

PODATNOŚĆ LIŚCI TYTONIU *NICOTIANA TABACUM* ODMIAN AMBALEMA I WHITE BURLEY NA ZAKAŻENIE ZIEMNIACZANYM WIRUSEM X

Antonina Mikulska-Macheta

Katedra Botaniki WSR, Kraków

WSTĘP

Rozpowszechnienie w warunkach naturalnych ziemniaczanego wirusa X (*Solanum virus I* Smith) i fakt, że jest on niemal stałym komponentem kompleksów wirusowych, uzasadnia podjęcie doświadczeń nad reakcją tytoniu właśnie na infekcję tym wirusem. Niniejsza praca została podjęta w celu stwierdzenia podatności na infekcję wirusem X tytoniu odmiany Ambalema, która wykazuje cechę odporności uwarunkowaną genetycznie [3, 4, 6, 9, 10] i porównano z reakcją odmiany tytoniu uprawnego jakim jest White Burley.

MATERIAŁ I METODY BADAWCZE

W doświadczeniach szklarniowych używano siewek tytoniu w stadium trzech par liści, to jest w wieku 6 do 8 tygodni. Wybierano rośliny mniej więcej jednakowo rozwinięte. Siewki pikowano do pojedynczych glinianych doniczek wypełnionych termicznie odkażoną ziemią. Rośliny rosły w szklarni przy temperaturze 22°C, przy wilgotności powietrza 75 do 85%. W okresie zimowym rośliny doświetlano lampami rtęciowymi ok. 10 godzin w ciągu doby. W doświadczeniach tych użyto siewek odmiany Ambalema wyrosłych z nasion pochodzących z Gembloux i z Bergerac. W dalszych doświadczeniach ograniczono się do odmiany Ambalema pochodzącej z Bergerac.

Do inokulacji roślin używano soku z roślin uprzednio zainfekowanych ziemniaczanym wirusem X, wykazujących silną reakcję systemiczną. Celem oczyszczenia soku ze skrobi, fragmentów tkankowych i innych zanieczyszczeń wyciśnięty sok wirowano przez 15 minut przy 11 tys. obrotów na minutę w wirówce serval. Klarownym sokiem rozcieńczonym wodą destylowaną inokulowano całą powierzchnię blaszek liściowych. Na zainfekowanych liściach po upływie siedmiu dni od zakażenia obliczano nekrotyczne plamki w świetle UV.

Celem ujednolicenia materiału roślinnego i eliminowania zmienności osobniczej w dalszych doświadczeniach posługiwano się metodą połówek liściowych. Pobierano połówki liści czwartego i piątego licząc od podstawy łodygi. Połówki te

umieszczano w kuwetach na bibule filtracyjnej nawilżonej wodą. Liście te przechowywano w sztucznie oświetlanych komorach przy temperaturze 20°C. Odcięte od rośliny macierzystej połówki liści inokulowano po upływie 24 godzin. Podobnie jak w wypadku doświadczeń szklarniowych inokulowano sokiem zakaźnym oczyszczonym przez wirowanie, a także wirusem X oczyszczonym według metody Reichmana [5]. Po określeniu liczby nekroz w siódmym dniu po infekcji obliczano względny spadek infekcyjności według Utecha i Johnsona [8]. Zahamowanie infekcyjności wyrażono w procentach.

Ponadto określono intensywność oddychania i fotosyntezy liści. Oznaczenia dotyczyły tak roślin zdrowych jak i zakażonych. W liściach zakażonych oznaczenia przeprowadzano dla tkanek znekrotyzowanych jak i stref okalających nekrozy. Pomiarów dokonano na mikrorespirometrze metodą Starzeckiego [7].

WYNIKI

Wyniki uzyskane w doświadczeniach szklarniowych (tab. 1) wskazują na istotną różnicę w reagowaniu roślin badanych odmian tytoniu na infekcję wirusem X. Różnica ta, wynikająca niewątpliwie ze znacznej tolerancji jaką wykazała odmiana Ambalema w stosunku do ziemniaczanego wirusa X, okazała się istotna zarówno przy $P = 0,05$ jak i przy $P = 0,01$. Różnica była nieistotna przy odmianie Ambalema w wypadku roślin pochodzących z różnych miejscowości i stacji hodowlanych w Gembloux i Bergerac.

Tabela 1

Podatność na infekcję wirusem ziemniaczanym X tytoniu odmian White Burley i Ambalema

Odmiana	Liczba nekroz na 1 cm ² liścia	(X—X)	Przedział ufności		Wynik
White Burley — Ambalema G	3,11—2,11	1,00	0,49	0,53	++
White Burley — Ambalema B	4,80—3,72	1,08	0,59	0,63	++
Ambalema G — Ambalema B	3,82—3,72	0,10	0,80	0,86	—

Doświadczenia szklarniowe wykazały, że symptomy porażenia wirusowego nie pojawiały się równocześnie. Pierwsze nekrozy można było zaobserwować na roślinach odmiany White Burley już w czwartym dniu po infekcji, podczas gdy odmiana Ambalema ujawniała je po pięciu dniach od zakażenia. Mimo różnic w terminie pojawiania się nekroz na roślinach zaznaczały się one wyraźnie w swojej typowej formie.

Doświadczenia przeprowadzone metodą połówek liściowych na bardziej ujednoliconym materiale wyjściowym wykazały wysoką zgodność wyników poczynionych obserwacji. Zahamowanie infekcyjności sięgało 40% (tab. 2). Podobny rezultat uzyskano w dwóch kolejnych seriach doświadczeń. Chociaż zostały zachowane analogiczne warunki doświadczenia, zaznaczyła się wyraźna różnica w liczbie nekroz, które pojawiły się po infekcji na blaszkach liściowych. Różnice te mogą

wynikać z różnych terminów, w których przeprowadzono obserwacje. Zastosowanie do inokulacji roślin wirusa X oczyszczonego z soku roślin chorych wykazało wzmożenie symptomów chorobowych o 100% w porównaniu z inokulacją wirusem nie oczyszczonym z komponentów tkankowych.

Tabela 2

Podatność na infekcję wirusem X tytoniu odmian Ambalema i White Burley

Liczba		Liczba nekroz na 1 cm ² liścia		Zahamowanie infekcyjności %
roślin	liści	Ambalema	White Burley	
30	60	0,98	1,31	43,18
5	10	3,45	4,40	43,88
5	10	2,69	3,64	37,91

Ilość wytworzonego białka wirusowego w badanych roślinach określono metodą precypitacji z surowicą anty wirus X. Do precypitacji używano odwirowanego soku. Intensywność precypitacji określano w skali 3-stopniowej (tab. 3). Potwierdziła ona wyniki biologicznych testów wykazując niższe miano w wypadku soku pochodzącego z liści odmiany Ambalema niż z odmiany White Burley. Odmiana ta wykazała zatem mniejszą zawartość białka wirusowego w tkankach.

Tabela 3

Reakcje serologiczne w soku roślin zakażonych z objawami lokalnymi

Odmiana	Sok z liści doświadczalnych + surowica anty X	Surowica kontrolna + surowica anty X	Sok z liści roślin kontrolnych
White Burley	+++	—	—
Ambalema B	++	—	—
Ambalema G	++	—	—

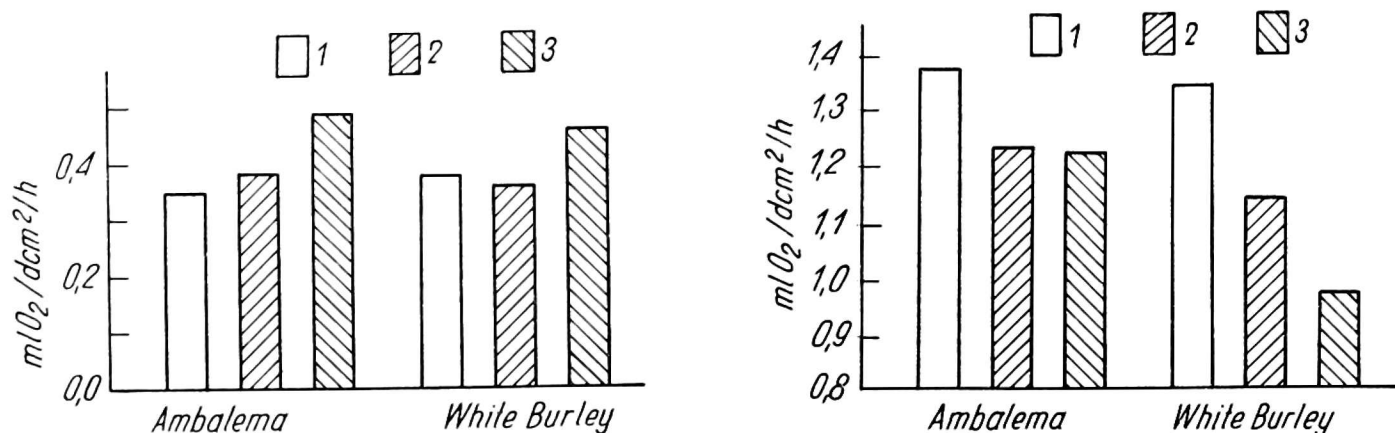
Z roślin zakażonych hodowanych w doniczkach w wyjałowionej glebie w warunkach szklarniowych przeprowadzono ponadto precypitację ilościową. Do oznaczeń pobrano losowo liście po 20 dniach od czasu infekcji, wykazujące najwyższą koncentrację białka wirusowego [2]. Do oznaczeń pobierano ósmy liść licząc od podstawy łodygi. Wyniki (tab. 4) wskazują, iż rośliny obydwóch odmian ulegały porażeniu. Wykazywały one objawy infekcji systemicznej na młodych rozwijających się liściach wierzchołkowych. Zatem infekcja wirusowa nie ograniczyła się tylko do objawów inicjalnych, odmiany tytoniu nie wykazały zatem nadwrażliwości. Precypitacja ilościowa również potwierdziła mniejszą zawartość białka wirusowego w roślinach odmiany Ambalema.

Przebieg procesów oksydoredukcyjnych zachodzących w organizmach wywiera niewątpliwą wpływ na reakcję organizmu w stosunku do patogena. Wzmocniony

Reakcje serologiczne w soku roślin zakażonych po 20 dniach po infekcji

Odmiana	Odczyt po min.	Rozcieńczenie soku z liści tytoniu									Kontrola
		$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	
White Burley	20	+++++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-
	30	+++++	+++	++	+	+	+	+	-	-	-
Ambalema B	20	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
	30	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
Ambalema G	20	+++++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
	30	+++++	+++	+	+	-	-	-	-	-	-

proces oddechowy można traktować jako element potęgujący obronność organizmu [1]. Do oznaczeń intensywności procesu oddechowego posłużyły krążki wycięte z liści zdrowych oraz zainfekowanych wirusem X roślin tytoniu. W liściach zakażonych określono oddychanie tkanek liścia w obrębie nekroz oraz w strefie okalającej nekrozy. Uzyskane wyniki ilustruje rys. 1. W wypadku roślin zdrowych intensywniejsze oddychanie wykazywały krążki pobrane z liści odmiany White Burley. Różnica wynosiła 0,03 ml O₂ na 1 dcm² powierzchni liścia. Odmiana Ambalema natomiast zareagowała bardziej wzmożonym oddychaniem na infekcję wirusową niż odmiana White Burley. Różnica zaznaczała się zarówno w pomiarach dokonanych w obrębie nekroz jak i strefie okalającej nekrozy. Mniej wyraźna reakcja w procesie oddechowym roślin zakażonych wirusem zaznaczyła się w wypadku odmiany White Burley. Wprawdzie w obrębie nekroz oddychanie wyraźnie wzrosło, co świadczyło niewątpliwie o zadziałaniu bodźca, jakim jest wniknięcie patogena do tkanek, ale już w strefie przyplamkowej średnia z powtórzeń wykazała tendencję zniżkową. Tak więc uzyskany obraz procesu oddechowego roślin zdrowych i zakażonych wirusem X wykazał nieco odmienny przebieg w wypadku roślin odmiany Ambalema i White Burley.



Rys. 1. Intensywność oddychania krążków z liści *N. tabacum* odmian Ambalema i White Burley: 1 — rośliny zdrowe, 2 — rośliny zakażone — strefa, 3 — rośliny zakażone — plamki

Rys. 2. Intensywność fotosyntezy pozornej krążków z liści *N. tabacum* odmiany Ambalema i White Burley. Objasnienia jak na rys. 1.

Interesująco przedstawia się również obraz fotosyntezy (rys. 2). Fotosynteza roślin zdrowych okazała się intensywniejsza w wypadku odmiany Ambalema. W liściach zakażonych tak w nekrozach jak i strefie okalającej nekrozy intensywność fotosyntezy w wypadku odmiany Ambalema utrzymywała się niemal na tym samym poziomie, podczas gdy odmiana White Burley wykazała znaczne zróżnicowanie w przebiegu tego procesu w nekrozach w porównaniu ze strefą je okalającą. Obniżenie intensywności fotosyntezy roślin zakażonych jest widoczne u obydwóch odmian.

DYSKUSJA WYNIKÓW I WNIOSKI

Doświadczenia przeprowadzone w warunkach szklarniowych pozwoliły stwierdzić istotne różnice w podatności tytoniu odmian Ambalema i White Burley na infekcję ziemniaczanym wirusem X (*Solanum virus I* Smith). Natomiast nieistotna okazała się różnica reakcji roślin tytoniu w obrębie odmiany Ambalema pochodzących z Gembloux i Bergerac.

Przeprowadzone obserwacje wykazały, iż obydwie porównywane odmiany tytoniu ulegają infekcji wirusem X wykazując typowe symptomy chorobowe infekcji lokalnej i systemicznej. Nie stwierdzono więc nadwrażliwości, która stanowi również formę odporności.

W porównaniu z odmianą White Burley szczególnie podatną na działanie wirusa X odmiana Ambalema wykazała mniejszą podatność na infekcję i większą odporność na namnażanie się białka wirusowego w obrębie tkanek liściowych.

Zastosowanie do inokulacji wirusa uprzednio oczyszczonego, w wypadku obu odmian potwierdziło uprzednio uzyskane wyniki, wykazując jedynie wzrost infekcyjności o 10⁰‰.

Wielokrotnie udało się stwierdzić, że jakkolwiek nekrozy ujawniają się na liściach wyraźnie jako wynik infekcji lokalnej to intensywność nekrotyzacji liści tytoniu White Burley była znacznie silniejsza.

Tak odmiana Ambalema jak i odmiana White Burley reagują na infekcję wirusową wyraźnym wzmożeniem intensywności procesu oddychania. Szczególnie zaznacza się to w wypadku odmiany Ambalema. Być może, że odmiana ta odporniejsza na infekcję reaguje właśnie silniejszym oddychaniem na wtargnięcie patogena, co wiąże się z wytworzeniem mniej sprzyjających warunków dla rozwoju samego patogena. W zestawieniu z roślinami zdrowymi intensywność fotosyntezy wyraźnie zostaje obniżona u roślin chorych, opanowanych ziemniaczanym wirusem X. Szczególnie wyraźna była reakcja na infekcję roślin tytoniu odmiany White Burley. Mniejszy spadek fotosyntezy w wypadku odmiany Ambalema być może ma wpływ na lepszą kondycję roślin po ich infekcji wirusem co niejednokrotnie stwierdzono w czasie prowadzonych doświadczeń.

Tak więc reakcja porównywanych odmian tytoniu na obecność patogena okazała się odmienna. Ambalema wykazała mniejszą podatność na zakażenie wirusem X uwarunkowaną niewątpliwie właściwościami genetycznymi.

STRESZCZENIE

W praktyce hodowlanej udało się pozyskać jedynie nieliczne odmiany tytoniu odporne na wirozy. Do takich odmian między innymi należy odmiana *Nicotiana tabacum* var. Ambalema. Odmiana ta jak się okazało nie tylko jest w wysokim stopniu odporna na wirus mozaiki tytoniowej, co stwierdziły badania ponad wszelką wątpliwość, ale w świetle wyników niniejszej pracy wykazała również niższą podatność o ok. 40% na zakażenie ziemniaczanym wirusem X (*Solanum virus 1* Smith) w porównaniu z powszechną w uprawie odmianą tytoniu White Burley. W wypadku odmiany Ambalema cecha odporności na wirozy jest warunkowana genetycznie.

LITERATURA

1. Domański R. — 1958, Kosmos 1 (30): 41—48.
2. Kozłowska A., Dwurażna M., Maj Z. — 1956, Roczn. Nauk Rol. ser. D, t. 77, s. 82.
3. Melchers G., Jackusch H., v. Sengbusch P. — 1966, Phytopath., 55: 86—88.
4. Nolla J. A. — 1935 J. Agric. 19: 29—49.
5. Reichman M. E. — 1959, Can. J. of Chemistry 37: 4—10.
6. Smith K. M. — 1951, I. A. Churchill Ltd. London 2nd edition: 244.
7. Starzecki W. — 1961, Acta Societ. Bot. Pol. 2: 327—343.
8. Utech M. N., Johnson J. — 1950, Phytopath. 40: 247.
9. Valleau W. D. — 1952, Phytopath., 42: 40—42.
10. Weber P. V. — 1951, Phytopath., 41: 593—609.

Антонина Микульска-Махета

ВОСПРИИМЧИВОСТЬ ЛИСТЬЕВ ТАБАКА *NICOTIANA TABACUM* СОРТОВ АМБАЛЕМА И УАЙТ БУРЛЕЙ НА ЗАРАЖЕНИЕ X-ВИРУСОМ КАРТОФЕЛЯ

РЕЗЮМЕ

В селекционной практике удалось создать только немногочисленные сорта табака, устойчивые к вирусам. К числу таких сортов, в частности, принадлежит сорт Амбалема. Как оказалось, упомянутый сорт является не только высокоустойчивым к вирусу мозаики табака, что вне всякого сомнения установили исследования, но в свете результатов настоящей работы указывает также на ок. 40% меньшую восприимчивость к заражению вирусом картофеля (*Solanum virus 1* Smith) по сравнению с повсеместно возделываемым сортом табака Уайт Бурлей. В случае сорта Амбалема признак устойчивости к вирусам является генетически обусловленным.

Antonina Mikulska-Macheta

SUSCEPTIBILITY OF LEAVES OF TOBACCO *NICOTIANA TABACUM* VAR. AMBALEMA AND WHITE BURLEY TO THE INFECTION BY POTATO VIRUS X

SUMMARY

In the breeding practice only few tobacco varieties resistant to viroses were obtained. One of them is the variety *Nicotiana tabacum* var. Ambalema. This variety appeared not only to be to a serious extent resistant to tobacco mosaic virus what was confirmed by the research beyond any doubt, but in the light of results of the present work indicated also lower by ca 40% susceptibility to the infection by potato virus X (*Solanum virus 1* Smith) when compared with the commonly cultivated variety of White Burley tobacco. In the case of the variety Ambalema the character of the resistance against virosis is genetically conditioned.