Oddychanie i wpływ inhibitorów na ten proces w liściach fasoli zdrowej i mozaikowatej

The respiration and effects of inhibitors on that process in the healthy and virus mosaic bean leaves

MARIAN GUBAŃSKI

Oddychanie roślin zawirusowanych było przedmiotem licznych badań (K o z ł o w s k a 1960, B a w d e n 1950). Stosunkowo najlepiej proces ten zanalizowano w roślinach z rodziny *Solanaceae*, słabiej w innych.

Z istniejących danych w literaturze można wnosić, że infekcji wirusowej często towarzyszy wzmożone oddychanie liści.

Z doświadczeń O w e n a (1956) oraz danych cytowanych przez B a w d e n a wynika jednak, że proces ten zależy od stadium rozwojowego liścia, oświetlenia, wieku itd. Tak np. już po 1 godz od zakażenia tytoniu stwierdza się wzmożenie oddychania. Zmian takich nie ma, nawet w okresie późniejszym, w liściach zakażonych wtórnie (starych); natomiast w młodych, powstałych po zakażeniu rośliny, ma miejsce zahamowanie tego procesu.

Nowsze badania wykonane na *Nicotiana glutinosa* zakażonej WMT wskazują, że oddychanie ulega wzmożeniu dopiero po ukazaniu się symptomów chorobowych (Y a m a g u c h i i H i r a i 1959). Podobne dane uzyskali i inni badacze (O w e n 1957). Z przytoczonych przykładów wynika, że oddychanie w roślinach zawirusowanych zależy od wielu czynników, a znaczenie fizjologiczne aktywacji tego procesu nie jest dostatecznie wyjaśnione i wymaga dalszych badań.

Niżej przedstawione są wyniki dotyczące oddychania oraz wrażliwości tego procesu na inhibitory oddechowe w liściach fasoli zdrowej i mozaikowatej (zakażonej wirusem mozaiki fasoli).

MATERIAL I METODY BADAŃ

Rośliny doświadczalne hodowane w ogrodzie. Liście roślin zawirusowanych posiadały dobrze uformowaną mozaikę, charakteryzującą się

jasno- i ciemnozielonymi plamami. Rośliny kontrolne nie wykazywały żadnych objawów chorobowych.

Pomiary oddychania przeprowadzano w aparacie Warburga w temp. 28 °C.

Z poszczególnych liści wycinano korkoborem krążki o ϕ 1 cm i wkładano do wilgotnych naczynek Warburga (6 krążków do 1 naczynka). Każdy krążek pochodził z innego liścia.

Inhibitory przygotowywano w 1/15 M buforze fosforowanym o pH 4,5 (Aksenowa 1961). Związki te rozpuszczano najpierw w małej ilości płynu i doprowadzano do odpowiedniego pH ługiem sodowym, a następnie uzupełniano buforem.

Inhibitory wprowadzano do tkanek na drodze infiltracji, którą przeprowadzano w eksykatorze próżniowym, przy użyciu pompy wodnej w czasie 20 min. Po godzinie od tego zabiegu rozpoczynano pomiar oddychania.

Stężenie badanych inhibitorów było następujące:

NaF	1/20 M,
kw. malonowy	1/20 M,
KCN	1/10 ⁻³ M,
KCN	1 · 10 ⁻³ M,
NaN ₃	1 · 10 ⁻³ M,
2,4-dwunitrofenol	2,2 · 10 ⁻³ M.

OMÓWIENIE DOŚWIADCZEŃ

Oddychanie fasoli zdrowej i mozaikowatej przedstawione jest w tabeli 1. Z danych tych widać, że w zależności od sposobu przedstawienia wyników, oddychanie w liściach mozaikowatych fasoli jest większe, względnie nie podlega żadnym zmianom. Ilość tlenu przeliczona na suchą masę jest jednakowa w liściach chorych oraz zdrowych. W przeliczeniu na świeżą masę oraz na powierzchnię liści, oddychanie jest intensywniejsze w roślinach chorych.

T A B E L A 1

Pobieranie tlenu przez liście fasoli mozaikowatej

Liście	$\mu\text{l O}_2/10 \text{ mg}$ suchej masy	$\mu\text{l O}_2/100 \text{ mg}$ świeżej masy	$\mu\text{l O}_2/5 \text{ cm}$ powierzchni liści
Zdrowe	63,2 ± 0,25	96,3 ± 1,28	98,7 ± 1,2
Mozaikowate	63,0 ± 0,22	104,0 ± 0,2	109,1 ± 1,1

T A B E L A 2

Wpływ inhibitorów oddechowych na pobieranie tlenu przez liście zdrowe i zakażone wirusem mozaiki

Liść	Inhibitor (stężenie)	$\mu\text{l O}_2/5 \text{ cm}^2$ powierzchni		% hamowania
		kontrola	inhibitor	
Zdrowy	NaF	64,7 $\pm$ 1,3	17,3 $\pm$ 1,2	73
Mozaikowaty	1/20 M	70,0 $\pm$ 1,2	33,0 $\pm$ 1,1	53
Zdrowy	kwas malonowy	64,7 $\pm$ 1,1	39,9 $\pm$ 0,7	40
Mozaikowaty	1/20 M	70,2 $\pm$ 1,2	48,8 $\pm$ 1,3	30
Zdrowy	2,4-dwunitrofenol	68,0 $\pm$ 0,8	41,6 $\pm$ 1,0	39
Mozaikowaty	$2,2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$	81,6 $\pm$ 1,1	57,4 $\pm$ 1,4	29
Zdrowy	Na_3N	66,0 $\pm$ 0,9	41,6 $\pm$ 0,5	40
Mozaikowaty	0,001 M	63,4 $\pm$ 1,2	50,8 $\pm$ 1,0	20
Zdrowy	KCN	63,2 $\pm$ 0,7	44,0 $\pm$ 1,3	30
Mozaikowaty	0,001 M	70,0 $\pm$ 1,1	55,4 $\pm$ 1,5	20

W tabeli 2 przedstawiono oddychanie liści infiltrowanych inhibitorami. Wyniki podane są w odniesieniu do powierzchni tkanki.

Z danych tych widać, że wszystkie z badanych inhibitorów: fluorek sodu, kwas malonowy, 2,4-dwunitrofenol, cjanek potasu oraz azydek sodu, hamują, aczkolwiek w różnym stopniu, oddychanie liści zdrowych i mozaikowatych. Procent zahamowania jest większy w liściach kontrolnych niż zdrowych.

DYSKUSJA

Pod wpływem infekcji wirusowej zachodzi bardzo silna przebudowa metabolizmu gospodarza, w wyniku której syntezowany jest obcy roślinie zdrowej nukleoproteid. Proces ten odbywa się kosztem elementów budulcowych gospodarza przy udziale jego aparatu enzymatycznego.

O stopniu przebudowy metabolizmu świadczą częściowo objawy chorobowe, np. mozaiki i inne zniekształcenia. Bez względu jednak na ten stan rzeczy natężenie tak istotnego procesu jak oddychanie wykalkulowane na suchą masę w fasoli nie podlega zmianie. Stwierdzone wzmożenie oddychania w przeliczeniu na świeżą masę i na powierzchnię liści jest widocznie spowodowane innym uwodnieniem.

Aczkolwiek oddychanie jako całość nie podlega zmianie — to jednak zmienia się wrażliwość tego procesu na inhibitory. Interesujący jest fakt, że inhibitory cyklu Krebsa (kwas malonowy) oraz glikolizy

(NaF) w liściach chorych hamują pobieranie tlenu w mniejszym stopniu, niż w odpowiednich zdrowych. Z faktu tego można wysunąć przypuszczenie, że wymienione cykle oddechowe w roślinach zawirusowanych posiadają mniejszy udział niż w zdrowych. Przyczyną tego stanu rzeczy może być zwiększona aktywność apotomicznego rozpadu glukozy (Rubin i Ozierackaja 1959). Poza wymienionymi inhibitorami, stwierdzono również zmniejszoną wrażliwość tkanek fasoli mozaikowatej na KCN, NaN_3 oraz 2,4-dwunitrofenol. Dane te wskazują, że przebudowa cyklu oddechowego może dotyczyć również enzymów końcowego etapu utleniania. W dalszych badaniach stwierdzono, że związki te, w przeciwieństwie do NaF i kwasu malonowego, powodują — zmniejszanie się w roślinach mozaikowatych takich aminokwasów, jak: kwas glutaminowy, asparaginowy oraz alanina i częściowo kwas gamma aminomasłowy. Zmian takich nie zarejestrowano w liściach kontrolnych.

Wspomniane aminokwasy stanowią, jak wiadomo, rezerwową formę metabolitów oddechowych. Nie jest zatem wykluczone, że zmniejszona wrażliwość cyklu oddechowego liści mozaikowatych na inhibitory oraz ubytek pod ich wpływem pewnych wolnych aminokwasów — są ze sobą ściśle związane.

Przytoczone fakty świadczą o daleko idącej przebudowie metabolizmu rośliny zawirusowanej i mogą pozostawać w związku z symptomami chorobowymi.

W tym miejscu pragnę złożyć serdeczne podziękowanie prof. Yarwoodowi (Uniwersytet Berkeley) za uprzejme dostarczenie mi odpowiednich nasion oraz prof. W. Moycho za wskazówki w czasie wykonywania niniejszej pracy.

STRESZCZENIE

Autor badał oddychanie zdrowych i mozaikowatych liści fasoli (*Phaseolus vulgaris* v. Pinto). Pobieranie O_2 w przeliczeniu na powierzchnię oraz na świeżą masę jest intensywniejsze w liściach chorych; w przeliczeniu na masę suchą — nie podlega zmianie.

W liściach mozaikowatych wrażliwość cyklu oddechowego na inhibitory (NaF, KCN, NaN_3 , kwas malonowy, 2,4-dwunitrofenol) jest mniejsza niż w kontrolnych. Znaczenie fizjologiczne tych różnic jest przedmiotem dyskusji.

(Wpłynęło: 19.8.1961)

SUMMARY

The respiration of virus mosaic bean leaves calculated on fresh weight and surface was higher than that of healthy ones. No change in O_2 absorption was found after calculation the results on dry weight.

Several inhibitors of respiration, namely: KCN, NaF, 2,4-dinitrophenol, NaN_3 and malonic acid, decrease the O_2 absorption in the healthy bean leaves more than in mosaic ones. The physiological meaning of the results is being discussed.

LITERATURA

1. Aksenowa N. P., 1961, Wlinijanie dliny dnia na aktiwnost glikoliza i cikla trikarbonowych kislot, Fizjologia Rastienii 8:338.
2. Bawden F. C., 1950, Plant viruses and virus diseases, Waltham Mass., Chronica Botanica (s. 402).
3. Gubański M., 1961, Wpływ inhibitorów oddechowych na wolne aminokwasy krążków liściowych fasoli zdrowej i mozaikowatej (materiały przygotowywane do druku).
4. Kozłowska A., 1960, Wirusy roślinne (z książki: Wirusologia ogólna, red. E. Mikulaszek i W. T. Dobrzański, s. 451).
5. Owen P. C., 1956, The effect of infection with TMV on the respiration of tobacco leaves of varying ages in the period between inoculation and systemic infection, Ann. Appl. Biol. 44:227.
6. Owen P. C., 1957, Photosynthesis and respiration rates of leaves of *Nicotiana glutinosa* infected with TMV and *Nicotiana tabacum* infected with potato X virus, Ann. Appl. Biol. 45:327.
7. Rubin B. B. i Ozierckaja O. L., 1959, Ucsastije apotomiczeskowo Okislenija w dychanii rastienii, Uspiech Sow. Biol., 47:64.
8. Yamaguchi A. a. Hirai T., 1959, The effect of local infection with TMV on respiration in leaves of *Nicotiana glutinosa*, Phythopath., 49:447.