

## ROZPRZESTRZENIANIE SIĘ WIRUSA MOZAIKI TYTONIOWEJ W OWOCACH POMIDORA

*Edward Pojnar*

Katedra Botaniki WSR, Kraków

Zakażenie WMT żywej komórki roślinnej prowadzi do stopniowego rozprzestrzeniania się wirusa do komórek sąsiednich i coraz dalej położonych od miejsca zakażenia.

Z zakażonego wirusem mozaiki tytoniowej pojedynczego liścia pomidora, położonego w środku łodygi, wirus kieruje się ku korzeniowi, skąd następnie wędruje ku szczytowi pędu [9]. Znacznie rzadziej wirus przesuwa się wprost ku szczytowi pędu [1].

Stosunkowo dość bogata jest literatura naukowa dotycząca mnożenia i rozprzestrzeniania się wirusa mozaiki tytoniowej w liściach czy łodygach, natomiast mało jest prac, w których badane były pod tym aspektem owoce. W niniejszym artykule zostaną omówione wyniki doświadczeń dotyczące mnożenia i rozprzestrzeniania się WMT w owocach pomidora.

Do tego rodzaju badań brano owoce, pochodzące z roślin pomidorów wyrosłych z nasion specjalnie wyselekcjonowanych, wolnych od WMT. Stopień zawirusowania owoców pomidora określano szczepiąc rozcieńczonym sokiem z zakażonych owoców połówki liścia tytoniu (*N. tabacum*, var. Xanthi). Poszczególne tkanki z zakażonych WMT owoców obserwowano również w mikroskopie elektronowym.

### KOLEJNOŚĆ INFЕКCJI WIRUSOWEJ W POSZCZEGÓLNYCH PIĘTRACH GRON OWOCOWYCH

Przebadano dwie grupy roślin pomidorów, różniące się wiekiem i ilością gron owocowych. Jedną grupę stanowiły rośliny z sześcioma gronami owoców, drugą natomiast z dwoma owocującymi piętami. Każdą grupę roślin szczepiono wirusem mozaiki tytoniowej inokulując albo szczytowy liść rośliny albo środkowy liść leżący pomiędzy trzecim i czwartym gronem w roślinach z sześcioma gronami lub liść pomiędzy pierwszym a drugim gronem w roślinach z dwoma piętami owoców.

Stwierdzono, że w wypadku gdy inokulowano liść szczytowy rośliny, z dwoma względnie sześcioma gronami owocowymi, to zakażeniu ulegały najpierw szczytowe piętra gron owocowych. Zaś gdy inokulowano liście w środkowej części łodygi, w roślinach z sześcioma piętami owoców, zakażenie pojawiało się najpierw w gronach leżących tuż poniżej miejsca inokulacji.

W roślinach o dwóch piętrach owocowych zakażeniu ulegało grono leżące powyżej inokulowanego miejsca.

Kolejność infekcji wirusowej w owocach zależy więc nie tylko od miejsca inokulacji WMT, ale również od pozycji i ilości pięter gron owocowych na danej roślinie [2].

#### SZYBKOŚĆ NAMNAŻANIA SIĘ WIRUSA MOZAIKI TYTONIOWEJ W OWOCACH

Ustalono czas jaki upływa od chwili pojawienia się wirusa w owocu pomidora, do pełnego zakażenia owocu. W tym celu wycinano korkoborem co drugi dzień z tego samego owocu tkankę otaczającą nasiona i pozostawiano wycięte korki w  $-20^{\circ}\text{C}$ . Po upływie 10 dni, z zebranych próbek (korków) odważano po 0,25 g świeżej masy i dodawano 1 ml wody, następnie homogenizowano i wirowano na wolnych obrotach. Z płynu nad osadem pobierano 10  $\mu\text{l}$  i tą ilością szczepiono połówki liścia tytoniu *N. tabacum* var. Xanthi. Otrzymane wyniki wskazują, że do pełnego zakażenia owoców pomidora dochodzi po 16 dniach, zaś od momentu pojawienia się cząsteczek wirusa w owocach, do całkowitego zakażenia upływa sześć dni. Według Shalla i Amici [10] liść inokulowany WMT ulega pełnemu zakażeniu, w warunkach szklarniowych po 5 dniach. Szybkość namnażania się wirusa jest więc prawie taka sama w liściu jak i w owocu.

W owocach, w których tkanka otaczająca nasiona była całkowicie zawirusowana, ustalono stopień zakażenia pozostałych części owocu tj. perykarpu oraz tkanki łożyskowej. Stwierdzono, że ilości cząsteczek wirusa w różnych partiach zakażonego, pięcioletniego owocu są bardzo zbliżone [2].

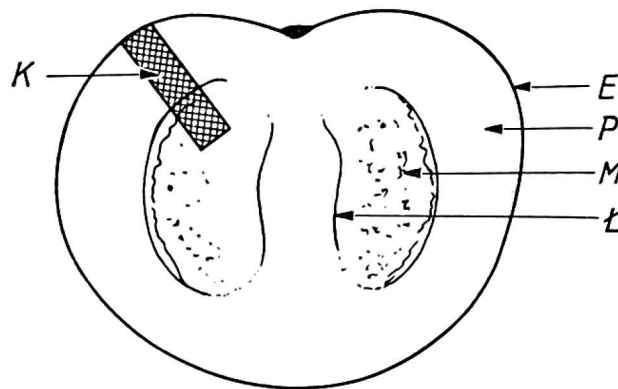
#### SZCZEPIENIE ZDROWYCH OWOCÓW POMIDORA KORKIEM WYCIĘTYM Z OWOCU ZAKAŻONEGO WIRUSEM MOZAIKI TYTONIOWEJ

Liść pomidora można łatwo zakazić wirusem mozaiki tytoniowej. By przekonać się, czy owoce pomidora ulegają bezpośredniemu zakażeniu WMT, inokulowano dojrzałe, zielone owoce (po uprzednim zranieniu tkanki okrywającej owoc) rozcieńczonym sokiem otrzymanym z roślin zawirusowanych lub oczyszczoną zawiesiną WMT w boforze fosforanowym lub w wodzie. Inokulowano WMT owoce na roślinach i owoce zerwane. Okazało się, że żaden ze stosowanych sposobów nie doprowadził do bezpośredniego zakażenia owocu pomidora. Natomiast udało się zaszczepić zerwany owoc pomidora — korkiem wyciętym z innego zawirusowanego owocu (rys. 1).

Jak wynika z tabeli 1, obecność wirusa mozaiki tytoniowej w owocu szczepionym korkiem zakażonym WMT można stwierdzić po 5 dniach, w niżej położonych partiach owocu, a po 20 dniach wirus pojawia się w tkankach drugiej strony owocu. Dotychczas nie ustalono, czy zachodzi tutaj namnażanie się wirusa, czy też ma tu miejsce mechaniczne przesuwanie się cząsteczek WMT w owocu pomidora.

Niepowodzenia w próbach bezpośredniego zakażenia owoców WMT być może związane są z tym, że rośliny gromadzą materiały zapasowe w dojrzewających owocach, natomiast prąd przeciwny, który odprowadza asymilaty z owocu albo nie istnieje albo jest bardzo słaby, szczególnie w komórkach zewnętrznego pery-

karpu, przez który usiłowano zakazić owoc. Jednak, gdy cząsteczki WMT dostaną się do owocu np. przy szczepieniu zakażonym korkiem — to wirus przedostaje się do dalszych części owocu mimo, że owoc został zerwany.



Rys. 1. Przekrój przez owoc pomidora zaszczepiony zakażonym WMT korkiem: K — zakażony WMT korek, E — epiderma, P — perykarp, M — galaretowaty mięsz z nasionami, Ł — tkanka łożyskowa

Tabela 1

Rozprzestrzenianie się WMT w szczepionym korkiem owocu pomidora i ilość plamek na połówkach liści tytoniu (*N. tabacum*, var. Xanthi) inokulowanych sokiem z zakażonego korkiem owocu

Odległość od korka mm	Okres po szczepieniu korkiem zakażonym WMT			
	5 dni		20 dni	
	pery- karp	mięsz z nasio- nami	pery- karp	mięsz z nasio- nami
	liczba plamek			
2	44	36	132	137
10	2	4	80	98
30	1	1	28	23
Druga połowa owocu	0	0	10	5

#### SUBMIKROSKOPOWA STRUKTURA KOMÓREK ZAKAŻONYCH WIRUSEM MOZAIKI TYTONIOWEJ

W mikroskopie elektronowym, w cytoplazmie młodych komórek, świeżo zakażonej tkanki łożyskowej owocu pomidora, stwierdzano często cząsteczki WMT wraz z rybosomami [2].

Wyizolowane enzymatycznie protoplasty z zakażonej WMT tkanki mięszkowej, otaczającej nasiona, zawierały skupienia cząsteczek WMT [6]. Niekiedy jednak liczne agregaty cząsteczek WMT otoczone były membraną i znajdowały się w centralnej wakuoli. Agregaty WMT otoczone membraną obserwowali również Weintraub i inni [12] w komórkach *N. glutinosa* i *Ch. amaranticolor*. Weintraub, Ragetli i John [12] przypuszczają, że cząsteczki WMT zostają zgromadzone najpierw w małych wakuolach a później wydostają się z cytoplazmy do wakuoli centralnej. Obserwacje Cockinga i Pojnara [2] — podobnych agregatów WMT w wyizolowanych protoplastach z owocu pomidora — zdają się potwierdzać to przypusz-

czenie. Nie należy wykluczać i tej możliwości, że cząsteczki WMT mogą gromadzić się w cysternach retikulum endoplazmatycznego. Być może, że temu zjawisku sprzyjają pewne określone warunki np. plazmoliza komórki wywołana chwilowym brakiem wody.

Na ogół sądzi się, że cząsteczki WMT, jeśli znajdują się w chloroplastach to są to cząsteczki, które dostały się tam z cytoplazmy i towarzyszą im wtedy cytomembrany. Jednak Esau i Cronshaw [3], Cocking i Pojnar [2] obserwowali cząsteczki WMT w chloroplastach pozbawione membran. Przypuszczać więc należy, że zanim owoc osiągnie pełną dojrzałość, niektóre chloroplasty mogą stać się w tym czasie ośrodkiem syntezy wirusa.

Niektórzy autorzy przyjmują, że miejscem syntezy wirusa jest jądro komórkowe [3, 4, 5, 8, 11]. Jednak wyniki doświadczeń Ralpa i Wojcika [7] obalają to przypuszczenie. Autorzy ci sądzą, że synteza WMT ma miejsce raczej w organelach leżących w cytoplazmie tj. prawdopodobnie w mitochondriach, chloroplastach albo innych mniejszych strukturach cytoplazmy. Być może, że rybosomy (obserwowane przez Cockinga i Pojnara [2] wśród cząsteczek WMT, w młodych komórkach tkanki łożyskowej owocu pomidora), wytwarzające w niezakażonej komórce białko roślinne, mogą również produkować białko wirusowe po otrzymaniu odpowiedniej informacji od wirusowego RNA.

## STRESZCZENIE

Omówiono wyniki dotyczące mnożenia i rozprzestrzeniania się WMT w owocach pomidora oraz submikroskopową strukturę zakażonych WMT komórek.

Przy bezpośredniej inokulacji WMT owoców pomidora stosowano te same metody jak przy szczepieniu liści. Ten sposób szczepienia nie doprowadził do zakażenia WMT owoców pomidora. Zastosowano więc szczepienie owoców zerwanych z roślin — korkiem wyciętym z zakażonych WMT owoców. W partiach owocu, leżących poniżej zakażonego korka, po 5 dniach stwierdzano obecność wirusa, a po 20 dniach wirus pojawiał się w tkankach drugiej połowy owocu. Dotychczas nie ustalono czy zachodzi tutaj namnażanie się wirusa, czy też ma tu miejsce mechaniczne przesuwanie się cząsteczek WMT w owocach pomidora.

## LITERATURA

1. Capoor S. P. — 1949. *Ann. Appl. Biol.*, 36, 307.
2. Cocking E. C., Pojnar E. — 1968. *Phytopath. Z.*, 63; 364—372.
3. Esau K., Cronshaw J. — 1967. *J. Cell. Biol.* 33; 665—678.
4. Goldin M. — 1966. W: *Virus in Plants* (A. B. R. Beemster i Jeane Dijkstra) North Holland Publ. Co., Amsterdam: 158—165.
5. Hirai T., Hirai A. — 1964. *Science*, 145: 589—591.
6. Pojnar E., Willson J. H. M., Cocking E. C. — 1967. *Protoplasma*, 64, 460—480.
7. Ralph R. K., Wojcik S. J. — 1969. *Virology*, 37: 276—282.
8. Reddi K. K. — 1964. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 52: 391—401.
9. Samuel G. — 1934. *Ann. Appl. Biol.* 21: 90—111.
10. Shalla T. A., Amici A. — 1967. *Virology*, 31: 78—81.
11. Schramm G., Röttger B. — 1959. *Z. Naturforsch.*, 146: 510—515.
12. Weintraub M., Ragetli H. W., John V. T. — 1967. *J. Cell. Biol.*, 35, 183—192.

*Эдвард Пойнар*

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСА МОЗАИКИ ТАБАКА В ПЛОДАХ ПОМИДОРА

### РЕЗЮМЕ

Были рассмотрены результаты (ВМТ), касающиеся размножения и распространения вируса мозаики табака в плодах помидора и субмикроскопическая структура зараженных ВМТ клеток.

При непосредственной инокуляции ВМТ плодов помидора был применен такой же метод, как и прививка листьев. Этот способ прививки не привёл к заражению ВМТ плодов помидора. Поэтому была применена прививка сорванных с растений плодов — пробкой, вырезанной из зараженных ВМТ плодов. В партиях плода, лежащих ниже зараженной пробки, по прошествии 5 дней, установлено наличие вируса, а через 20 дней вирус появился в тканях второй половины плода. До сего времени не установлено, происходит ли в этом случае размножение вируса или же механическое передвижение частичек ВМТ в плодах помидора.

*Edward Pojnar*

## SPREAD OF THE TOBACCO MOSAIC VIRUS IN TOMATO FRUITS

### SUMMARY

Results concerning the multiplication and spread of tobacco mosaic virus in tomato fruits and the submicroscopic structure of cells infected by tobacco mosaic virus are discussed.

In the direct inoculation of tomato fruits with tobacco mosaic virus the same techniques were used as in the inoculation of leaves. This inoculation technique failed to bring about the infection of tomato fruits with tobacco mosaic virus. Therefore the inoculation of fruits picked from plants with a cork cut from fruits infected by tobacco mosaic virus was applied. The virus presence was found after 5 days in fruit portions situated beneath the infected cork, after 20 days the virus appeared in tissues of the other half of fruit. It was not determined if there occurs the multiplication of virus or the mechanical transfer of tobacco mosaic virus particles within the tomato fruit.