżniają wprawdzie mykoplazmę jako czynnik infekcyjny, lecz wywołujący m. in. inne choroby ludzi i zwierząt, a mianowicie: *Mycoplasma hominis* i *M. pneumoniae*. Zaliczają oni mykoplazmę do organizmów pleuropodobnych nazwanych w skrócie PPLO, stwierdzając zarazem, że są to organizmy wielkości dużych wirusów, silnie pleomorficzne, nie posiadające błony komórkowej, przesączalne, rosnące na sztucznych pożywkach oraz wrażliwe na sulfonamidy i antybiotyki. Dlatego też na podstawie tych poglądów wymienieni autorzy wyłączyli organizmy PPLO ze świata wirusów.

Już Kunicki w 1968 r. czynnik infekcyjny wywołujący tego typu choroby jak jaglicę (*Chlamydozoon trachomatis*) oraz papuzicę (*Miyagawanell psittaci*) zaliczył do bakterii i włączył w systematyce do rzędu *Chlamydozoales*.

Reasumując, stwierdzić należy, że wyniki badań Maramoroscha i współ. (1968) odnośnie występowania w porażonych skoczkach i roślinach czynników mykoplazmopodobnych są dla nauki zupełnie nowe. Nie wyjaśniono jednak całkowicie dotychczas, jaka jest różnica między mykoplazmą w roślinach a u wyższych zwierząt, jakie są jej charakterystyczne cechy i czy zakres gospodarzy-żywcicieli ogranicza się tylko do kilku gatunków owadów i roślin czy też również do ssaków. Próby laboratoryjne nad wyizolowaniem i hodowlą czystych kultur tego typu czynnika infekcyjnego — mykoplazmy na razie nie dały rezultatu (Maniloff, 1967). Postulaty Kocha nie potwierdziły się w przypadku żółtaczki astra, skarłowacenia kukurydzy i innych chorób pochodzenia żółtaczkowego, u któ-

rych to roślin wykazano pod mikroskopem elektronowym obecność ciał mykoplazmo-podobnych.

Tym też tłumaczy się fakt, że choroby te sklasyfikowano dotychczas jako choroby wirusowe tylko na podstawie objawów chorobowych i sposobu przenoszenia się przez skoczki. Obecne badania przy użyciu mikroskopu elektronowego oraz doświadczenia chemoterapeutyczne wykazały niezbicie, że czynnikiem powodującym ten typ chorób nie jest wirus tylko organizm mykoplazmopodobny.

Z uwagi na powyższe wyniki badań, nowe dla patologii roślin, Maramorosch (1968) zapowiada, że w najbliższej przyszłości będzie możliwe stosowanie chemoterapii w celu zwalczania chorób żółtaczkowych u roślin. Opiera swoje twierdzenie na dotychczasowych wynikach badań przeprowadzonych przez Ishiie i współ. (1967) nad zastosowaniem antybiotyków — aureomycyny i achromycyny na morwę porażoną chorobą karłowatości. W doświadczeniach swoich opryskiwali rośliny achromycyną w ilości 100 ppm lub zanurzali w tym roztworze ich korzenie, w wyniku czego zanikły objawy chorobowe u tak traktowanych roślin na kilka tygodni. Zastosowanie aureomycyny wyeliminowało częściowo mykoplazmę znajdującą się w komórkach.

Również Davis i współ. (1968) (cyt. Maramorosch 1968) potwierdzili wyniki badań Ishiie. Wykazali, że chlorotetracyklina zastosowana w ilości 100 ppm zahamowała rozwój żółtaczki astra w roślinie oraz w porażonych skoczkach. Wstrzyknięcie tego antybiotyku z zawiesiną zawierającą czynnik infekcyjny w ilości 1000 ppm do ciała skoczka uniemożliwiło przeniesienie infekcji.

Na podstawie wyżej omówionych wyników badań otrzymanych w ostatnich latach w USA i Japonii należy przypuszczać, że w niedalekiej przyszłości i inne grupy chorób, dotychczas uważane za choroby pochodzenia wirusowego, mogą okazać się chorobami spowodowanymi przez organizmy mykoplazmopodobne.

LITERATURA

1. Baker F. J. — 1967. Handbook of Bacteriological Technique. London.
2. Black L. M. — 1940. Phytopath. 30 : 2.
3. Black L. M. — 1943. Phytopath. 33 : 2.
4. Burdon K. L. — 1964. Microbiology. New York.
5. Collins C. H. — 1967. Microbiological Methods. London.
6. Doi Y., Terenaka M., Yora K., Asuyama H. — 1967. Ann. Phytopath. Soc. Japan 33 : 259 — 266.
7. Freitag J. H. — 1958. Phytopath. 48 : 393.
8. Freitag J. H. 1964. Virology 24 : 401 — 413.
9. Granados R. R., Ward L. S., Maramorosch K. — 1968. Virology 34 : 790 — 796.

10. Granados R. R., Maramorosch K., Shikata E. — 1968. Proc. of the National Acad. of Sci. 60 : 841 — 844.
11. Heinze K., Kunze L. — 1955. Nachrbl. dtsch. Pflanzschutzd. Brunswik 7 : 161 — 164.
12. Ishiie T., Doi Y., Yora K., Asuyama H. — 1967. Ann. Phytopath. Soc. Japan 33 : 267 — 275.
13. Kochman J., Książek D. — 1964. Acta Agrobot. 16 : 145 — 156.
14. Książek D. — 1960. Acta Agrobot. 9 : 75 — 87.
15. Kunicki-Goldfinger W. — 1968. Życie Bakterii. Warszawa.
16. Kunkel L. O. — 1926. Am. J. Bot. 13 : 646 — 705.
17. Kunkel L. O. — 1937. Am. J. Bot. 24 : 316 — 327.
18. Kunkel L. O. — 1938. J. Econ. Entomol. 31 : 20 — 22.
19. Kunkel L. O. — 1941. Am. J. Bot. 28 : 761 — 769.
20. Kunkel L. O. — 1948. Arch. Ges. Virusforsch. 4 : 24 — 26.
21. Kunkel L. O. — 1955. Advances in Virus Res. 3 : 251 — 273.
22. Lee P. E., Chiykowski L. N. — 1963. Virology 21 : 667 — 669.
23. Maniloff J. — 1967. J. Cell Biol. 35 : 87.
24. Maramorosch K. — 1950. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 75 : 744.
25. Maramorosch K. — 1951. Phytopath. 41 : 833 — 838.
26. Maramorosch K. — 1952. Phytopath. 42 : 59 — 64.
27. Maramorosch K. — 1958. Virology. 6 : 448 — 459.
28. Maramorosch K., Shikata E., Granados R. — 1968. Transact. of the N. Y. Acad. of Sci. 30 : 841 — 855.
29. Plaie P., Granados R. G., Maramorosch K. — 1968. Phytopath. 58 : 1063.
30. Przesmycki F. — 1963. Biologia Wirusów. Warszawa.
31. Shikata E., Maramorosch K. — 1966. J. Natl. Cancer Inst. 36 : 97 — 116.
32. Shikata E., Maramorosch K. — 1966. Virology 30 : 439 — 454.
33. Shikata E., Maramorosch K., Ling C., Matsumoto T. — 1968. Ann. Phytopath. Soc. Japan 34/2.
34. Steere R. L. — 1967. Phytopath. 57 : 832.
35. Valenta V. — 1959. Acta Virol. 3 : 145 — 152.
36. Valenta V., Musil M., Misiga S. — 1961. Phytopathol. Z. 42 : 1 — 38.