

## WPŁYW MOLIBDENU NA WIROZOPODOBNE OBJAWY NA ROŚLINACH I PRZEMIANY RNA W LIŚCIACH TYTONIU<sup>1</sup>

*Aniela Kozłowska*

Akademia Rolnicza w Krakowie

Posiadamy bardzo bogatą literaturę dotyczącą całokształtu roli molibdeny jako pokarmu rośliny [2]. Objawy niedoboru molibdeny są bardzo wyraźne i były opisane dla wielu roślin [11]. Najlepiej są znane u kalfiora pod nazwą choroby „whiptail” [13].

Objawy niedoboru molibdeny u tytoniu były badane w kulturach wodnych [25]. Zwinięcie i skręcenie blaszek liściowych i następnie powiększająca się nekroza aż do całkowitego zeschnięcia liści były często obserwowane. Przy niedoborze Mo rośliny były o 38 cm niższe w porównaniu z roślinami zawierającymi normalną dawkę tego pierwiastka. Średnia normalna zawartość Mo w liściach tytoniu wynosi 6,4 ppm, przy niedoborze 0,3 ppm. W kulturach wodnych przy nadmiarze Mo świeża masa liści tytoniu jest mniejsza, a procent alkaloidów wyższy [26]. Jednym z objawów nadmiaru Mo obserwowanych u wielu roślin jest chloroza [10, 17]. W kulturach wodnych występowała ona przy 20 ppm Mo dostarczanym roślinie [29]. Rośliny wykazywały jednocześnie daleko posuniętą tolerancję w wypadku nadmiaru tego pierwiastka [8].

Zdolność przenoszenia się Mo w roślinach jest nieznaczna. Przedmiotem niniejszej pracy jest określenie symptomów występujących na siewkach tytoniu pod wpływem zwiększonych dawek molibdeny z równoczesną analizą przy użyciu mikrospektrofotometru zmian zachodzących w komórkach.

### WPROWADZENIE MO PRZEZ KORZENIE W KULTURACH WODNYCH

#### HODOWLE ROŚLINY W ZIEMI OGRODOWEJ

Siewki zarówno bardzo małe (w stadium 4 liści), jak i starsze (6 liści rozwiniętych) były przenoszone bezpośrednio z ziemi do roztworów molibdenianu amonu w pożywce wg Hewitta [9], z mikroelementami pozbawionymi Mo, i w czystej wodzie.

<sup>1</sup> Praca dofinansowana przez Wydział V Polskiej Akademii Nauk.

Molibdenian amonu był dodawany do poszczególnych serii naczyń w ilości od 0,05 do 0,0000005 g/l molibdenu. Kontrolną były pożywka i woda. Wstępne doświadczenia wykazały, że objawy w postaci chlorotycznych plamek, zaobserwowane w późniejszych stadiach rozwoju roślin na rozwijających się liściach, zjawiają się tylko wtedy, gdy molibden był podawany roślinie w środowisku kwaśnym o pH od 3,5 do 5,5. Przy odczynie obojętnym (pH = 7) w seriach powtarzalnych doświadczeń nie było żadnych widocznych zmian na rozwijających się liściach. Dla wszystkich doświadczeń przyjęto jedno pH + 4,5.

Siewki zarówno młode, jak i starsze po przeniesieniu z ziemi do pożywek molibdenowych zarówno z pożywką, jak i z H<sub>2</sub>O nie wykazywały na ogół po trzech dniach żadnych zmian chorobowych. Dopiero przy stężeniu 0,5 g/l i 1 g/l Mo dolne liście siewek więdły. Przeprowadzono 12 doświadczeń, dając w każdym po 4 siewki do każdego stężenia molibdenu. Od 8 do 16 dni po przesadzeniu siewek z kultur wodnych z molibdenianem amonu z powrotem do ziemi, obserwowano na nowych, rozwiniętych liściach charakterystyczne chlorotyczne plamki, które występowały w poszczególnych doświadczeniach niezależnie od stężenia molibdenianu amonu w różnym nasileniu. Różniły się one wielkością: dostrzegalne przy małym powiększeniu mikroskopu 0,1 mm (rys. 1 A) 0,5 mm utworzone z kilkunastu komórek chlorotycznych, wyraźne gołym okiem widoczne 1 mm do 1,5 mm (około 30 komórek) z wyraźnym obrzeżeniem (rys. 1 B), wreszcie większe 2 mm i 3 mm. Wraz z większymi wymiarami występowała często silna nekroza, prowadząca do całkowitego zaniku tkanki (rys. 1 C). Obserwując plamki od chwili ich pojawienia się na liściu, można było stwierdzić ich stopniowe powiększanie się. Przy obserwacji brano pod uwagę jedynie plamki, które zjawyły się na liściach rozwiniętych po przełożeniu siewek do ziemi. Na rysunku 2 pokazano liść siewki, która przez 3 dni była zanurzona w H<sub>2</sub>O + 0,05 g/l Mo, a następnie 4 tygodnie była hodowana w ziemi. Widoczne są chlorotyczne plamki różnej wielkości od 0,5 do 2 mm średnicy, ponadto na brzegu liścia zaznaczył się charakterystyczny ubytek blaszki liściowej, przypominający nadgryzienie. Objaw ten, charakterystyczny dla niektórych chorób wirusowych, powtarzał się kilkanaście razy w ciągu prowadzonych badań.

Prócz niepowtarzalnej liczby zjawiających się plamek, bardzo ważna była obserwacja roślin kontrolnych, trzymanych w pożywce względnie w wodzie bez Mo. Na siewkach *N. rustica* w warunkach szklarniowych, zwłaszcza w kulturach wodnych, stwierdzono dość częste uszkodzenia blaszki liściowej w formie okrągłych nekroz z wypadającą bardzo szybko tkanką. Zranienia te w stadium początkowym są trudne do odróżnienia od chlorotycznych plamek zjawiających się z reguły na siewkach wzrastających przez określony czas pod wpływem większych niż normal-

nie dawek Mo. W celu stwierdzenia, czy zjawiające pod wpływem Mo chlorotyczne plamki są zjawiskiem specyficznym, przeprowadzono doświadczenia stosując metodę inokulacji.

#### PRZESZCZEPIANIE MATERIAŁU DOŚWIADCZALNEGO

W ciągu 12 miesięcy przeprowadzono 12 kolejnych doświadczeń z siewkami *N. rustica* przenoszonymi z ziemi, z warunków szklarniowych, do kultur wodnych w kamerach o temperaturze 26°C i 14 godzinnym oświetleniu. Siewki były przenoszone na okresy kilkudniowe do pożywki Hewitta bądź do czystej wody, a następnie na 3 dni, jak w doświadczeniach poprzednich, do rozmaitych stężeń  $\text{NH}_4$ -molybdate o pH + 4,5.

Bezpośrednio po wyjęciu siewek z kultury wodnej, rozartymi ich liśćmi szczepiono wyhodowane w doniczkach w ziemi ogrodowej siewki w stadium 3-4 liści. Po inokulacji trzymano je w dalszym ciągu w kamerach, w ustalonych warunkach światła i temperatury. Niekiedy już po 7 dniach, a najczęściej po 9 (do 18) na liściach rozwijających się powyżej liści szczepionych, pojawiały się chlorotyczne plamki. Tak jak to miało miejsce w pierwszej serii doświadczeń, nasilenie plamek było różne. W jednej serii doświadczeń nie było ich wcale, natomiast w jedenastu analogicznych seriach liczba ich wahała się od kilkuset na 18 roślinach, na których dokonano przeszczepu, do kilku na tej samej liczbie roślin. Największa liczba plamek występowała na 1 i 2 liściu powyżej szczepionych, na 3 liściu plamki były jeszcze dość często obserwowane, na 4 i 5 liściu powyżej szczepionych stwierdzono je tylko w jednym wypadku. W 3 doświadczeniach przeprowadzono z siewek zainokulowanych, na których wystąpiły wyraźne objawy, dalszą reinokulację na nowe siewki w stadium 3 liści.

Jak wynika z danych zamieszczonych w tabeli 1 reinokulacja dała wyraźne, choć nieco słabsze objawy niż materiał wyjściowy. Rysunek 3 to liść 4, pierwszy powyżej liści szczepionych 11 dni po dokonanej inokulacji siewką trzymaną 3 dni w pożywce Hewitta z 0,0002 g/l Mo. Rysunek 4 przedstawia siewkę pomidora *Lycopersicum chilense* potartą sokiem z rozartego liścia tej samej siewki tytoniu z pierwszego przeszczepu. Gatunek ten reaguje na wprowadzany korzeniami molibden charakterystycznym wygięciem ogonków liściowych, podobnym do wygięcia jakie wystąpiło w opisanym doświadczeniu przy dokonanym przeszczepie.

W jednym z doświadczeń, gdy nasilenie plamek po pierwszym przeszczepie dochodziło do kilkudziesięciu na jednym liściu, udało się przeprowadzić 3 kolejne pasaży. Stwierdzono, przy kolejnych przeszczepach coraz słabsze nasilenie objawów, które wreszcie zanikały zupełnie.

## HODOWLA ROŚLIN W STERYLIZOWANYM PIASKU

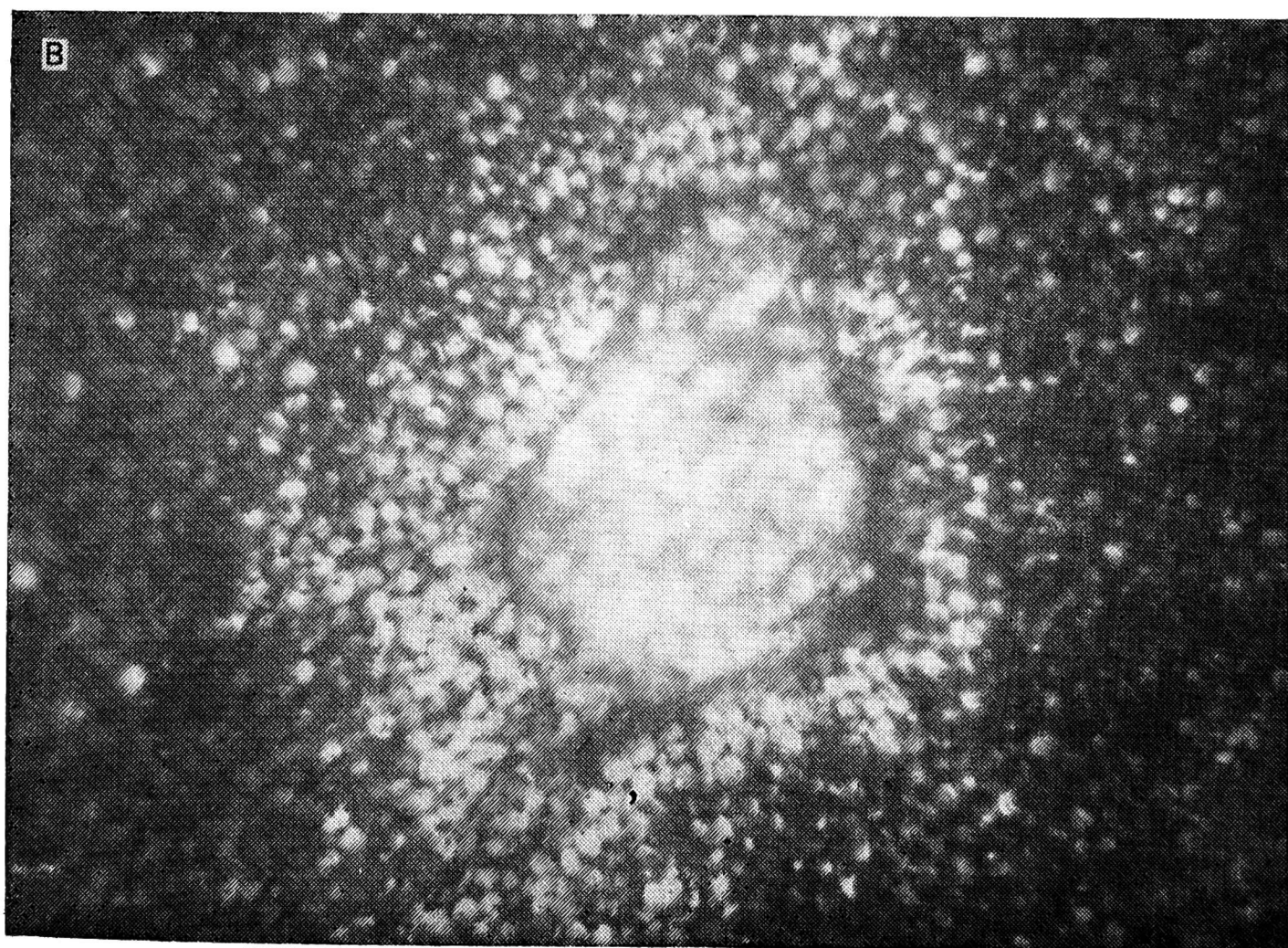
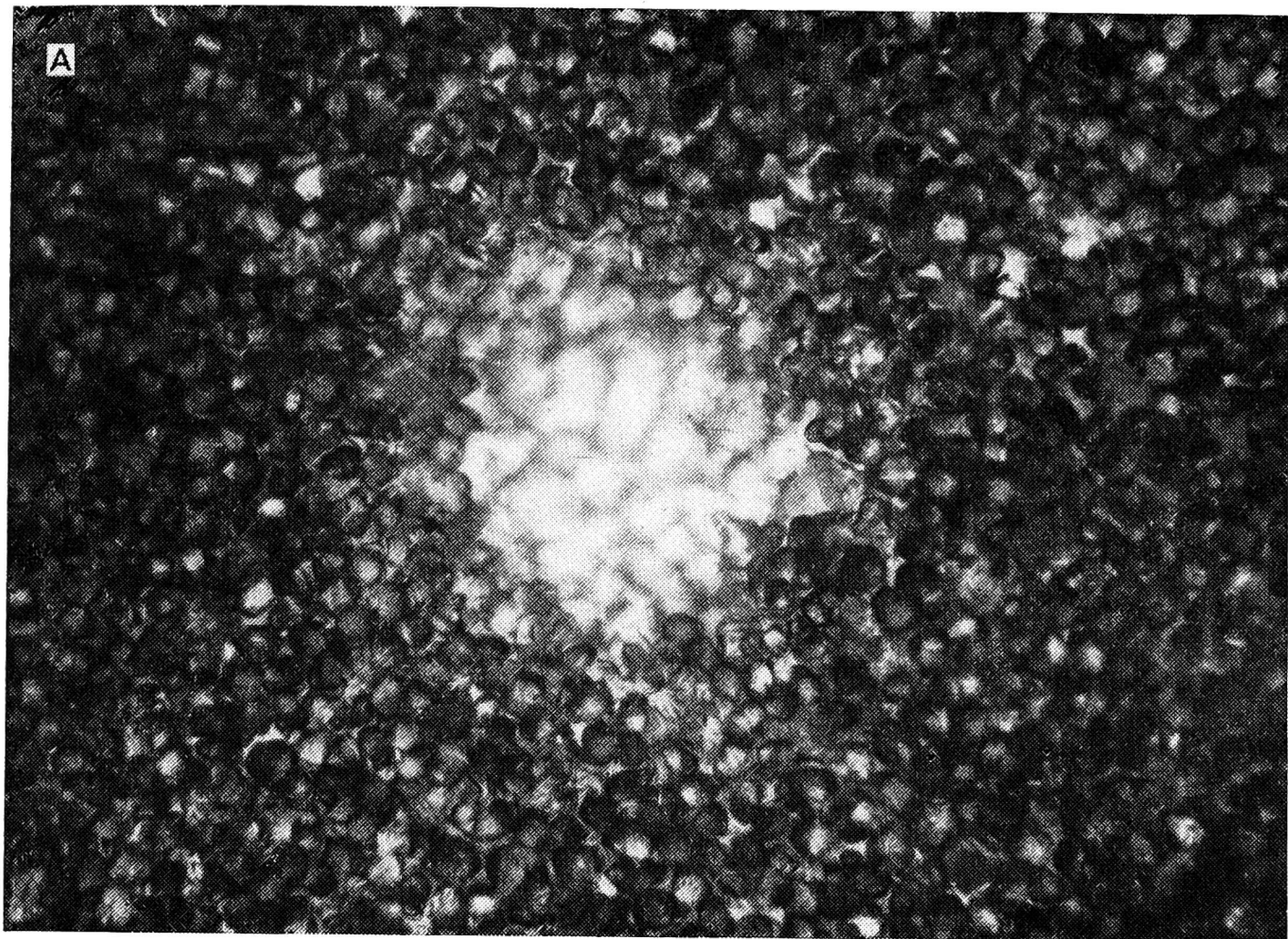
W celu wyeliminowania czynnika glebowego przeprowadzono serię doświadczeń hodując siewki od nasienia w sterylizowanym piasku podlewanym pełną pożywką w komorach, w stałej temperaturze 26°C i przy 14-godzinnym oświetleniu.

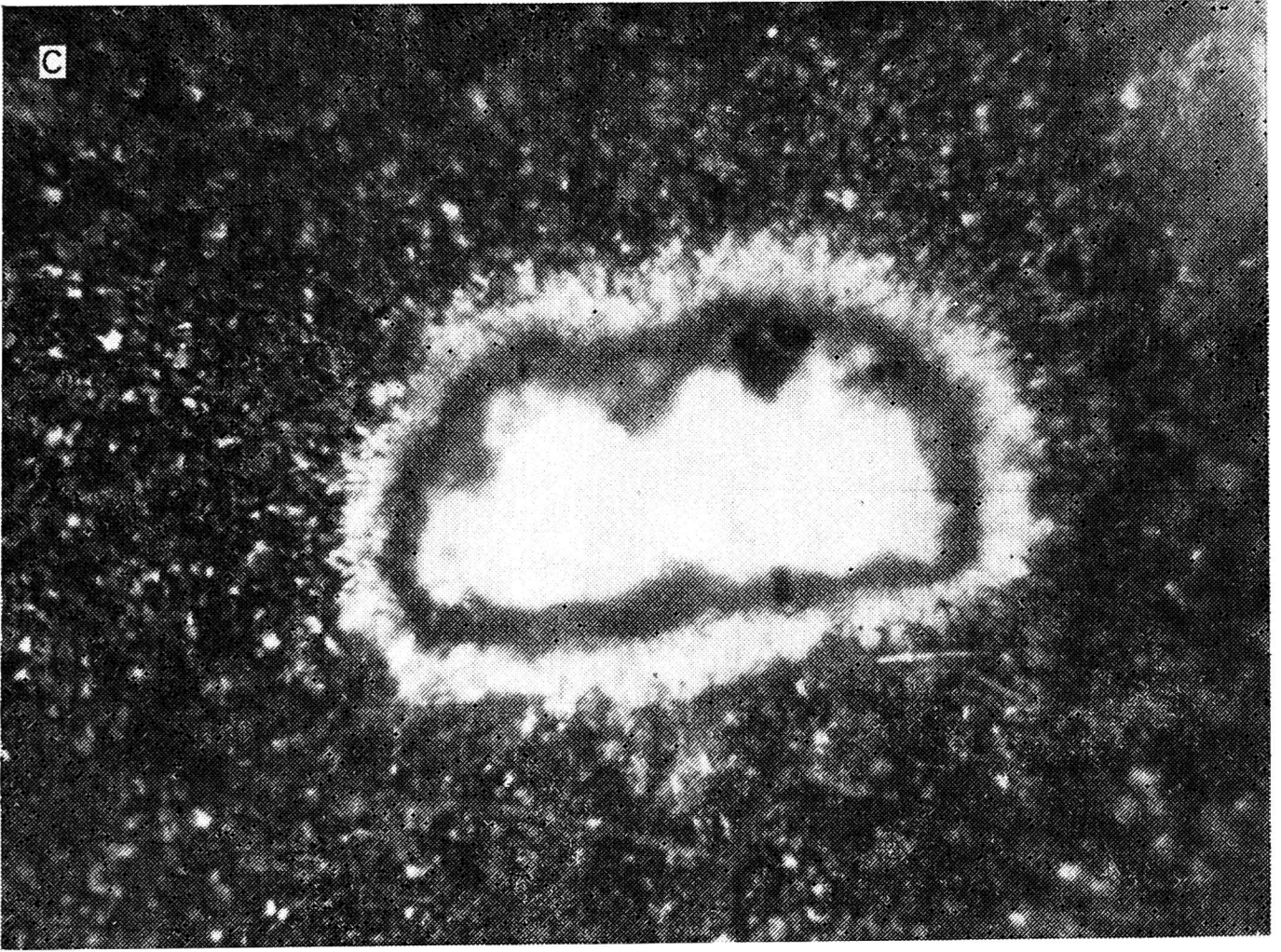
Gdy siewki miały rozwinięte 4 liście przenoszono je do wodnych kultur: z czystą wodą i pożywką Hewitta z mikroelementami bez Mo z molibdenianem amonu o stężeniu 0,005 i 0,0005 g/l. Pierwsza seria po 5 dniach była z powrotem przenoszona do kultury piaskowej, równocześnie liśćmi zakazano siewki w piaskowej kulturze o 4 rozwiniętych liściach. Drugą serię przetrzymano w wodnej kulturze z molibdenianem amonu 7 dni, po czym wsadzono do piasku i zaszczepiono siewki. W porównaniu z siewkami wyhodowanymi w tych samych warunkach na ziemi ogrodowej liczba plamek była mniejsza, ale zjawyły się one regularnie po 16 dniach od włożenia siewek do pożywek molibdenowych, przy czym nasilenie objawów w obu seriach nieznacznie się różniło. Plamki na szczepionych liściach pojawiły się późno, dopiero po 23 dniach, nie mniej były zupełnie wyraźne i charakterystyczne. Kontrole przeprowadzone zarówno na pożywce, jak i czystej wodzie były pozbawione jakichkolwiek objawów zarówno na siewkach przesadzanych, jak i szczepionych liśćmi z hodowli bezmolibdenowej.

## HODOWLE W STERYLIZOWANYM PIASKU I ŚRODOWISKU WODNYM

Odmiennie zareagowały na molibdenian amonu siewki *N. rustica* hodowane przed i po wyjęciu z pożywki molibdenowej w środowisku wodnym. *N. rustica* była wysiana w sterylnym piasku w kamerach i podlewana pożywką. Po 20 dniach, kiedy miała rozwinięte 3 liście została przeniesiona do kultury wodnej z pełną pożywką do 150 ml naczyń szklanych na okres 2 tygodni. Następnie siewki o 5 rozwiniętych liściach przełożono do H<sub>2</sub>O z dwoma stężeniami Mo: 0,005 i 0,0005 g/l o pH = 4,5, jedną serię siewek na 5 dni i drugą serię na 7 dni, po czym siewki wstawiono z powrotem do kultury wodnej. Siewki z I serii po 16 dniach miały 9 liści, przy czym 4 górne liście rozwinięte po wyjęciu siewek z molibdenianu amonu osadzone na skróconej, w porównaniu z kontrolą, łodydze, były silnie pomarszczone, z wygiętymi zgrubiałymi nerwami, i brązową biegnącą przez środek smugą.

U siewek serii II, trzymanej 7 dni na pożywce molibdenowej, wyrastające nowe liście odznaczały się jeszcze silniejszymi zniekształceniami i zahamowaniem rozwoju. Liście które pobierały i magazynowały molibden w dużej ilości, zachowały wygląd normalny, natomiast liście, które poprzez korzenie molibdenu pobierać nie mogły uległy krańcowemu

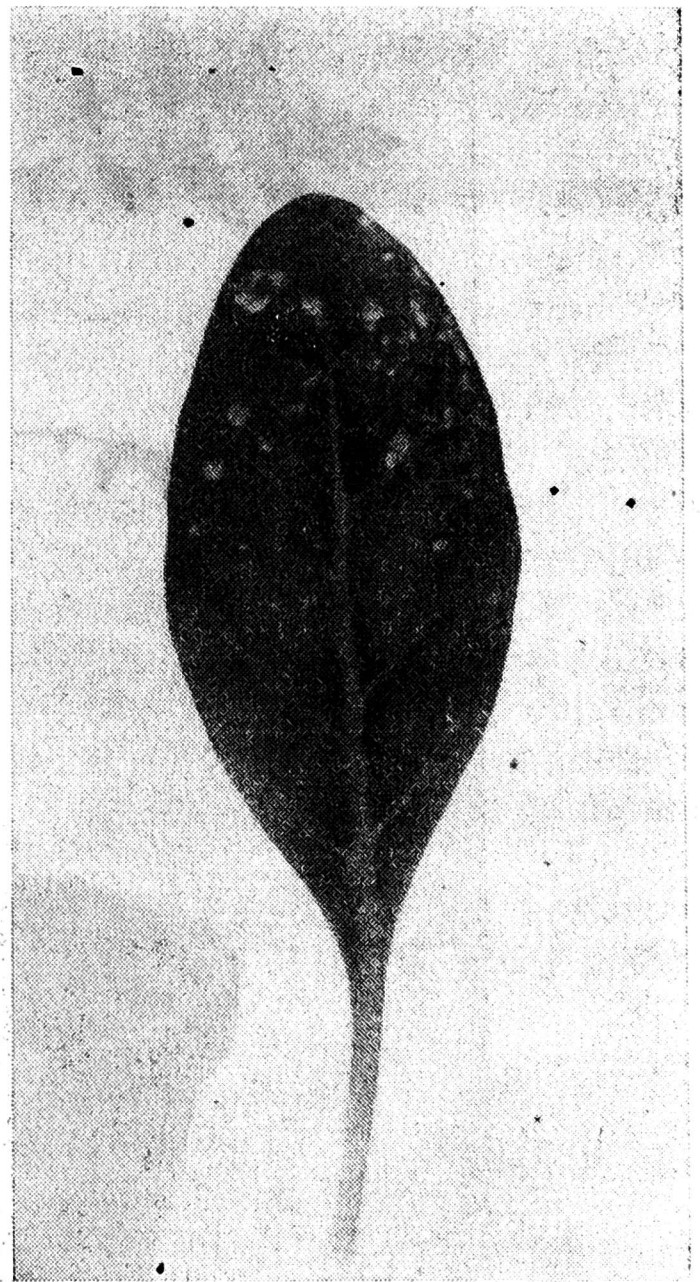




Rys. 1. Mikrofotografie plamek chlorotycznych zjawiających się na nowych rozwiniętych liściach po przesadzeniu siewek *N. rustica* z pożywek molibdenowych do ziemi: A — plamka 0,5 mm (pow. 37 x), B — plamka z stadium późniejszym z zaznaczonym obrzeżeniem (pow. 30 x ), C — plamka nekrotyczna (pow. 24 x)



Rys. 2. Liść siewki *N. rustica* trzymanej 3 dni w  $H_2O + 0,05$  g/l Mo a następnie 4 tygodnie w ziemi; widoczne plamki i ubytki liścia



Rys. 3. Liść siewki *N. rustica* powyżej inokulowanych, 11 dni wcześniej liśćmi siewki trzymanej 3 dni w pożywce 0,0002 g/l Mo

zniekształceniu, z widocznymi zmianami, które zająć musiały w tkance przewodzącej. Oglądana pod mikroskopem tkanka sitowo-naczyniowa ogonka zniekształconego 6 liścia miała brunatno zabarwioną tkankę sitową wykazującą zniszczenie. Przekrój głównej łodygi pod 5 liściem rozwiniętym normalnie nie wykazywał zmian w tkance przewodzącej. Hewitt i Agarwala [14] wykazali na skrawkach mikroskopowych ogonków liściowych pomidorów, kalafiorów i innych roślin wzmożone procesy redukcyjne, zachodzące pod wpływem molibdenu w tkance sitowej i twórczej.

W siewkach tytoniu trzymanyh stale w kulturach wodnych, tkanka sitowa uległa wyraźnemu zniekształceniu w okresie rozwoju liści, gdy rośliny już nie wzrastały w pożywce molibdenowej. Wskutek tego rozwój liści górnych został zahamowany, co wskazuje na wstrzymanie do nich



Rys. 4. Siewka pomidorowa *Lycopersicum chilense* potarta sokiem tytoniu trzymanego w pożywce z molibdenem

dopływu substancji odżywczych. Przeprowadzona inokulacja sokiem dolnych i górnych zniekształconych liści z obu serii, nie dała charakterystycznych chlorotycznych plamek na zdrowych siewkach.

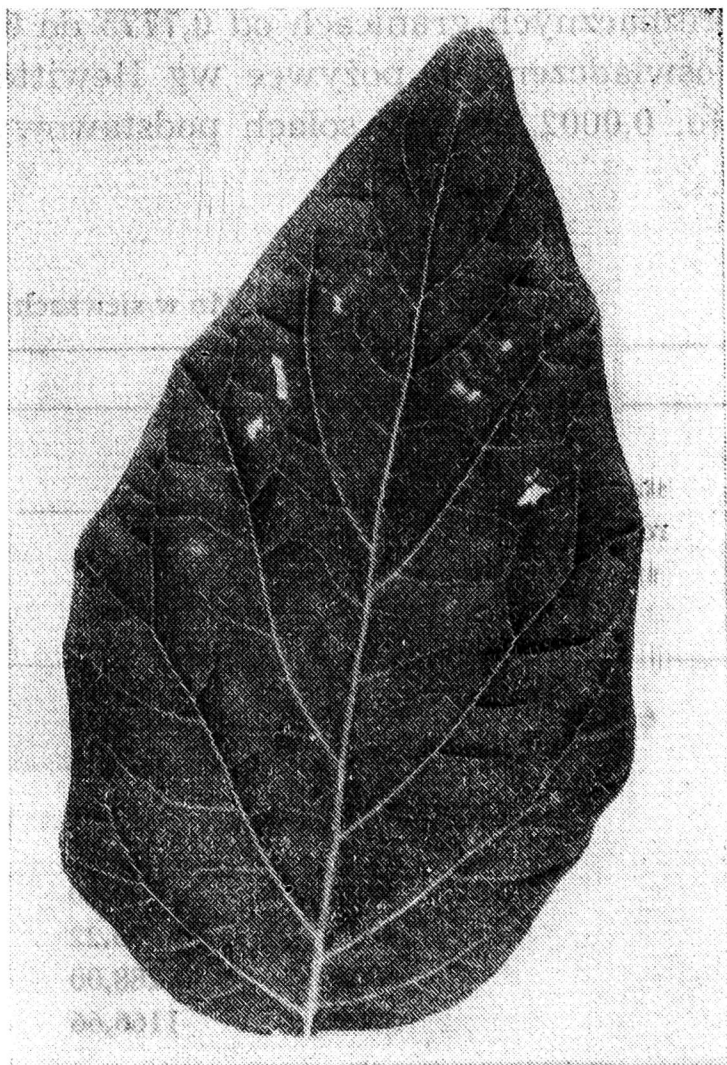
WPLYW AZOTU W FORMIE AZOTANOWEJ I AMONOWEJ  
NA INTENSYWNOŚĆ OBJAWÓW

W opisanych już seriach doświadczeń z przeszczepami, liczba chlorotycznych plamek pojawiających się na siewkach powyżej liści szczepionych wykazywała bardzo dużą rozpiętość — od zupełnego braku, do kilkudziesięciu plamek na liściu.



W celu stwierdzenia czy na reakcję rośliny na molibden nie wywiera wpływu wcześniejsze pobieranie jonów  $\text{NO}_3$  przeprowadzono 6 doświadczeń, w których siewki tytoniu po wyjęciu z ziemi były przez rozmaity czas hodowane w wodnej kulturze w pożywce wg Hewitta z azotem w formie azotanowej ( $\text{KNO}_3$  0,202 g/l i  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,854 g/l), a następnie przenoszone do  $\text{H}_2\text{O}$  z molibdenem amonu o różnym stężeniu. Siewki trzymane 9 dni w pożywce dały na roślinach szczepionych około 3 razy więcej plamek w porównaniu z siewkami trzymanymi na pożywce tylko 3 dni [1]. W celu wykazania zależności między pobieraniem przez roślinę azotu w formie azotanowej a reakcją na molibden w postaci lokalnych plamek, przeprowadzono serię kultur wodnych trzymając siewki wyjęte z ziemi w roztworze  $2 \times 10^{-3}\text{M}$   $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  z różnymi stężeniami  $\text{NH}_4$ -molybdate, o  $\text{pH} = 4,5$ . Jak wykazały dawniejsze badania [18] siarczan amonu w tym stężeniu podawany roślinie powoduje stymulację syntezy TMV w liściach tytoniu. Opisane zjawisko występowania po określonym czasie plamek na liściach roślin szczepionych nie zostało stwierdzone przy żadnym ze stężeń Mo w roztworze  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  na 80 użytych do doświadczenia siewek.

Kolejno przeprowadzono 8 serii kultur wodnych dodając do siarczanu amonu związek chelatowy EDTA w stężeniu  $6 \times 10^{-4}\text{M}$ , który podobnie



Rys. 5. Górny liść *Datura stramonium*, stadium 10 liści inokulowany w stadium 5 liści siewkami trzymanymi 3 dni na pożywce z molibdenem

jak siarczan amonu stymuluje syntezę wirusową [19]. Ponieważ dodanie związku chelatowego do pożywki z Mo obniża jego pobieranie przez roślinę, zastosowano w doświadczeniach wysokie stężenie Mo, zaczynając od 1 g do 0,005 g molibdenianu amonu na litr pożywki. Przed zanurzeniem do pożywek molibdenowych siewki po wyjęciu z ziemi hodowano w pełnej pożywce z azotem w formie azotanowej przez 3, 9, 11 i 14 dni. Hodowle były tak prowadzone, że siewki kładzione do pożywki molibdenowej były we wszystkich wypadkach w tym samym stadium rozwojowym — 5 rozwiniętych liści. Siewki zakażone roztartymi liśćmi siewek wyjętych z pożywek molibdenowych w stadium 3 rozwiniętych liści były obserwowane w ciągu 24 dni. Objawy w postaci plamek wystąpiły bardzo wyraźnie, gdy materiał użyty do zakażenia był uprzednio hodowany na azotanowej pożywce przez 14 dni, słabiej po 11 dniach, a naj słabiej po 9 i 3 dniach. Zaznaczyć należy, że dodanie EDTA do roztworu  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  z molibdenianem amonu, nawet w wypadku przenoszenia siewek wprost z ziemi powoduje niekiedy pojawienie się nielicznych plamek na szczepionych siewkach.

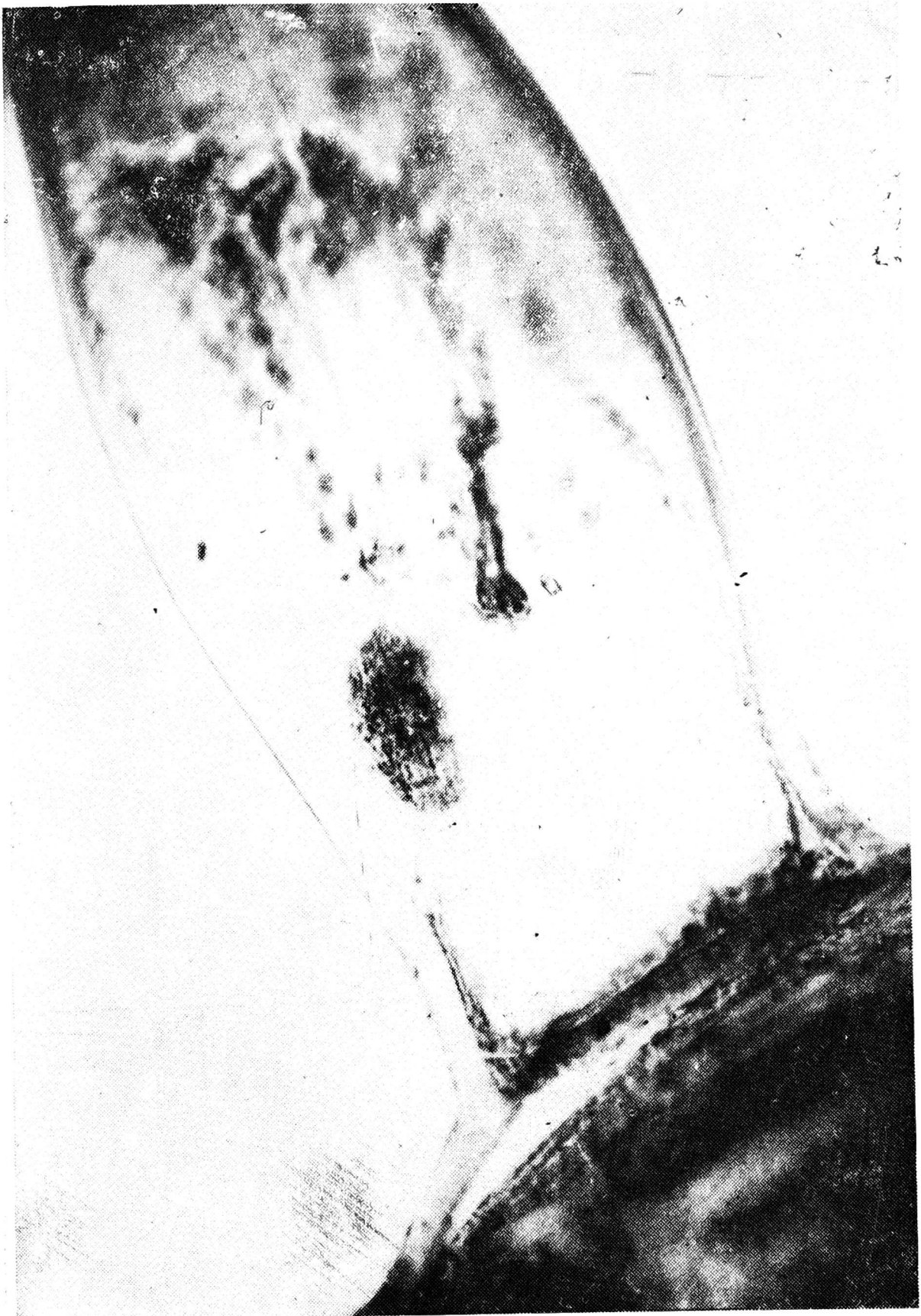
POBIERANIE MOLIBDENU PRZEZ ROŚLINY DOŚWIADCZALNE

Molibden w glebie ogrodowej używanej do doświadczeń wahał się w nieznacznych granicach od 0,7775 do 0,8375 ppm. W używanej w naszych doświadczeniach pożywce wg Hewitta stwierdzono ślady zanieczyszczeń Mo, 0,0002 ppm w solach podstawowych i 0,0445 ppm w mikroelemen-

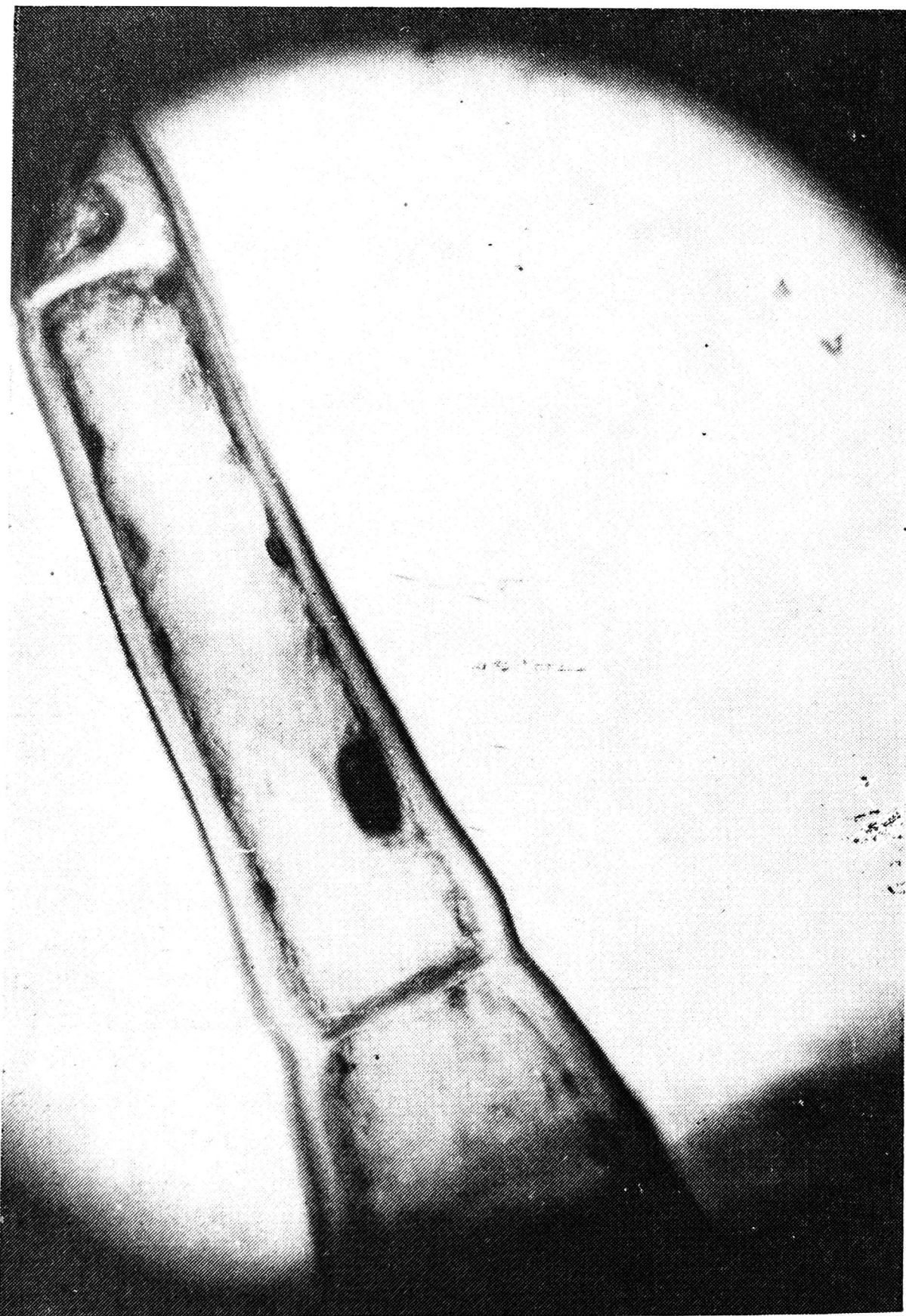
Tabela 1

Ilość Mo w siewkach *Nicotiana rustica*

stadium rozwoju siewek	3 dni w pożywce		stadium rozwoju siewek	33 dni w ziemi ogrodowej	
	ilość Mo (ppm)			ilość Mo (ppm)	
	pożywka	6 liści (s.m.)		ziemia ogrodowa	5 górnych liści (s.m.)
6 liści		kontrola	12 liści	0,8375	kontrola
		13,75			6,4
	0,5	33,00			7,60
	5	16,50			7,20
	50	20,60			5,20
	500	43,22			7,20
	5000	288,00			6,40
	50000	1166,66			15,44



Rys. 6. Mikrofotografia włoska *N. tabacum* var. Samsun w świetle UV 260 nm (pow. 1000 x)



Rys. 7. Mikrofotografia (UV 260 nm) włoska *N. tabacum* var. Sam-sun pobranego z liścia powyżej skryskanych 2-krotnie  $\text{Mo}+(\text{C}+\text{D})$  oraz dodatkowo oksydazą ksantynową

tach, bez molibdenianu amonu [23]. Te same rośliny trzymane w kulturach wodnych miały zawsze do dyspozycji ślady Mo. Ilość molibdenu w liściach siewek kontrolnych w stadium 4 do 6. liści, hodowanych bezpośrednio w ziemi ogrodowej, bądź przekładanych do pożywki bez dodawania Mo była dość wysoka — od 13,75 do 22,20 ppm. W późniejszym stadium rozwoju, gdy siewki miały kilkanaście liści rozwiniętych, ilość molibdenu w liściach średnich i górnych była niższa i wynosiła około 5,2-7,60 ppm, zgodnie z badaniami Steinberga [25], który podaje średnią dla liści tytoniu 6,4 ppm.

Pobieranie Mo w ciągu 3 dni przez siewki *N. rustica* w kulturach wodnych, oraz w tych samych siewkach rozwijających się następnie w ziemi ogrodowej, zostało przebadane na materiale z doświadczenia. Jak wynika z tabeli 1 dodany do kultur wodnych molibdenian amonu do 50 ppm, po 3 dniach nie wpłynął w dużym stopniu na podniesienie poziomu molibdenu w liściach tytoniu. Wyraźne gromadzenie się molibdenu w liściach zaczynało się dopiero przy 500 ppm, dochodząc do wysokiego poziomu 1166,66 ppm przy 5 000 ppm w pożywce. Jak zaznaczono roślina te ilości molibdenu toleruje nie wykazując objawów toksycznych. Analizy liści górnych, które rozwinęły się po przeniesieniu roślin do ziemi ogrodowej wykonane 33 dni później wykazały poziom molibdenu niewiele odbiegający od kontroli. Molibden nagromadzony w liściach dolnych w wielkich ilościach nie przenosi się wydatnie do liści górnych. Jest to godne uwagi, że na tych liściach wystąpiły objawy w postaci plamek chlorotycznych.

#### DOŚWIADCZENIA Z *DATURA STRAMONIUM* I *LYCOPERSICUM CHILENSE*

Ponieważ na siewkach *N. rustica* obserwowano w kontrolnych kulturach wodnych występowanie zranień przypominających plamki chlorotyczne przeprowadzono dla kontroli doświadczenia z działaniem molibdenu na dwa daleko pod względem systematycznym stojące gatunki, nie dające w hodowli szklarniowej żadnych tego rodzaju objawów: *D. stramonium* i *L. chilense*. Siewki *D. stramonium* z hodowli szklarniowej o rozwiniętych 4 listkach przełożono na 5 dni do kamery, do pełnej pożywki azotanowej, następuje do H<sub>2</sub>O z różnymi stężeniami molibdenianu amonu od 1 do 0,0005 g/l Mo. Po trzech dniach siewki na wysokich stężeniach molibdenu miały liście dolne zwiędnięte, na stężeniach od 0,01 do 0,0005 g/l Mo wykazywały chlorozę.

Roztartymi listkami siewek ze wszystkich stężeń potarto 2 liście siewek *D. stramonium* o 5 rozwiniętych liściach. Po 8 dniach, gdy rośliny miały 6 liści rozwiniętych, wystąpiły na jednym nieszczepionym liście 24

typowe plamki. Po 40 dniach, gdy rośliny miały 10 rozwiniętych liści, na liściach środkowych i górnych widoczne były plamki (rys. 5). Można było wyróżnić typowe plamki chlorotyczne około 1 mm do ledwie dostrzegalnych i większe nekrotyczne.

*L. chilense*, gatunek odkryty jako roślina testowa dla ziemniaczanego wirusa M i S [22], zareagował na działanie molibdenu łukowatym wygięciem ogonków liściowych (epiblasti), wcześniejszym opadaniem liści, pomarszczeniem i zagięciem blaszek liściowych. Siewki *L. chilense* o rozwiniętych 5 liściach były przenoszone z ziemi ogrodowej do naczyń szklanych z pożywką azotanową na okres 4 tygodni, a następnie jedna seria była umieszczona na trzy dni w wodzie z różnymi dawkami molibdenianu amonu od 1 do 0,00005 g/l Mo. Druga seria była trzymana w pożywce z  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + EDTA z tymi samymi dawkami  $\text{NH}_4$ -molybdate. Po wyjęciu roślin z pożywek, liśćmi i korzeniami pomidorów pocierano młode (3 liście rozwinięte) siewki *N. rustica* i *L. chilense* o 6 rozwiniętych liściach. Po 30 dniach na siewkach *N. rustica*, na liściach powyżej szczepionych były widoczne nieliczne, duże 2-3 mm plamy z nekrozami i małe charakterystyczne, chlorotyczne plamki. Przeszczepy z korzeni dały plamki w kilku wypadkach. Wzrost zaszczepionych siewek *L. chilense* był w znacznym procencie zahamowany, a rośliny miały powyginane liście.

#### WPLYW ŚWIATŁA NA AKTYWNOŚĆ MOLIBDENU

Rośliny trzymane w ciemności przez dłuższy czas wykazują słabszą zdolność do redukcji azotanów, niż rośliny rozwijające się w normalnym oświetleniu [20]. W dwóch seriach doświadczeń w wodnych kulturach, z różnymi stężeniami molibdenianu amonu, trzymano siewki *N. rustica* przez 3 dni w ciemności. Po przesadzeniu z pożywek molibdenowych do ziemi siewki z ciemności (inaczej niż siewki ze światła) nie miały na liściach chlorotycznych plamek przez cały czas dalszego rozwoju.

Związek między fotosyntezą a stymulującym działaniem Mo na syntezę RNA w liściach soi wykazał Pozsár [21]. Analogiczne wyniki otrzymano z siewkami *N. rustica* w przeprowadzonych przez nas następujących doświadczeniach. Siewki *N. rustica* o rozwiniętych 5 liściach trzymano przez 3 dni w wodzie z molibdenianem amonu (0,0005 g/l Mo) — jedną partię w ciemności, a drugą na świetle. Kontrolą były siewki hodowane w ziemi przy takim samym oświetleniu. Po wyjęciu siewek z kultury wodnej część przeniesiono do ziemi w celu dalszej hodowli, a w 5 najwyższych liściach pozostałych siewek ze światła, z ciemności i z kontroli oznaczono całkowitą ilość RNA, zmodyfikowaną metodą Ogur-Rosen [16].

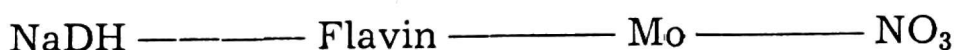
Następnie w kilkudniowych odstępach czasu, gdy rośliny po przesadzeniu do ziemi miały 7 a potem 9 rozwiniętych liści, oznaczono tak samo RNA w piątym liściu (od dołu). Średnie wyniki przeprowadzonych analiz przedstawiały się następująco: na świetle szczytowy 5 liść, siewek 3 dni hodowanych na wodzie z 0,0005 g/l Mo, zawierał ponad dwukrotnie więcej ogólnego RNA, niż piąty liść tych samych siewek trzymany przez 3 dni w ciemności. W późniejszych stadiach rozwojowych siewek przesadzonych do ziemi w liściach piątym, znajdujących się poniżej rozwijających się liści wierzchołkowych, ilość całkowitego RNA we wszystkich trzech wypadkach obniżyła się i stopniowo wyrównała.

#### REDUKTAZA AZOTANOWA

Molibden jako jeden ze składników reduktazy azotanowej w roślinach, jest jednym z elementów biorących udział w procesie redukcji azotanów na azotyny. Jeśli molibden podawano roślinom hodowanym w warunkach niedoboru tego pierwiastka, ilość azotanów obniżała się, zaś zawartość azotynów, aminokwasów i białek wzrastała [24]. Nadmiar molibdenu zwiększał aktywność reduktazy azotanowej, w wypadku podawania roślinom azotu w formie azotanowej [4, 7].

Opisane doświadczenia, wykazujące intensywniejsze występowanie plamek chlorotycznych u roślin hodowanych przez czas dłuższy przed rozpoczęciem doświadczenia na pożywce azotanowej, nasunęło przypuszczenie, że zaburzenia metabolizmu rośliny wprowadzonym w tych warunkach w środowisku wodnym molibdenem wiążą się ze wzmożoną aktywnością reduktazy azotanowej.

Aktywność reduktazy azotanowej wymaga Mo i flawiny wraz z niekiedy obecnymi grupami Fe-S i cytochromami. Przebieg procesu jest następujący:



Mo (IV) w formie zredukowanej wiąże się bezpośrednio z substratem, gdy Mo (IV) redukuje  $\text{NO}_3$  przechodzi w Mo (VI) [27].

Wprowadzony do siewek tytoniu molibdenian amonu zawiera molibden w formie utlenionej Mo (VI). Przeprowadzono wiele doświadczeń wprowadzając do kultur wodnych z molidbenianem amonu czynnik redukujący pod postacią Cysteiny i Dieca (sodium diethyldithio-carbamate), stosując stężenie obu odczynników 0,01 M. Wykonano następujące doświadczenia: siewki tytoniu były przenoszone na 2 godziny do 0,01 M Cysteina + 0,01 M Dieca bez molibdenianu amonu, po czym przenoszono je do  $\text{H}_2\text{O}$  z 0,005 i 0,0005 g/l Mo (pH = 4,5) na 2 dni. Reakcja roślin

na molibden była bardzo słaba. Podobnie Cysteina i Dieca nie wywarły żadnego wpływu wtedy, gdy były dostarczane roślinom po ich wyjęciu z pożywek molibdenowych.

Wyraźny wpływ na pojawienie się charakterystycznych objawów na liściach siewek tytoniu został stwierdzony w wypadku, gdy Cysteina i Dieca były wprowadzane do roślin w wodnych kulturach równocześnie z molibdenianem amonu. Siewki wyhodowane w piasku sterylizowanym w stadium 5 liści przenoszono na 2 godziny do 0,01 M Cysteiny i 0,01 M Dieca z dwoma stężeniami molibdenianu amonu 0,005 i 0,0005 g/l Mo (pH = 5,8), następnie na 2 dni do takich samych roztworów molibdenianu amonu w H<sub>2</sub>O przy pH = 4,5 (bez Cysteiny i Dieca). Przy końcu drugiego dnia rozwijający się 6 liść był wyraźnie zniekształcony, o sierpowato wygiętym nerwie głównym i nadgryzieniach po jednej stronie liścia. Zakażone sokiem zniekształconego 6 liścia siewki, wykazały po 6 dniach słabe, a po 14 dniach wyraźne plamki na rozwijających się liściach. W kontroli przeprowadzonej bez Cysteiny i Dieca, po 2-dniowym działaniu w tych samych warunkach molibdenianu amonu nie otrzymano żadnych objawów na przeszczepionych siewkach. Jest prawdopodobne, że dodane do molibdenianu amonu związki o własnościach redukujących, uaktywniają działanie molibdenu, przeprowadzając Mo (VI) do Mo (V) i Mo (IV), które mogą być szybciej wbudowywane do reduktazy azotanowej.

#### WPROWADZANIE MOLIBDENU DO ROŚLINY ZA POMOCĄ OPRYSKIWANIA

W maju i czerwcu 1973 r. dzięki zaproszeniu Departamentu Patologii Roślin w Upsali, miałam możliwość przeprowadzenia doświadczeń w warunkach 21 do 22-godzinne go długiego dnia, w szklarni przy słonecznym oświetleniu. W celu wprowadzenia do roślin molibdenu zastosowano metodę opryskiwania. Badania przeprowadzono na *N. tabacum* var. Xanthi, Samsun i *N. rustica*. Spryskiwano rośliny tytoniu w różnym stadium rozwojowym — od siewek o 4 liściach rozwiniętych (bez liścieni) do roślin wyrosniętych o 16 liściach — molibdenianem amonu o stężeniu 0,0005 g/l Mo + (0,01 M Cysteina + 0,01 M Dieca) pH = 5,8.

Opryskiwano rośliny 2 bądź 3 razy w ciągu 2 względnie 3 dni. Spryskiwano wszystkie liście dolne i środkowe, zostawiając w poszczególnych doświadczeniach, licząc od góry 1, 2 albo 3, względnie 6 liści niespryskanych. Niezależnie od stadium rozwojowego roślin, jeśli na wierzchołku pozostawiono 1 lub 2 liście niespryskane w 3 lub 5 dniu od pierwszego opryskiwania zjawiały się u większości roślin na liściach niespryskanych i nowo rozwijających się liczne drobne chlorotyczne plamki



na brzegu dolnej części liścia. Szczególnie uderzające było nagromadzenie plamek na liściu 2 powyżej opryskanych. Na liściach opryskanych charakterystycznych plamek albo nie było wcale, bądź zjawiały się obok silnych nekroz wywołanych opryskiem.

W ciągu następnych kilku dni plamy się powiększały, a ich liczba rosła. Pojawiały się stopniowo i było ich znacznie mniej na rozwijających się 4 liściach powyżej opryskanych. Po 20 dniach od pierwszego opryskiwania plamki nie tylko nie powiększały się, ale liczba komórek bezzieleniowych na ich obwodzie zaczynała się zmniejszać. Poza plamkami, w których nastąpiła wyraźna nekroza, plamki chlorotyczne po 30 dniach od pierwszego opryskiwania przypominały nakłucia na małej zzieleniałej wypukłości. Równocześnie rozwijające się górne liście aż do tworzącego się kwiatostanu miały wygląd normalny.

Na roślinach z opryskanymi dolnymi liśćmi poniżej 3 względnie 4 liści górnych zupełnie wyjątkowo można było zaobserwować tworzenie się pojedynczych chlorotycznych plamek. Na ogół objawy te nie występowały zupełnie.

Tabela 2 i 3 przedstawiają pojawianie się chlorotycznych plamek na dwóch odmianach tytoniu — *N. tabaccum* var. Xanthi i Samsun po opryskaniu liści dolnych i środkowych. Z kolejnych doświadczeń wynika, że stadium ostatniego liścia spryskanego było decydujące o pojawieniu się plamek i to w największym nasileniu na liściu drugim powyżej spryskanych. W doświadczeniu II (tab. 3) na odmianie Samsun, na liściu który rozwinął się po dokładnym opryskiwaniu wystąpiły objawy nieregularnych ubytków po jednej stronie liścia, które kilkakrotnie wystąpiły w doświadczeniach poprzednich.

Z *N. rustica* przeprowadzono jedną serię analogicznych doświadczeń z 10 roślinami mającymi rozwiniętych 7 liści, 8 i 9 w rozwoju. Spryskano 7 liści. W piątym dniu ukazały się na 7 roślinach liczne plamki na 8 liściu i pojedyncze na 9. Drugą serię doświadczeń z *N. rustica* wykonano w czerwcu (22-godzinny dzień) z 15 siewkami o 5 rozwiniętych liściach i 6 w rozwoju. Spryskano 5 liści dwa razy. Trzeciego dnia po pierwszym opryskiwaniu wystąpiły objawy na 6 roślinach, piątego dnia na 8 roślinach. Na 4 i 5 liściach spryskanych i 6 rozwiniętych po opryskiwaniu wystąpiły liczne małe plamki. Doświadczenia z wprowadzeniem molibdenu do roślin za pomocą opryskiwania powtórzono w Krakowie w lipcu przy sztucznym 20-godzinnym oświetleniu w kamerze na siewkach. *N. rustica* i *N. tabacum* var. Peyot. Podobnie jak w Upsali na długim dniu, objawy na niespryskanych liściach wystąpiły 4 i 5 dnia, ale tylko na niektórych roślinach i to w dużo mniejszej ilości.

Przeprowadzono ponadto doświadczenia wprowadzając do roślin do-

Tabela 2

Siewki *N. tabaccum* v. *Xanthi* uprawiane w Uppsali, długość dnia 21 godzin spryskane molibdenianem amonu (0,0005 Mo) + 0,01 M Cysteina i 0,01 M Dieca

## Doświadczenie I

Data	Stadium rozwoju	Spryskane	Liczba roślin	Pojawienie się plamek		Liczba roślin z objawami
17 V	8 liści	2 razy	10	liście	liście	
18 V		6 liści		spryskane	niespryskane	
				(6)	(2)	
20 V	9 liści	—	10	10/6	8/7 6/8 5/9	4
22 V	10 liści	—	10	15/6	18/7 6/8 95/9	8
					13/10	
6 VI	16 liści	—	10	—	liście skręcone, plamki znikają	8
					1/13 2/15	

## Doświadczenie II

22 V		3 razy		liście	liście	
23 V	9 liści	7 liści	12	spryskane	niespryskane	
24 V				(7)	(2)	
24 V	9 liści	—	12	—	100/9	3
25 V	10 liści	—	12	—	10/8 202/9	12
					150/10	
29 V	13 liści	—	12	120/7	92/8 302/9	12
					247/10 4/11	
4 VI	17 liści	—	12	—	plamki znikają	12

## Doświadczenie III

28 V		3 razy		liście	liście	
29 V	6 liści	3 liście	6	spryskane	niespryskane	
30 V				(3)	(3)	
31 V	6 liści	—	6	—	10/7 słabe	1
6 VI	8 liści	—	6	—	—	—

## Doświadczenie IV

4 VI		3 razy		liście	liście	
5 VI	16 liści	9 liści	2	spryskane	niespryskane	
6 VI				(9)	(6)	
6 VI	16 liści	—	2	—	—	—
9 VI	17 liści	—	—	—	—	—
14 VI	18 liści	—	2	—	—	—

Licznik — liczba plamek.  
Mianownik — kolejny liść.

Tabela 3

Siewki *N. tabaccum* v. Samsun uprawiane w Uppsali, w szklarni, długość dnia 21 godzin spryskane molibdenianem amonu (0,0005 Mo) + 0,01 M Cysteina i 0,01 M Dieca

## Doświadczenie I

Data	Stadium rozwoju siewek	Spryskano	Liczba roślin	Pojawianie się plamek	Liczba roślin z objawami
15 V	11 liści	2 razy	5	liście	
16 V		9 liści		spryskane (9)	liście niespryskane (2)
20 V	13 liści	—	5	—	liczne/12
24 V	15 liści	—	5	—	2/11 liczne/12
6 VI	pączki kwiatowe	—	5	—	liście pomarszczone, plamki znikają, nieliczne na liściach górnych

## Doświadczenie II

28 V		3 razy		liście	liście
29 V	8 liści	6 liści	6	spryskane (6)	niespryskane (2)
30 V					
31 V	9 liści	—	6	—	pierwsze plamki
6 VI	12 liści	—	6	wiele plamek	9/7 <sup>a</sup> 118/8 <sup>a</sup> 260/9 <sup>b</sup> 17/10 <sup>a</sup>
8 VI	13 liści	—	6	wiele plamek	3 górne liście bez objawów

<sup>a</sup> Liście pomarszczone; <sup>b</sup> Nieregularne ubytki, po jednej stronie liści.

## Doświadczenie III

28 V		3 razy		liście	liście
29 V	6 liści	3 liście	6	spryskane (3)	niespryskane (3)
30 V					
31 V	6 liści	—	6	—	—
6 VI	8 liści	—	6	plamki	1/5

Licznik — liczba plamek.

Mianownik — kolejny liść.

świadczalnych dodatkowo za pomocą opryskiwania enzym zawierający molibden — oksydazę ksantynową. W czerwcu w Uppsali wzięto do doświadczenia *N. tabacum* var. Samsun o rozwiniętych 10 liściach (8 dużych liści, 2 w pierwszym stadium rozwoju). Wszystkie (10) rośliny spryskano 2-krotnie molibdenianem amonu + (C + D), zostawiając cztery górne liście niespryskane. Następnie 5 roślin spryskano po raz trzeci roztworem oksydazy ksantynowej o pH = 8 (1 mg w 5 ml buforu fosforanowego). Pozostałe (5) rośliny pozostawiono bez trzeciego opryskiwania jako kontrole. Zgodnie z poprzednio opisanymi doświadczeniami siewki *N. tabacum* var. Samsun w późnym stadium rozwoju o 4 niespryskanych liściach nie dawały żadnych objawów w ciągu następnych 2 tygodni na górnych i później rozwijających się liściach. Dodatkowy oprysk oksydazą ksantynową spowodował zjawienie się plamek nie tylko na 4 niespryskanych liściach, ale i na dalszych później rozwijających się 12, 13, 14 i 15. Rośliny te w porównaniu z kontrolą miały zahamowany wzrost, a w liściach wierzchołkowych był skrzywiony nerw główny.

Doświadczenia przeprowadzone w Krakowie przy sztucznym oświetleniu dały podobne wyniki. Młode siewki *N. tabacum* var. Peyot spryskane dodatkowo (po oprysku molibdenowym) roztworem oksydazy ksantynowej o dzień wcześniej miały na liściach wierzchołkowych niespryskanych liczniejsze plamki oraz silne zniekształcenia na brzegach liści.

#### PRZESZCZEPY MATERIAŁU DOŚWIADCZALNEGO

Równocześnie z opisanymi doświadczeniami wykonano przeszczepy. Szczepione były siewki w stadium rozwoju od 4 do 6 rozwiniętych liści. Jako inokulum stosowano zarówno wyciśnięty sok z ostatnich opryskanych liści, jak i z liści wyżej położonych wykazujących objawy. Najczęściej 10 dni po dokonanej infekcji zjawiały się plamki na liściach powyżej zakażonych, przy czym plamki występowały najliczniej wtedy, gdy do przeszczepu używano górne liście spryskane.

Na siewkach *N. rustica* pierwsze liczne plamki na nieszczepionych liściach wystąpiły 6 dni po zakażeniu, gdy szczepione siewki były w stadium 4 rozwiniętych liści. Tak jak to stwierdzono w poprzednich doświadczeniach, plamki występowały na ogół na pierwszych, niekiedy drugich liściach powyżej pocieranych. Następne rozwijające się liście z reguły nie miały objawów. W jednym tylko wypadku zaszczepiona wyciśniętym sokiem z górnych 5 dni wcześniej spryskanych liści *N. rustica* siewka *N. tabacum* var. Xanthi o 6 rozwiniętych liściach, wykazała po 10 dniach pierwsze plamki na liściu powyżej pocieranych, a dwa tygodnie po potarciu liści na siewce, na 7, 8 i rozwijającym się 9 liściu powyżej pocieranych wystąpiły liczne plamki, przy czym na jednym liściu

wystąpił ubytek z charakterystycznym ponadgryzonym brzegiem liścia. 24 dni po szczepieniu plamki się zmniejszyły, przypominając nakłucia na małych wypukłościach (tab. 4).

T a b e l a 4

Siewki *N. rustica*—6 liści spryskanych Mo+ (C+D) użytych do pocierania siewek *N. tabacum* var. Xanthi (Uppsala)

<i>N. rustica</i> 8 liści	<i>N. tabacum</i> var. Xanthi	Data	Stadium rozwoju	Pojawienie się plamek
spryskane 9 V-10 V	pocierane 5 liści	14 V	6 liści	5 liści pocieranych
—	—	24 V	10 liści	7/7 2/8
—	—	30 V	15 liści	12/7 2/8 15/12 25/13 <sup>a</sup> 15/14 8/15
—	—	4 VI	16 liści	12/7 2/8 20/12 31/13 <sup>a</sup> 11/14 7/15
—	—	8 VI	16 liści	plamki zanikają

<sup>a</sup> Nieregularne ubytki po jednej stronie liści.

#### OZNACZANIE ILOŚCI MO ROZPROWADZONEGO W ROŚLINIE PRZY DOLISTNYM NANIESIENIU

W celu stwierdzenia jaki procent Mo przy pokrywaniu liści roztworem molibdenianu amonu pozostaje na liściach, a jaki ulega przemieszczeniu w roślinie wykonano doświadczenia stosując molibdenian amonu ze znakowanym Mo:  $(\text{NH}_4)_2 \text{Mo}^{99} \text{O}_4$ , o aktywności właściwej około 2 mCi/cm<sup>3</sup>, dodając reduktory 0,01 M Cysteina i 0,01 M Dieca. Roztwór radioaktywny był rozprowadzany po wierzchniej stronie 4 i 5 liścia siewek tytoniu w stadium rozwoju 7 liści. Na jeden liść dawano około 0,5 ml roztworu.

W trzech seriach po 72, 96 i 168 godzinach zbierano osobno liście, łodygi i korzenie, ważono i przeprowadzano pomiary aktywności preparatów za pomocą studzienkowego detektora scyntylicyjnego z dokładnością  $\pm 3\%$ . Wyniki doświadczenia (w dwóch powtórzeniach) wykazały, że już po 72 godzinach Mo<sup>99</sup> był rozprowadzany po całej roślinie w 49%. Procent ten zwiększył się po 120, a po 168 godzinach doszedł do 53. Na pojedynczym liściu skażonym po 72 godzinach ilość nierozprowadzonego Mo wynosiła 30%, a po 120 i 168 godzinach — 23%.

Wystąpiła powtarzająca się regularność rozmieszczenia ilościowego Mo<sup>99</sup> w poszczególnych narządach rośliny, obliczona w stosunku do 1 mg świeżej masy. Najwięcej molibdenu gromadziło się w partii wierzchołkowej, najmniej w korzeniach i dolnych liściach. Wystąpiła przy tym różnica między ilością doprowadzonego molibdenu do liści rozwijających

się powyżej skażonych. Liść pierwszy powyżej skażonych zawierał niemal o połowę mniej  $\text{Mo}^{99}$  niż liść drugi. Wprowadzony w ten sam sposób molibdenian amonu bez reduktorów był rozprowadzany po roślinie za ledwie w około 2<sup>0</sup>%. Otrzymane procentowe wyniki zawartości  $\text{Mo}^{99}$  w pojedynczych liściach, łodydze i korzeniach posłużyły do prawdopodobnego obliczenia ilości molibdenu, wprowadzanego do tytoniu wraz z reduktorami, za pomocą opryskiwania w opisanych doświadczeniach wykonanych w maju i czerwcu 1973 r. w Uppsali.

Siewki tytoniu spryskiwano roztworem molibdenianu amonu w stężeniu odpowiadającym 0,0005 g/l Mo. Każdorazowo używano 0,5 ml roztworu na jeden liść, co odpowiada 0,25  $\mu\text{g}$  Mo. Przykładowo przy dwukrotnym oprysku 7 liści dostarczono roślinie tą drogą 3,5  $\mu\text{g}$  Mo. Jak to wynika z doświadczeń ze znakowanym  $\text{Mo}^{99}$ ,  $\pm 25^0\%$  naniesionego na liść molibdenu nie zostaje rozprowadzone po roślinie, co równa się w podanym przykładzie 0,87  $\mu\text{g}$  Mo. Rozprowadzonych po roślinie zostało tym samym 2,63  $\mu\text{g}$ .

Liście tytoniu w 1 g suchej masy zawierają  $\pm 6,4$   $\mu\text{g}$  Mo. Ciężar liści tytoniu o rozwiniętych 8 liściach  $\pm 1,8$  g (s.m.), co odpowiada 10,8  $\mu\text{g}$  Mo. Przez dwukrotne spryskanie 7 liści w siewkach tytoniu, o rozwiniętych 8 liściach, zwiększono ilość Mo o  $\pm 24^0\%$ .

Tabela 5 przedstawia kilka przykładów prawdopodobnego procentowego powiększenia ilości Mo w tytoniach poddanych opryskom w różnych stadiach rozwoju. Tabela 6 przedstawia prawdopodobną ilość molibdenu doprowadzoną po 3 i po 7 dniach do kolejnych liści położonych powyżej liści spryskanych.

Odrębna seria doświadczeń dotyczyła zagadnienia, czy wprowadzo-

Tabela 5

Ilość powiększonego Mo (%) w *N. tabacum* var. Xanthi wywołana opryskiem (Uppsala)

Stadium rozwoju	Sucha masa (g)	Mo (ppm)	Spryskano	Dodany Mo (w $\mu\text{g}$ )	Rozprowadzony Mo (w $\mu\text{g}$ )	Zwiększona ilość Mo (w %)
4 liście	0,2	2,68	4 liście 2 razy	2	1,15	$\pm 42$
6 liści	0,5	9,9	3 liście 2 razy	1,5	1,13	$\pm 14$
8 liści	1,1	7	7 liści 2 razy	3,5	2,63	$\pm 37$
9 liści	1,2	7,7	7 liści 3 razy	5,25	4	$\pm 51$
16 liści	2,4	15,36	9 liści 3 razy	6,75	5,06	$\pm 33$

Tabela 6

Ilość powiększonego Mo w liściach *N. tabacum* var. *Xanthi*  
Liście powyżej spryskanych (22 V-29 V Uppsala)<sup>a</sup>

Stadium rozwoju	Mo ( $\mu\text{g}$ )							
	8 liść		9 liść		10 liść		11 liść	
	kontrola	powiększona ilość	kontrola	powiększona ilość	kontrola	powiększona ilość	kontrola	powiększona ilość
3 dni po spryskaniu								
9-10	0,9	+0,26	0,57	+0,84	0,22	0,48	—	—
7 dni po spryskaniu								
9-11	1,02	+0,25	0,89	+0,6	0,63	+0,4	0,22	+0,14

<sup>a</sup> 7 liści, 3 razy.

ny dolistnie do rośliny Mo zachowuje zdolność translokacji, jeśli przez potarcie liścia dostanie się do komórek rośliny kontrolnej. Zastosowano metodę przeszczepów stosowaną przy zakażaniu siewek tytoniu chorobami wirusowymi. W moździerzach porcelanowych rozcierano liście z naniesionym 4 dni wcześniej molibdenianem i osobno powyżej położone liście górne. Pocierano 2 i 3 liść siewek w stadium 4 liści i 3 i 4 liść w stadium 5 liści odm. *Xanthi*.

Tabele 7 i 8 przedstawiają impulsy na minutę poszczególnych liści, wierzchołków i korzeni 48, 72 i 96 godzin po dokonanych przeszczepie. Na

Tabela 7

Doświadczenie I (średnie z dwóch powtórzeń)<sup>a</sup>  
Siewki odm. *Xanthi* w stadium 4 liści, 2 i 3 liść pocierany sokiem

Obiekt	Przeszczep z liści			
	pocieranych		górných	
	impulsy na 1 minutę	%	impulsy na 1 minutę	%
1 liść	0	—	0	—
2 i 3 liść skażony	97	100	400	100
4 i 5 liść	0	—	0	—
Łodyga	0	—	0	—
Korzenie	0	—	0	—
Naniesiono	97	100	400	100
Na liściach skażonych	97		400	
Rozprowadzono po roślinie	0	—	0	—

<sup>a</sup> Zbiór po 72 godzinach.

Tabela 8

## Doświadczenie II

Siewki odm. Xanthi w stadium 5 liści, 3 i 4 liść pocierany sokiem

Obiekt	Przeszczep z liści			
	pocieranych		górných	
	impulsy na 1 minutę	%	impulsy na 1 minutę	%
Zbiór po 48 godzinach				
1 i 2 liść	0	—	0	—
3 i 4 liść skażony	24 200	99,3	10 400	100,0
Wierzchołek	0	—	0	—
Korzenie	160	0,7	0	—
Naniesiono	24 360	100,0	10 400	100,0
Na liściach skażonych	24 200		10 400	
Rozprowadzono po roślinie		0,7		0
Zbiór po 96 godzinach				
1 i 2 liść	0	—	160	1,7
3 i 4 liść skażony	33 900	99,5	9 760	98,7
Wierzchołek	160	—	0	—
Korzenie	0	—	0	—
Naniesiono	34 060	100,0	9 920	100,0
Na liściach skażonych	33 900		9 760	
Rozprowadzono po roślinie		0,5		1,7

8 doświadczeń zaledwie w 3 przypadkach stwierdzono w pojedynczych, niepocieranych narządach bardzo słabe impulsy, wskazujące na śladowe ilości Mo, mieszczące się w granicach błędu doświadczalnego. Stwierdzono tym samym, że molibden 4 dni po wprowadzeniu do rośliny, przeniesiony następnie za pomocą skoku do liścia młodej rośliny nieskażonej, jest w niej unieruchomiony i nie przenosi się do innych narządów.

BADANIA WŁOSKÓW LIŚCI TYTONIU  
PRZY ZASTOSOWANIU UV MIKROSPEKTROFOTOMETRII

Dzięki pobytowi w Instytucie Patologii Roślin w Uppsali i ofiarnej pomocy prof. H. Zecha mogłam w maju i czerwcu 1973 r. przeprowadzić wskutek zastosowania UV mikrospektrofotometru z lustrzaną optyką badanie włosków liści tytoniu pochodzących z wykonanych w Uppsali doświadczeń.

H. Zech był pierwszy, który zastosował do badań cytologicznych komórek roślinnych zarazonych wirusem TMV UV mikrospektrofotometr



[30, 32] wprowadzony do cytologii przez Caspersona [5]. W klasycznych badaniach wykazał on możliwość określenia *in situ* w rozmaitych miejscach w komórkach, zarażonych wirusem, obecność kwasu nukleinowego, powodującego słabszą lub silniejszą absorpcję przy 260 nm. Na podstawie obliczonego stosunku 260/280 ustalił w komórce charakter substancji dających w UV-mikroskopie zjawisko absorpcji. Stosunek ten dla krystalicznych agregatów TMV wynosił 1,1 [31].

Wyniki badań UV-mikroskopie były przeprowadzone w maju i w czerwcu 1973 r. na odciętych brzeźnych włoskach liści tytoniu, w miejscach gdzie nagromadzonych było najwięcej chlorotycznych plamek. Kontrolą były włoski odcięte z odpowiednich liści roślin niespryskanych. Odcinki z włoskami były utrwalone metodą Carnoy. Oglądano i fotografowano w 260 nm poszczególne komórki włosków, ustalając w cytoplazmie miejsca silniejszej i słabszej ekstynkcji. W wybranych miejscach cytoplazmy i w jądrze w wyniku dokonanych pomiarów ustalono stosunek 260/280.

W komórkach włosków liści kontrolnych *N. tabacum* var. Samsun (stadium 10 liści) stosunek absorpcji 260/280 w cytoplazmie wahał się od 0,67 do 0,86 w jądrze od 0,93 do 1,03 (tab. 9, rys. 6). Komórki włosków liści *N. tabacum* var. Samsun w stadium 8 i 11 liści, spryskane molibdenianem amonu (0,0005 g/l Mo) + (C+D), były poddane badaniom mikroskopowym w świetle UV w dwóch doświadczeniach (tab. 9).

Materiał z doświadczenia I był pobrany 8 dni po pierwszym spryskaniu. W komórkach włosków liści trzecich powyżej liści spryskanych wykazujących najwięcej plamek, w cytoplazmie były wyraźnie widoczne przy 260 nm gruzełkowate skupienia podobnie ciemne jak komórkowe jądro (rys. 7). Pomiarzy zarówno w przejaśnionych miejscach, jaki i z ciemnymi miejscami cytoplazmy dały stosunek 260/280, jak w normalnym jądrze komórkowym 1,03 i 1,05. W jądrze tych komórek stosunek 260/280 był wyższy niż w kontroli i wynosił 1,15 (tab. 9).

Następne pomiary wykonane na tych samych roślinach i liściach w 11 dni po pierwszym opryskiwaniu wykazały te same zmiany w jądrze komórkowym i w ciemnych miejscach w cytoplazmie. Tego samego dnia zbadane w UV włoski spryskanych liści bez objawów wykazały identyczne zmiany w cytoplazmie i jądrze komórkowym, jak objawowe liście górne. Czternastego dnia po pierwszym spryskaniu stosunek 260/280 w jądrze pozostał tak samo wysoki, w cytoplazmie natomiast zbliżał się do kontroli.

Włoski liści tytoniu badane 24 dni po wprowadzeniu Mo, z zanikającymi chlorotycznymi plamkami, w badaniach w świetle UV nie różniły się już od kontroli.

Najciekawsze wyniki dały badania w UV włosków *N. tabacum* var.

Tabela 9

*N. tabacum* var. Samsun — stadium 10 liści — kontrola

Liczba pomiarów	Cytoplazma			Jądro		
	E tot 260	E tot 280	260/280	E tot 260	E tot 280	260/280
3	15,1	22,7	0,67	87,1	84,0	1,03
2	18,0	24,7	0,70	47,0	50,2	0,93
1	17,0	19,5	0,86	61,5	61,5	1,00
<i>N. tabacum</i> var. Samsun opryskany molibdenianem amonu + (C + D)						
Doświadczenie I						
8 dni po pierwszym spryskaniu, trzeci liść powyżej spryskanych						
8	21,2	20,2	1,05	80,58	69,96	1,15
8	46,2	44,6	1,04	80,58	69,96	1,15
Doświadczenie II						
11 dni po pierwszym spryskaniu, trzeci liść powyżej spryskanych						
7	14,4	17,2	0,83	71,9	60,6	1,18
7	33,5	32,2	1,04	71,9	60,6	1,18
Ostatni liść spryskany						
1	29,0	28,0	1,03	58,5	54,5	1,17
1	12,0	12,0	1,00	56,0	46,0	1,20
<i>N. tabacum</i> var. Xanthi opryskany molibdenianem amonu + (C + D)						
7 dni po pierwszym spryskaniu, drugi liść powyżej spryskanych						
1	40,0	32,0	1,25	68,0	58,0	1,17
1	19,5	23,0	0,82	55,0	61,5	0,81

Samsun, spryskanych dodatkowo enzymem oksydazą ksantynową. Trzeciego dnia po pierwszym opryskaniu molibdenianem amonu, a na drugi po opryskiwaniu enzymem poddano kolejnym badaniom włoski ostatniego liścia spryskanego, oraz pierwszego i trzeciego powyżej spryskanych (tab. 10). Badania włosków ostatniego liścia spryskanego wykazały, że w 2 włoskach (na 6) był zmieniony stosunek  $260/280 = 1,09$ , jądro nie różniło się od kontroli, pierwszy liść powyżej spryskanych w obrazie mikroskopowym w świetle 260 nm dał największe zmiany z dotychczas opisanych. Na rysunku 8 zarysowują się pasemka cytoplazmatyczne i wokół rozmieszczone w całej komórce widoczne nieregularne skupienia silnie absorbujące światło. Dokonane pomiary wykazały w cytoplazmie stosunek  $260/280$  od 1,08 do 1,38, w jądrze od 1,30 do 1,40. Wskazuje to na bardzo znacznie zwiększony udział kwasu nukleinowego zarówno w cy-

Tabela 10

*N. tabacum* var. Samsun 24 godziny po dodatkowym spryskaniu Xanthine oxidase i 3 dni po pierwszym spryskaniu Mo + (C+D)  
Ostatni liść spryskany

Liczba pomiarów	Cytoplazma			Jądro		
	E tot 260	E tot 280	260/280	E tot 260	E tot 280	260/280
2	23,5	21,5	1,09	82,0	77,5	1,05
2	23,5	30,0	0,78	57,5	57,5	1,00
2	12,7	25,2	0,54	52,0	52,0	1,00
Pierwszy liść powyżej spryskanych						
1	38,0	35,0	1,08	48,0	34,0	1,40
1	25,0	18,0	1,38	56,0	43,0	1,30
1	32,0	26,0	1,23			
Trzeci liść powyżej spryskanych						
2	16,5	16,5	1,00	55,5	54,0	1,027
2	17,2	17,7	0,97	55,0	48,0	1,14

toplazmie, jak i w jądrze. Trzeci liść powyżej spryskanych wykazał na trzeci dzień po opryskiwaniu mniejsze zmiany.

#### DYSKUSJA

Lokalne chlorozy i nekrozy zjawiające się na liściach młodych roślin tytoniu poddawanych przez określony czas działaniu molibdenianu amonu w wodnych kulturach wykazywały wiele powtarzających się regularności. Nie stwierdzono w żadnym wypadku zależności między ilością wprowadzonego molibdenu, a nasileniem plamek chlorotycznych na rozwijających się liściach. 50 ppm Mo w pożywce było granicznym rozcieńczeniem wywołującym opisane objawy, przy stężeniu 5 ppm plamki zjawiały się wyjątkowo. Przy bardzo dużych ilościach 0,5 g Mo na 1 l pożywki lub wody często zwiędnięte liście siewek używane do przeszczepów dawały objawy o tym samym nasileniu co przeszczepy ze stężeń najniższych. Czas pojawiania się plamek był we wszystkich doświadczeniach przy jednakowych warunkach podobny.

Zarówno w doświadczeniach z kulturami wodnymi, jak i przy opryskiwaniu i reinokulacji objawy w postaci chlorotycznych plamek i „ubytków” blaszek liściowych występowały na liściach rozwijających się po odcięciu dopływu Mo do rośliny, a w wypadku reinokulacji powyżej liści pocieranych.

Przeprowadzone analizy chemiczne zawartości Mo w siewkach *N. rustica* z kultur wodnych z dużą zawartością pobranego Mo, wykazały słabe przenoszenie się molibdenu z liści dolnych do rozwijających się po odcięciu dopływu molibdenu liści górnych na których zjawyły się symptomy. Tym samym opisane plamki chlorotyczne nie mogły być spowodowane bezpośrednim toksycznym działaniem wprowadzonego molibdenu.

W toku przeprowadzonych doświadczeń ustalono bodźce, które zarówno przyspieszają pojawianie się opisanych przez nas symptomów jak też wpływają na ich nasilenie. Bodźce te wiążą się z procesami enzymatycznymi zachodzącymi w komórce [3]. Spośród pięciu enzymów zawierających molibden dwa są podstawowymi dla procesów metabolicznych u roślin i zwierząt: reduktaza azotanowa i oksydaza ksantynowa. Stwierdzona w naszych doświadczeniach rola azotanów w reakcji roślin na molibden oraz przyspieszenie pojawiania się opisanych zjawisk przez dodanie czynników redukujących molibdenian amonu, sprzyjających prawdopodobnie przejściu Mo (VI) do Mo (IV), obecnego w reduktazie azotanowej, wskazują na prawdopodobny udział tego enzymu w opisanych zjawiskach [12].

Stymulujące działanie światła w czasie długiego dnia na reakcję rośliny na molibden, przejawiające się wzmożoną syntezą RNA jest również dowodem na wzmożoną w pewnych warunkach aktywność całego splotu enzymatycznych reakcji pod wpływem Mo. Wykazanie, że dostarczenie roślinie, obok wymienionych bodźców, oksydazy ksantynowej w oprysku, wywołuje objawy tam, gdzie one bez dodania tego czynnika nie zaszły, jest dowodem możliwości stymulowania przez oksydazę ksantynową opisanych zjawisk.

Wynikiem (prawdopodobnie) procesów enzymatycznych jest wykrycie za pomocą promieni UV zmian jakie zachodzą równocześnie w jądrze i cytoplazmie komórek w badanych przez nas liściach. Odnaleziona w komórkach badanych liści substancja, wykazująca silną ekstynkcję w świetle 260 nm i stwierdzony stosunek 260/280 przewyższający 1 jest dowodem obecności w plazmie obok substancji białkowych, kwasu nukleinowego w większej ilości. Występujące zmiany w jądrze, wskazujące na większy niż normalnie udział w tej organelli kwasów nukleinowych, wydaje się wskazywać na dokonującą się w komórkach syntezę nie istniejącego uprzednio w cytoplazmie RNA, który ma zdolność translokacji do wyżej położonych liści.

Badania przeprowadzone za pomocą znakowanego  $Mo^{99}$  wykazały, że wprowadzony w małych ilościach za pomocą opryskiwania liści molibden, rozchodzi się w krótkim czasie w około 50% po całej roślinie, wywołując charakterystyczne objawy i opisane zmiany wewnątrzkomórkowe. Jeżeli jednak po paru dniach z wyciśniętego soku z tych roślin, molibden zo-

stał przez potarcie wprowadzony do liści siewek tytoni kontrolnych, nie wykazywał on zdolności translokacji. Nie mniej na liściach nie pocieranych, pozbawionych dodatkowego Mo zjawiały się charakterystyczne objawy w postaci plamek. Stąd można wnosić, że opisane zmiany zaszły w cytoplazmie reprodukują się. W doświadczeniach naszych zmiany te ulegały w okresie około 3 tygodni zanikowi. Reinokulację udało się przeprowadzić najwyższej w kolejnych 3 pasażach.

Wywołanie tak głębokich zaburzeń wewnątrzkomórkowych może znaleźć następujące (przypuszczalne) wytłumaczenie. Gromadzący się w komórkach czynnik (mutagenny azotyn), będący pośrednim produktem działania reduktazy azotanowej wywiera działanie na puryny kwasów nukleinowych [28]. Być może uaktywnione inne enzymy zbliżone u roślin do oksydazy ksantynowej biorą udział w dalszym procesie prowadzącym do opisanych zaburzeń w składzie cytoplazmy.

*Autorka składa podziękowanie dyrekcji Laboratorium Przemysłu Tytoniowego w Czyżynach (Kraków), a w szczególności dr Z. Jankowskiemu i dr Z. Gajosowi za możliwość korzystania ze szklarni i laboratorium oraz za pomoc w przeprowadzeniu doświadczeń, dr Dominiczowi za przeprowadzenie doświadczeń ze znakowanym  $Mo^{99}$ , a mgr M. Przyłuckiej i mgr J. Bławiczak za doskonałą pomoc techniczną.*

#### LITERATURA

1. Agarwala S. C., Hewitt E. J.: J. Hort. Sci., 29, 278-290.
2. Borys S., Childers F.: 1961, The role of molybdenum in plants and soils. Horticultural Depart. Rutgers University USA.
3. Bray R. C., Swann J. C.: 1972, Structure and bonding 11, 107-144.
4. Candela M. I., Fischer E. G., Hewitt E. J.: 1957, Plant. Phys., 32, 280-288.
5. Caspersson T.: 1950, Cell Growth and Cell Functions, W. W. Norton and Co., New York.
6. Davies D. D., Giovaneli J., Rees T.: 1964, Plant Biochemistry. Bot. mon., 412.
7. Filner P.: 1966, Biochimica et Biophysica Acta 118, 299-310.
8. Hewitt E. J.: 1949, Congr. Biochem., Abst. of Communs, 1st Congr., Cambridge, England, 486-487.
9. Hewitt E. J.: 1952, Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition H. K. Lewis Co. Ltd, London.
10. Hewitt E. J.: 1953, J. Expt. Botany 4, 59-64.
11. Hewitt E. J.: 1956, Soil Sci. 81, 159-171.
12. Hewitt E. J., Afridi M. M. R. K.: 1959 Nature 183, 57-58, N<sup>o</sup> 4653.
13. Hewitt E. J., Agarwala S. C.: 1951, Nature 167; 733.
14. Hewitt E. J.: Agarwala S. C.: 1952, Nature 169 545-546.
15. Hewitt E. J., McCready C. C.: 1956, J. Hort. Sci. 31 284-290.

16. Holdgate D. P., Goodwin T. W.: 1965, *Phytochemistry*, 831-843.
17. Hunter J. G., Vergnano: 1953, *Ann. Appl. Biol.* 40, 761-777.
18. Kozłowska A.: 1970, *Acta Biol. Crac. Vol. XIII.* 65-77.
19. Kozłowska A.: 1971, *Acta Biol. Crac. Vol. XIV.* 111-127.
20. Mulder E. G., Boxma R., Van Veen W. L.: 1959, *Plant and Soil* 10 335-355.
21. Pozsár B. I.: 1965, *Acta Agr. Hung.* XIV, 301-308.
22. Ross H.: 1968, *European Potato Journ.* 11, 281-286.
23. Scharrer K., Eberhardt W.: 1956, *Zeit für Pflanz. Düngung Bodenk.* 72 (117), 115-127.
24. Spencer D., Wood J. G.: 1954, *Australian J. Biol. Sci.* 7, 425-434.
25. Steinberg R. A.: 1953, *Plant Phys.* 28, 319-322.
26. Steinberg R. A., Jeffrey R. N.: 1956, *Plant Phys.* 31, 377-382.
27. Stiefel E. I.: 1973, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, Vol. 70. 988-992.
28. Tang P. S., Wu H. Y.: 1957, *Nature* 1355. 179, 1355-1356.
29. Warrington K.: 1951, *Ann. Appl. Biol.* 38, 624-641.
30. Zech H.: 1952, *Planta* 40, 461-514.
31. Zech H.: 1961, *Zeit für Naturforsch.* 16, 520-538.
32. Zech H., Vogt-Köhne L.: 1955, *Naturwissenschaften* 42, 337-339.

Анеля Козловска

## ВЛИЯНИЕ МОЛИБДЕНА НА ВИРОЗОПОДОБНЫЕ СИМПТОМЫ НА РАСТЕНИЯХ И ТРАНСФОРМАЦИИ RNA В ЛИСТЬЯХ ТАБАКА

### Резюме

В труде описываются симптомы появляющиеся на сеянцах табака под влиянием повышенных доз молибдена с одновременным анализом происходящих в клетках изменений (с помощью микроспектрометра).

Местные хлорозы и некрозы появляющиеся на листьях молодых растений табака подвергаемых на протяжении определенного времени действию молибдата аммония в водяных культурах, показывали много повторяющихся регулярностей. Ни в одном случае не установлено соотношения между количеством введенного молибдена и интенсивностью появления хлоротических пятен на развивающихся листьях. Содержание 50 ppm Мо в питательной среде являлось предельным разбавлением вызывающим описанные в труде симптомы, а при концентрации 5 ppm пятна появлялись лишь в исключительных случаях.

Как в водяных культурах так и после применения опрысков и реинокуляций, на развивающихся листьях появлялись симптомы в виде хлоротических пятен и „потери” площади листовых пластинок после прекращения притока Мо к растениям.

Химические анализы содержания Мо в сеянцах *Nicotiana rustica* из водяных культур с высоким содержанием усвоенного Мо показали слабое перемещение молибдена из нижних листьев после прекращения притока молибдена к развивающимся верхним листьям, на которых появлялись симптомы. Таким образом описанные хлоротические пятка не могли образовываться под непосредственным токсическим влиянием введенного молибдена.

Установлено, что факторы ускоряющие появление описанных пятен и сти-

мулирующие их интенсивность связаны с энзиматическими процессами происходящими в клетке.

Два среди пяти содержащих молибден энзимов, в частности нитратная редуктаза и ксантинная оксидаза, имеют основное значение для метаболизма у растений и животных. Установленная в труде роль нитратов в реагировании растений на молибден и ускорение появления вышеуказанных симптомов путем прибавки факторов восстанавливающих молибдат аммония, содействующих по всей вероятности переходу Mo(VI) в Mo(IV) содержащийся в нитратной редуктазе, указывают на возможность участия этого энзима в описанных в труде явлениях.

Стимулирующее действие света в период долгого дня на реагирование растений на молибден является также доказательством усиленной в определенных условиях активности всего комплекса энзиматических реакций под влиянием Mo.

Доставление растению ксантинной оксидазы вызывало указанные симптомы там, где они бы не появились без этого фактора.

Предположительно в результате энзиматических процессов были выявлены с помощью ультрафиолетового излучения изменения происходящие одновременно в ядре и цитоплазме клеток исследуемых листьев. Выявленное в клетках исследуемых листьев вещество отличающееся сильной экстинкцией в свете 260 nm и установленное соотношение 260/280 превышающее 1, является доказательством наличия в плазме, наряду с протеинными веществами, значительных количеств нуклеиновой кислоты. Происходящие в ядре изменения, свидетельствующие о высшем чем нормально участии в данной органелле нуклеиновых кислот, принуждают, как кажется, уделять больше внимания происходящему в клетках синтезу не содержащейся прежде в цитоплазме RNA, характеризующейся способностью к перемещению в расположенные выше листья.

Установлено, что вводимый в небольших количествах молибден распространяется в течение юртого времени в около 50% по всему растению, вызывая характерные симптомы и упомянутые выше внутриклеточные изменения. Если, однако, через несколько дней молибден из выжатого из этих растений сока ввести в листья сеянцев, то он потеряет свою способность к перемещению. Тем не менее, на листьях в которые Mo в этом виде не вводился, т.е. лишенных дополнительного Mo, появлялись симптомы в виде пятен. Таким образом можно заключать, что указанные происходящие в цитоплазме изменения подвергаются репродукции. В наших опытах эти изменения исчезали через около 3 недель.

Упомянутые существенные внутриклеточные нарушения можно, как кажется, объяснять следующим образом: накапливающийся в клетках мутагенный фактор — интрин, являющийся косвенным продуктом действия нитратной редуктазы, оказывает влияние на пурины нуклеиновых кислот. Возможно, что другие активизованные энзимы, приближенные в растениях к ксантинной оксидазе, принимают активное участие в процессе ведущем к описанным в труде нарушениям в составе цитоплазмы.

*Aniela Kozłowska*

MOLYBDENUM EFFECT ON VIROSE-LIKE SYMPTOMS  
ON PLANTS AND RNA TRANSFORMATIONS IN TOBACCO LEAVES

S u m m a r y

In the work symptoms occurring on tobacco seedlings under the effect of increased molybdenum doses with simultaneous analysis of changes occurring in cells (determined by means of the microspectrometry) are described.

Local chloroses and necroses occurring on young tobacco leaves subject for a definite time to the ammonium molybdate action in water cultures, showed many repeating regularities. In no case any relationship between the amount of molybdenum introduced and the occurrence intensity of chlorotic spots on developing leaves has been found. The amount of 50 ppm Mo in the nutrient medium was a boundary dilution causing symptoms described in the work, while at the concentration of 5 ppm the spots occurred only in sporadic cases.

Both in water cultures and after application of sprayings and reinoculations symptoms in the form of chlorotic spots and „losses” of leaf blade area occurred on developing leaves after discontinuation of the Mo influx to plant.

Chemical analyses of the Mo content in *Nicotiana rustica* seedlings from water cultures with a high content of Mo taken up showed a weak transportation of molybdenum from lower leaves after the Mo influx discontinuation into developing top leaves on which the symptoms appeared. Thus the chlorotic spots described could not be caused by a direct toxic action of the introduced molybdenum.

It has been found that the factors accelerating appearance of the above spots and stimulating their occurrence intensity are connected with enzymatic processes in cell.

Two from among five enzymes containing molybdenum, viz. nitrate reductase and xanthine oxidase, are of a fundamental importance for the metabolism in plants and animals. The role of nitrates mentioned in the work in response of plants to molybdenum and in acceleration of occurrence of the symptoms mentioned by an addition of factors reducing ammonium molybdate, favouring probably the transformation of Mo (VI) into Mo (IV), occurring in nitrate reductase, suggest the probability of participation of this enzyme in the symptoms described in the work.

Stimulating action of light during the long day on the response of plant to molybdenum is also a proof of intensified activity of the whole complex, of enzymatic reactions in definite conditions under the Mo effect.

The supply of plant with xanthine oxidase caused the occurrence of the symptoms mentioned where they would not appear without supply of this compound.

The consequence of probably enzymatic processes was detecting by means of UV rays the changes occurring simultaneously in the nucleus and cytoplasm of cells in leaves tested. The substance detected in cells of these leaves showing a strong extinction in the light of 260 nm and the found ratio of 260/280 exceeding 1, proves the existence in the plasma, beside proteinic substances, of a considerable amount of nucleic acid. The changes occurring in the nucleus indicating higher than normal percentage of nucleic acids in this organelle, seem to draw attention to the synthesis of RNA previously absent in cytoplasm, which shows the ability of translocation to upper leaves.



It has been found that molybdenum introduced in little amounts diffuses within a short time in about 50% over the whole plant, causing characteristic symptoms and the mentioned intracellular changes. When, however, from the juice pressed out of these plants molybdenum will be introduced after several days into leaves of seedlings, it will lose its translocation ability. Nevertheless, on the leaves into which Mo in the above form was not introduced, and consequently deprived of the additional Mo, symptoms in the form of spots appeared. From it one could conclude that the mentioned changes occurring in cytoplasm can reproduce themselves. In our experiments these changes disappeared after about 3 weeks.

The above significant intracellular disturbances can be explained probably as follows: the mutagenic factor-nitrite, accumulating in cells, being an indirect product of the nitrate reductase action, affects purines of nucleic acids. Maybe other enzymes activated approximating xanthone oxidase in plants, would take part in further process leading to described disturbances in the cytoplasm composition.