

تغيّرات البنية الدقيقة لخلايا اللحاء في نبات الطماطم/ البندورة

المصابة بفيروس تجعد القمة

فرقد عبد الرحيم الراوي¹ و رقيب عاكف العاني²

1- قسم البحوث الزراعية، مركز البحوث النووية، ص.ب 765 بغداد، العراق.

2- قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد/ أبو غريب - العراق.

الملخص

الراوي، فرقد عبد الرحيم، و رقيب عاكف العاني. 1991. تغيّرات البنية الدقيقة لخلايا اللحاء في نبات الطماطم/ البندورة المصابة بفيروس تجعد القمة. مجلة وقاية النبات العربية، 9 (1) 32-37.

ويمكن لهذه التغيرات الخلوية أن تساعد على كشف الاصابة بفيروس تجعد القمة كما يمكن أن تفسّر سبب ظهور الأعراض المرضية وقلّة غلة نباتات الطماطم/ البندورة المصابة بهذا الفيروس.

كلمات مفتاحية: بُنية دقيقة، طماطم/ بندورة، تجعد القمة، فيروس.

أظهر الفحص بالمجهر الالكتروني لمقاطع متناهية الرقة في العرق الوسطي وحامل الأوراق في نباتات الطماطم/ البندورة المصابة بمرض تجعد القمة الفيروسي حدوث تغيّرات مجهرية دقيقة واضحة في خلايا نسيج اللحاء. شملت هذه التغيرات على: زيادة كثافة السيتوبلازم، والبلزمة الكاذبة، واضطراب عضيات الخلية، وإفراط في تكوين بروتين اللحاء. ولم تلاحظ مثل هذه التغيرات في خلايا نباتات الطماطم/ البندورة السليمة.

تغيّرات في نوى خلايا نبات «اليوفوربيا» وتضخم النوية نتيجة الاصابة بفيروس موزايك اليوفوربيا (6).

أجريت هذه الدراسة لتحديد التغيّرات الخلوية التي تحصل في خلايا نباتات الطماطم/ البندورة المصابة بفيروس تجعد القمة كمحاولة للحصول على معلومات قد تساعد في تشخيص الاصابة بالفيروس ودراسة آلية التأثيرات المرضية في النبات العائل.

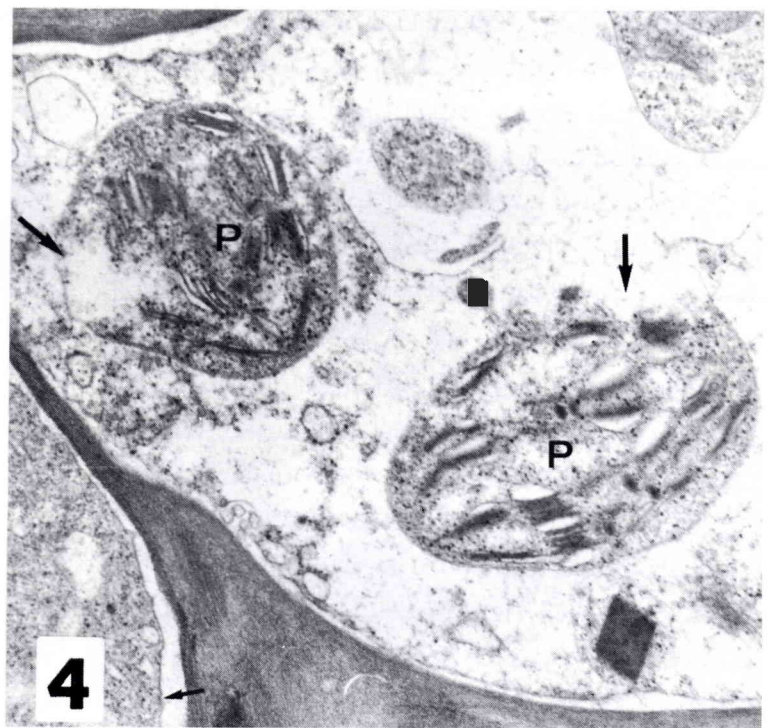
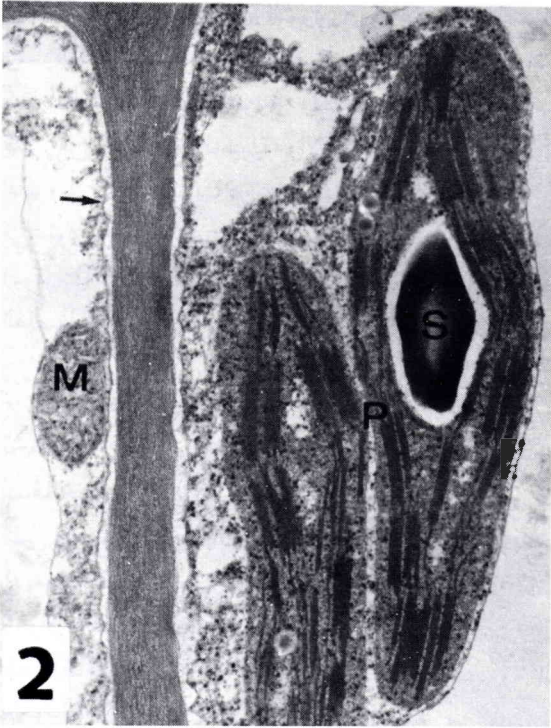
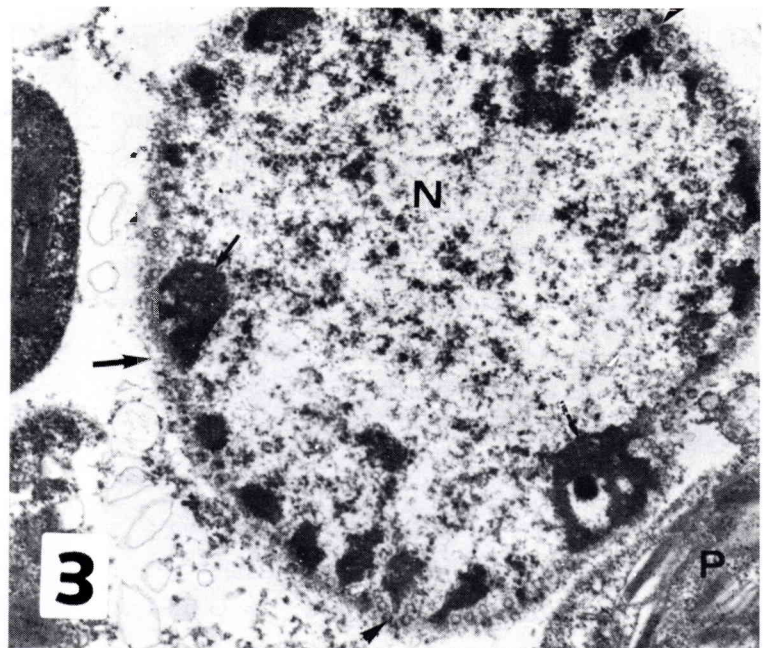
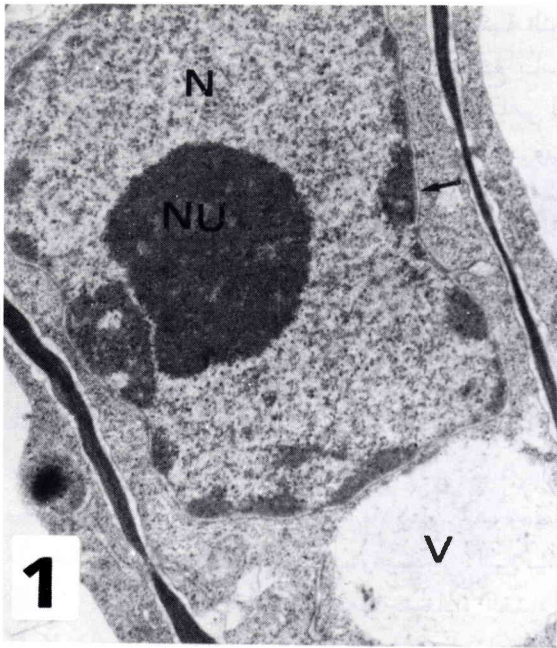
مواد وطرائق البحث

أخذت عينات من العرق الرئيسي وحامل الورقة لنباتات طماطم/ بندورة مصابة بفيروس تجعد القمة، كما جمعت عينات مماثلة من نباتات سليمة. قطعت العينات إلى قطع صغيرة (1 - 3) مم²، وتم تثبيتها بغمرها في 3% كلوتر الدهايد في محلول منظم فوسفاتي، بتركيز 0.025 مول، ودرجة حموضة 6.8، لمدة 12 - 24 ساعة، على درجة حرارة 4 م. غُسلت القطع بعد ذلك جيداً (6 - 8) مرات، وعلى مدى ساعتين بالمحلول المنظم نفسه، ثم تم غمرها في 2 رابع أوكسيد الأوزميوم لمدة ساعتين في المحلول المنظم ذاته وتحت ظروف المختبر. وتمت عملية سحب الماء من القطع، بعد غسلها جيداً بالمحلول المنظم، باستخدام تراكيز متدرجة من الأستيون (10 - 100%) ولمدة 20 - 30 دقيقة في كل مرحلة. ثم طمرت في مادة البلاستيك (11) ووضعت في فرن درجة حرارته 70 م لمدة 24 ساعة. قطعت العينات إلى مقاطع رقيقة سمكها 40 - 70 نانومتراً بواسطة مشراح دقيق مزود بنصل

المقدمة

يعدّ مرض تجعد القمة الفيروسي من الأمراض الهامة التي تصيب محصول الطماطم/ البندورة، والتي تحدث خسائر كبيرة في الغلة. الأمر الذي يقف عائقاً أمام زيادة المساحة المزروعة بهذا المحصول ذي الأهمية الكبيرة في استراتيجية الأمن الغذائي. سُخّص الفيروس لأول مرة في العراق عام 1987 رغم أن أعراضه المرضية كانت قد لوحظت منذ عام 1982. وقد تم في العراق تشخيص نوع جديد من النطاطات يمتلك المقدرة على نقل الفيروس ونشره في الحقل (1).

خضعت العلاقة بين كثير من الفيروسات والتغيرات الخلوية التي تحدثها لخلايا العائل لكثير من الدراسات. وأظهر الفحص بالمجهر الالكتروني النافذ لمقاطع رقيقة تم تحضيرها من العرق الرئيسي وحامل الأوراق لنباتات لوبياء مصابة بموزايك الفاصولياء الجنوبي تجمع كبير للبلورات في الأنسجة الوعائية (14). كما وجدت تجمعات كبيرة من بروتين اللحاء (P - Protein) في الأنابيب، والخلايا الغربالية، والخلايا البرانشيمية اللحاءية لأوراق نباتات تبغ مصابة بفيروس موزايك التبغ (3). كما سجلت تغيّرات ملحوظة وتحلل للجسيمات الصانعة الخضراء في خلايا الأنسجة المحيطة بالبقع المرضية التي يُحدثها فيروس تقزم الطماطم/ البندورة الشجيري (9)؛ وفي خلايا نبات الخس المصاب بفيروس اصفرار البنجر/ الشوندر الغربي (13). وكشّف الفحص بالمجهر الالكتروني عن



الصفائح وتحطم غلاف البلاستيدات (سهم كبير). يمثل السهم الصغير غشاء الخلية البلازمي المنسحب عن الجدار الخلوي.

1 و 2 = 13600 مرة، 3 و 4 = 18900 مرة

Figures 1 - 4: Electron micrographs of thin sections of tomato leaf midrib 1: Section in a healthy plant showing normal ultrastructure of the cell nucleus (N), nucleolus (Nu), nuclear envelope (Arrows) and vacuole (V). 2: Section in healthy plant showing normal ultrastructure of plastids (P), Strach (S), mitochondrion (M) and plasma membrane (arrow). 3: Section in curly top virus-infected plant showing degenerated nucleus (N) with condensed chromatin (small arrows), disintegrated nuclear envelope (large arrows). Arrow heads pointed at nuclear pores and P is a chloroplast. 4: altered chloroplasts (P) with disorganised lamellae and ruptured plastid envelope (large arrows). The small arrow points at plasma membrane retracted from the cell wall.

1 and 3 = 13600 X, 2 and 4 = 18900X

الأشكال 1 - 4: صور بالمجهر الإلكتروني لمقاطع في العرق الوسطي لنبات الطماطم / البندورة. مقطع في نبات سليم يوضح التركيب الطبيعي الدقيق لنواة الخلية (N) والنوية (Nu) والغلاف النووي (سهم) والفجوة الخلوية (V).

2: مقطع في نبات سليم يوضح التركيب الطبيعي الدقيق للبلاستيدات الخضراء (P) وحبيبات النشاء (S) بداخلها والمصورات الحيوية (M) وغشاء الخلية البلازمي (سهم).

3: مقطع في نبات مصاب بفيروس تجعد القمة يبين النواة المحورة (N) وتجمع الكروماتين فيها (سهم صغير) والغلاف النووي المنحل (أسهم كبيرة). يشير رأس الأسهم إلى الثقوب النووية والحرف P إلى بلاستيدة خضراء.

4: يوضح التحورات في البلاستيدات الخضراء (P) ويلاحظ عدم انتظام

ماسي . وحملت المقاطع على الأقراص الشبكية النحاسية الخاصة بقياس 300 مش. وتمت عملية الصبغ باستخدام أسيتات اليورانيل لمدة 15 دقيقة ثم بستر الرصاص لمدة 10 دقائق. وتم فحص المقاطع باستخدام مجهر الكتروني نافذ «فيليس 200» عند القوة 80 كيلوفولت.

النتائج والمناقشة

أظهر الفحص بالمجهر الإلكتروني لمقاطع رقيقة حضرت من العرق الرئيسي أو حامل الورقة لنباتات طماطم/ بندورة مصابة بفيروس تجعد القمة حصول تغيرات عديدة في خلايا أوعية اللحاء، شملت مناطق مختلفة من الخلية (شكل 1، 2). ولم تلاحظ مثل هذه التغيرات عند فحص مقاطع مماثلة مأخوذة من نباتات سليمة. وقد تأثرت النواة بالاصابة الفيروسية بصورة ملموسة، حيث حصل اضمحلال واضح في الغلاف النووي والتكثف للمادة الكروماتينية وتجمعها بمحاذاة الغشاء النووي (شكل 2). وتجدر الإشارة إلى أن الفيروس يتضاعف في النواة وبالتحديد بمحاذاة الغشاء النووي، وقد يكون التجمع الملاحظ للمادة الكروماتينية انعكاساً لتضاعف الفيروس في نواة الخلية. كما أن تمرق الغشاء النووي واضمحلاله قد ينتجان من توقف كثير من الأنشطة الحيوية والإنزيمية التي ترافق تضاعف الفيروس. وقد أشارت دراسات سابقة إلى حدوث تغيرات مماثلة في نوى خلايا نبات اليوفوريا المصاب بفيروس موزايك اليوفوريا الذي تنقله بالغات الذبابة البيضاء (6) وفي نوى نبات الفاصولياء المصاب بفيروس موزايك الفوصوليا الذهبي (7).

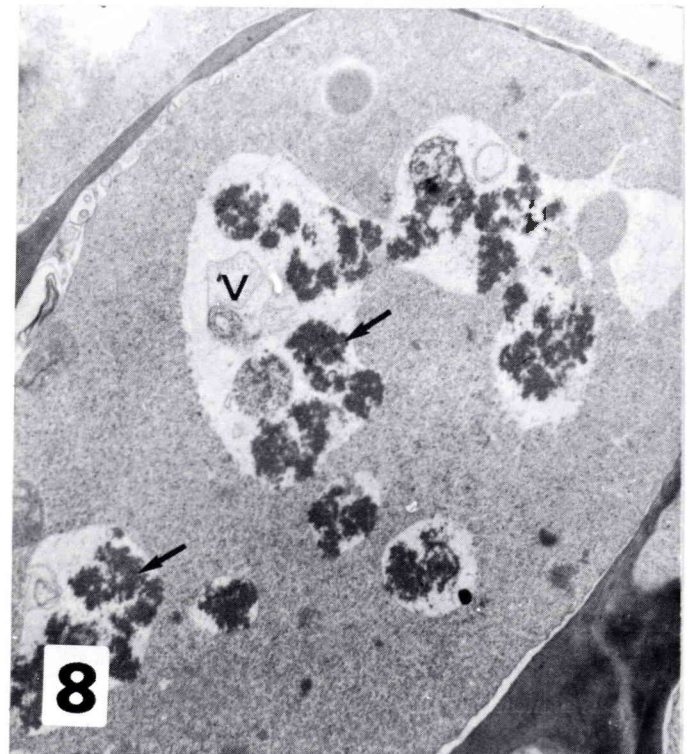
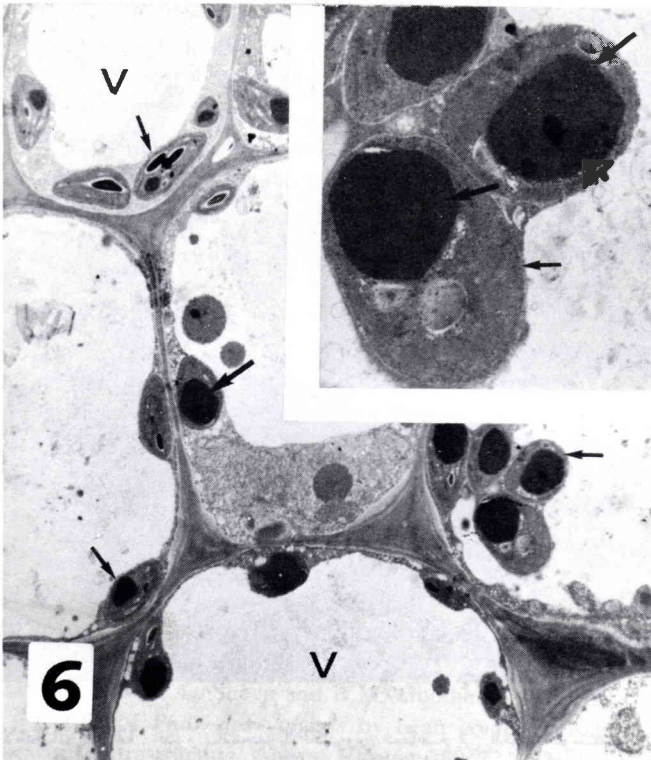
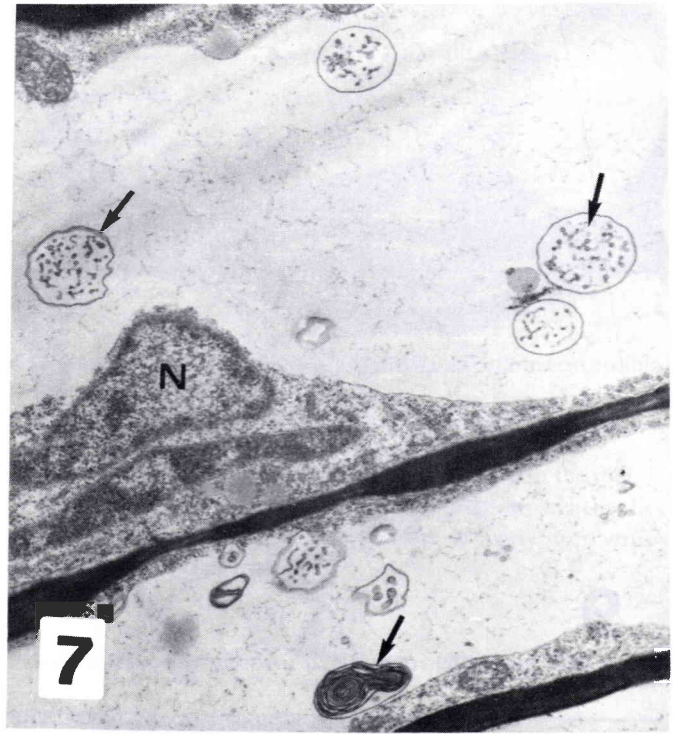
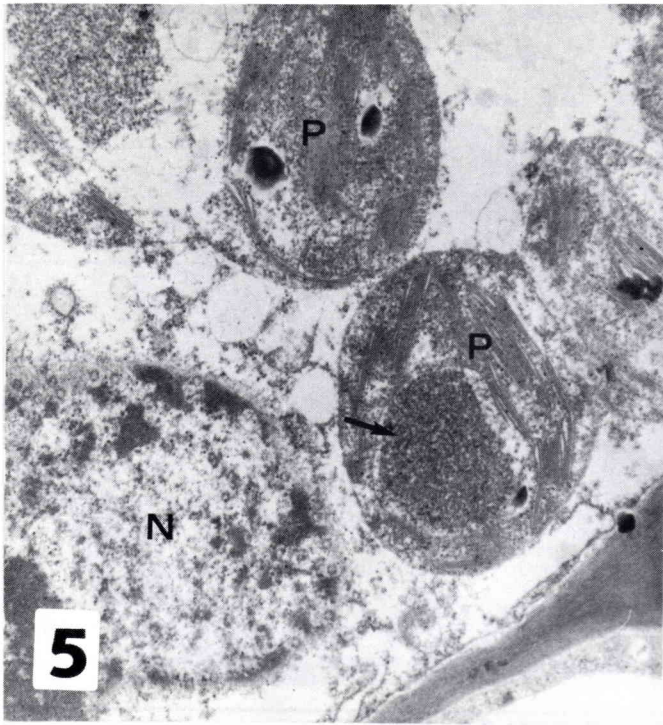
وأدب الاصابة بالفيروس إلى انتفاخ الجسيمات الصانعة الخضراء وتحطم غلافها الخارجي وتفكك أو عدم انتظام الصفائح الموجودة بداخلها (شكل 4)، الأمر الذي ينتج عنه نقص واضح في كمية المادة الخضراء/ الكلوروفيل، وانخفاض في عملية البناء الضوئي تؤدي إلى حالة الاصفرار التي تظهر على الأوراق القمية للنبات المصاب. وقد سبقت الإشارة إلى مثل هذه الظاهرة في خلايا نباتات الطماطم/ البندورة المعاملة بالأمونيا، وفي خلايا نباتات السبانخ التي تعاني من نقص المنغنيز (10). كما لوحظ انتفاخ في الصانعات الخضراء عند إيقاف عملية الفسفرة بواسطة الأمونيوم أو منع وصول الضوء إلى النباتات. وقد يكون الدور الذي يسهم به الفيروس في هذه الحالة هو إيقاف بعض الأنزيمات الضرورية لعملية البناء الضوئي أو تصنيع إنزيمات تحلل الكولورفيل المرتبط بالصانعات تؤدي إلى تحطم جدرها وفقدان محتوياتها وتعطيل دورها. والجدير ذكره أن 70% من بروتينات الورقة توجد في المادة الخضراء (10). كما لوحظ وجود أجسام كبيرة الحجم نسبياً داخل عدد كبير من البلاستيدات الخضراء (شكل 6) تكون في الحالة الاعتيادية في المنطقة التي تشغلها عادة حبات النشاء (شكل 2). وتسم الصانعات الحاوية على هذه الأجسام بعدم وضوح الصفائح أو

الغلاف الخارجي لها. وقد يمثل (الشكل 5) إحدى مراحل تكوّن هذه الأجسام في الصانعات الخضراء المتأثرة بالإصابة الفيروسية. وقد يعود انتفاخ الصانعات وتحطمها إلى المواد السامة التي تنتج من تحطم الفجوة الخلوية. اتسمت الفجوات الخلوية في خلايا النباتات المصابة بعدم وضوح معالم الغشاء الذي يحيط بها ويفصلها عن السيتوبلازم وبكثافة كترونية عالية لمحتواها (شكل 8) ولم تلاحظ مثل هذه المواد في التغيرات الخلوية للنباتات السليمة (شكل 1). وشملت التغيرات الخلوية في النباتات المصابة أيضاً الغشاء البلازمي. وتبين الأشكال (4، 10) انكماش هذا الغشاء وتكثف السيتوبلازما وتحولها إلى مظهر حبيبي نتيجة لزيادة كثافة الرايبوزومات. وقد يعزى تحوّر الغشاء البلازمي وانكماشه وزيادة كثافة السيتوبلازما إلى أن مرور الفيروس إلى داخل الخلية عبر الغشاء قد يؤدي إلى تحفيزها على تركيز محتوياتها كوسيلة دفاعية محتملة أمام الاصابة بالفيروس. ومن الطبيعي أن ترافق الاصابة الفيروسية مع تغير في نفاذية الغشاء البلازمي يؤدي إلى زيادة كثافة السيتوبلازما وتحولها إلى شكل حبيبي. وقد تسبب الاصابة الفيروسية تحطم الفجوة الخلوية واختلاط محتوياتها بالخلية. ونظراً لما تحويه الفجوة من مواد ضارة بالخلية تختلط مع مكونات الخلية وتغير من نفاذية الغشاء البلازمي بحيث يفقد الكثير من السوائل إلى الخارج وينكمش مؤدياً إلى حصول ما يسمى بالبلزمة الكاذبة (False Plasmolysis) وتؤدي بالتالي إلى تحطم الغشاء البلازمي (شكل 4، 5).

ويتشابه تأثر الغشاء البلازمي بالاصابة الفيروسية بالتأثير الذي يحصل له عند معاملة جذور نباتات الطماطم/ البندورة بالسم الفطري Victorin (5). كما سجلت حالات مماثلة عند معاملة الخلايا العملاقة في نباتات الطماطم/ البندورة المصابة بالديدان الثعبانية بمستخلصات فطرية (4)، وعند معاملة خلايا البنجر/ الشوندر السكري بالسم الفطري (12). إذ نتج عن جميع هذه المعاملات تحطم الغشاء البلازمي وموت الخلية. وشملت التغيرات تكوين الأغشية بصورة كبيرة في المناطق المختلفة من الخلية المصابة (شكل 6) ولم تلاحظ مثل هذه الحالة في خلايا النباتات السليمة. وتميزت الخلايا المصابة بالفيروس بوجود كميات كبيرة من بروتين اللحاء وخاصة في الأنابيب الغربالية وبدرجة أقل في الخلايا البرانشيمية (شكل 9).

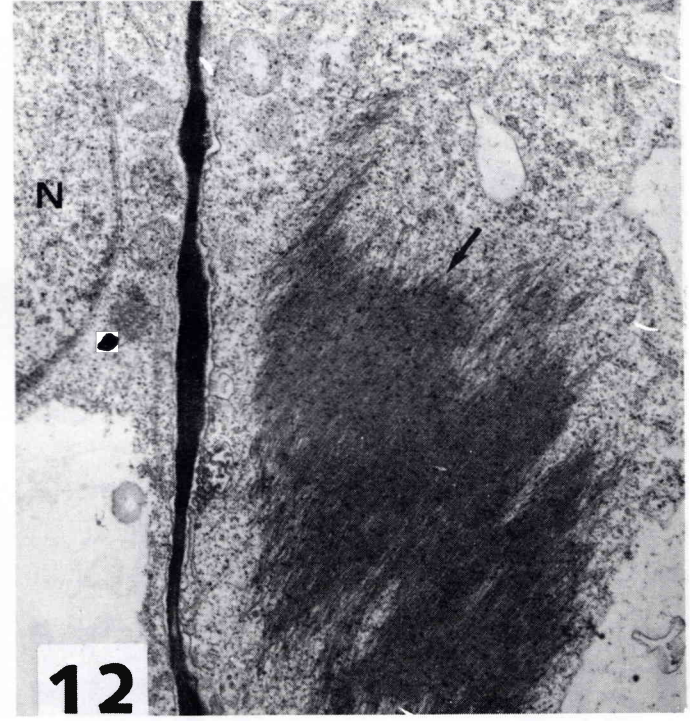
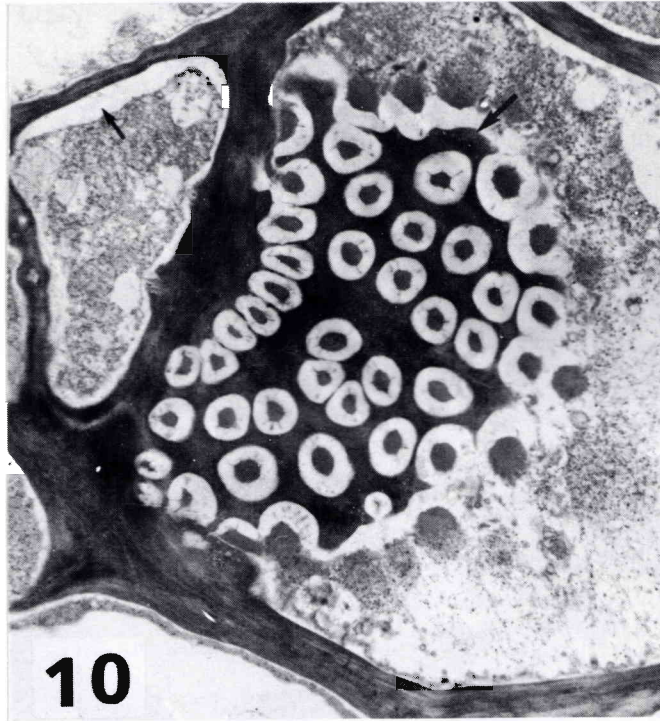
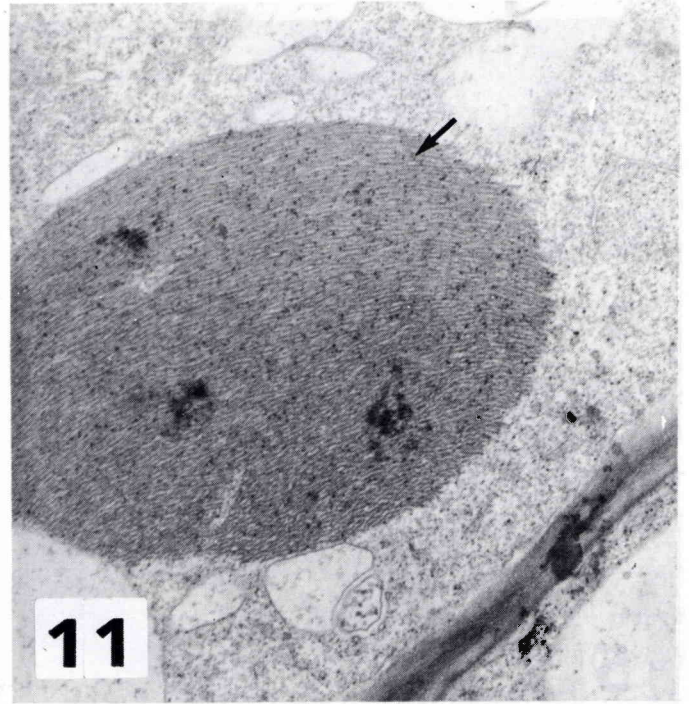
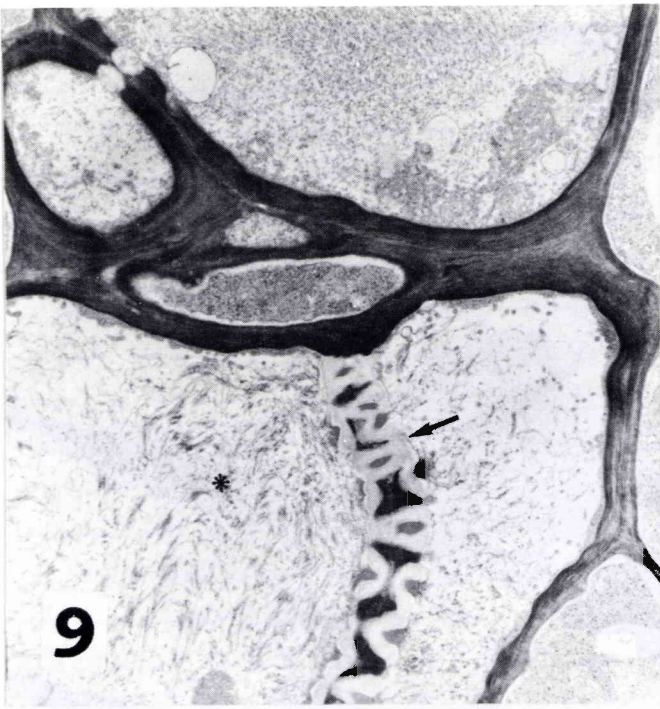
وقد لوحظ وجود هذا البروتين في الخلايا السليمة أيضاً ولكن بكميات أقل بكثير من كميته في الخلايا المصابة (2). ويظهر هذا البروتين في وسط الخلية على هيئة جسيمات أسطوانية طويلة أو تجمعات كروية تمثل مقاطع عرضية في الأجسام الأسطوانية تحيط به المكونات الأخرى للخلية. وقد لوحظت حالات مشابهة في خلايا نباتات التبغ المصابة بفيروس موزايك التبغ (3).

إن زيادة كمية بروتين اللحاء تعطي شكلاً مشابهاً للأجسام



Figures 5 – 8: Electron micrographs for thin sections in tomato leaf petioles infected with curly top virus. 5: Disorganized chloroplasts (P) and nucleus (N) due to viral infection. Note the formation of abnormal body (arrow) inside the swollen plastid. 6: Disorganized chloroplasts (small arrows) with abnormal bodies of high electron density (large arrows). V = cell vacuole. 7: Abnormal membrane formation (arrow). N: nucleus. 8: vacuoles (V) contained large amounts of electron dense materials (arrows). Note that the tonoplast is not clear. 5 =13600 X, 6 =4600 X and 9800 X, 7 and 8 =9800 X.

الاشكال 5-8: صور بالمجهر الالكتروني لمقاطع في عنق ورقة نبات طماطم / بندورة مصاب بفيروس تجعد القمة. 5: البلاستيدات الخضراء (P) والنواة (N) المتأثرة بالاصابة الفيروسية. لاحظ انتفاخ البلاستيدات وتكون جسم غير طبيعي فيها (سهم). 6: بلاستيدات متحورة (أسهم صغيرة) مع وجود أجسام غريبة ذات كثافة الكترونية عالية فيها (أسهم كبيرة). الحرف V يمثل الفجوة الخلوية. 7: تكون الأغشية الخلوية بصورة غير طبيعية (أسهم). الحرف N يرمز للنواة. 8: الفجوات الخلوية (V) الحاوية على كمية كبيرة من مواد ذات كثافة الكترونية عالية (أسهم). لاحظ عدم وضوح غشاء الفجوة. 5 =13600 مرة، 6 =4600 مرة و 9800 مرة، 7 و 8 =9800 مرة.



Figures 9 - 12: Electron micrographs of thin sections in leaf midrib of tomato plants infected with curly top virus. 9: A section in the sieve plate (arrow) and phloem protein (*). 10: Cross section in the sieve plate (large arrow) and paranchyma cell with plasma membrane retracted from the cell wall (arrow). 11: Section in sieve element showing phloem protein (arrow). 12: A section showing phloem protein (arrow). 9 and 10 = 9800 X, 11 = 18900 X, 12 = 13600X.

الاشكال 9 - 12: صور بالمجهر الالكتروني لمقاطع في العرق الوسطي لورقة نبات طماطم / بندورة مصاب بفيروس تجعد القمة. 9: مقطع يوضح الصفيحة الغربالية / المنخلية (سهم) وبروتين اللحاء (*). 10: مقطع عرضي للصفيحة الغربالية / المنخلية (سهم كبير) وخلية برانشيمية توضح انسحاب غشاء الخلية من الجدار (سهم). 11: مقطع في وعاء منخلي يبين بروتين اللحاء (سهم) بشكل أنبوبي. 12: مقطع بين بروتين اللحاء (سهم). 9 و 10 = 9800 مرة، و 11 = 18900 مرة، و 12 = 13600 مرة.

نستخلص مما تقدم أن الإصابة بفيروس تجعد القمة يُحدث تغييرات جوهريّة في البنية الدقيقة لخلايا النباتات المصابة تؤدي إلى موت الخلايا أو تحويرها بحيث تصبح عاجزة عن أداء مهامها الحياتية بشكل طبيعي، وينتج عن ذلك إضعاف النبات وقلة أو انعدام إنتاجيته.

الضميمة (Inclusion bodies) أو (X-bodies) التي تتكون في الخلايا نتيجة للإصابة ببعض الفيروسات؛ وقد ثبت أن لهذه الأجسام طبيعة بروتينية (1، 2، 8). وقد ترجع الزيادة الحاصلة في كميات بروتين اللحاء إلى أن الفيروس يؤثر على الخلية بطريقة تجعلها تزيد من عمليات تصنيع البروتين الخاص به وبعض البروتينات الخلوية الأخرى ومنها بروتين اللحاء (2).

Abstract

Al-Rawi, F.A., A.A. Al-Ammar and I.A. Al-Suhaily. 1991. Effects of *Septoria triticion* the ultrastructure of leaf cells in susceptible and resistant wheat. Arab J.Pl. Prot., 9(1): 32- 37 .

Electron microscope examination of ultrathin section of midribs and petioles from curly top virus - infected tomato plants revealed marked ultrastructural modifications of phloem cells. These changes include increased cytoplasmic density, false plasmolysis, disruption of cell organelles and extensive phloem protein formation. Such ultrastructural changes were not observed in sections from healthy tomato

plants. These cellular modifications could help in the identification of curly top virus infection and may explain the disease symptoms and yield reduction in curly top virus-infected tomato plants.

Key words: Curly top virus, Tomato, Ultrastructure.

References

1. Abdul-Satar. J. and R. A. Al-Ani. 1990. Identification of a new leaf hoppers as a vector of curly top virus on tomato (in press).
2. Esau, K. and J. Cronshaw. 1967. Tubular components in cells of healthy and tobacco mosaic virus-infected *Nicotiana*. *Virology*, 33: 26 - 35.
3. Esau, K. and R.H. Gill 1970. Observations on spiny vesicle and P-Protein in *Nicotiana tabacum*. *Protoplasm*, 69: 373 - 388.
4. Fattah, F.A. and J.M. Zebster 1983. Ultrastructural changes caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici* in *meloiodogyne javanica* induced giant cells in *Fusarium* resistant and susceptible tomato cultivar. *J. Nematol.*, 15: 128 - 135.
5. Hanchey, P. and H. Wheeler. 1969. Pathological changes in ultrastructure: False plasmolysis. *Can. J. Botany*, 47: 675 - 678.
6. Kim, K.S. and E.M. Flores. 1979. Nuclear changes associated with Euphorbia mosaic virus transmitted by the whitefly. *Phytopathology*, 69: 980 - 984.
7. Kim, K.S., T.L. Shock and R.M. Goodman. 1978. Infection of *Phaseolus vulgaris* by bean golden mosaic virus, ultrastructural aspects. *Virology*, 89: 22 - 33.
8. Martelli, G.P. and M. Russo. 1977. Plant virus inclu-

المراجع

- sion bodies. *Advance in virus research*, 21: 175 - 265.
9. Pennazio, S., G. D'Agostino., Anna Applano and P. Redolfi. 1978. Ultrastructure and histochemistry of the resistant tissue surrounding lesions of tomato bushy stunt virus in *Gomphrena globosa* leaves. *Physiological Plant Pathology*, 13: 165 - 171.
10. Puritch, G.S. and A.V. Barker. 1967. Structure and Function of tomato leaf chloroplasts during ammonium toxicity. *Plant Physiol.*, 42: 1229 - 1238.
11. Spurr, A.R. 1969. A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.*, 26: 31 - 43.
12. Steinkamp, M. P.; S.S. Martin.; L.L. Hoefort and E.G. Ruppel. 1981. Ultrastructure of lesions produced in leaves of *Beta vulgaris* by cercosporin, a toxin from *Cercospora beticola*. *Phytopathology*, 71: 1272 - 1281.
13. Tomlinson, J.A. and M.J.W. Webb. 1978. Ultrastructural changes in chloroplasts of lettuce infected with beet western yellow virus. *Physiological Plant Pathology*, 12: 13 - 18.
14. Weinstraub, M. and H.W.J. Ragetli. 1970. Electron microscopy of the Bean and Cowpea strains of southern bean mosaic virus within leaf cell. *J. Ultrastruct. Res.*, 32: 167 - 189.