

IDENTYFIKACJA WIRUSA MOZAIKI TYTONIU  
WYIZOLOWANEGO Z *PHYSALIS FRANCHETTII* MAST.

Zbigniew Maj, Jan Bednarek

Zespół Botaniki Instytutu Przyrodniczych Podstaw Produkcji Roślinnej Akademii  
Rolniczej, Kraków

Gatunki z rodzaju *Physalis* są w literaturze wymieniane jako nosiciele różnych szczepów wirusa mozaiki tytoniu (tobacco mosaic virus). Już w 1918 roku Nischimura [9] jako jeden z pierwszych stwierdził występowanie tego wirusa w formie utajonej w roślinie *Physalis Alkekengi* L. W Polsce Błaszczak [1, 2] z roślin tego samego gatunku wyosobnił agresywny izolat oraz szczep pomidorowy wirusa mozaiki tytoniu.

W 1976 r. autorzy zauważyli na terenie ogrodów działkowych Krakowa podejrzaną o charakter wirusowy objawę chorobową na liściach miechunki japońskiej (*Physalis Franchettii* Mast.). Objawy te występowały na liściach roślin w postaci wyraźnych, jasnozielonych względnie żółtych rozlanych plam, które niekiedy miały charakter pstrokatości względnie mozaiki. Tym zmianom zabarwienia towarzyszyła często deformacja liści. Obserwowano asymetrie, skrzywienia względnie pomarszczenia blaszki liściowej (rys. 1).

Ponieważ objawy te stwierdzono u większości obserwowanych roślin, postanowiono przeprowadzić identyfikację patogena, tym bardziej, że roślina ta bywa często uprawiana w ogrodach, a rozmnażając się przy pomocy rozłogów może w ciągu wielu lat stanowić niebezpieczne źródło infekcji dla innych, ważnych gospodarczo roślin uprawnych.

## MATERIAŁ I METODY

Uzupełnieniem tych wstępnych obserwacji było określenie charakteru schorzenia. Polegało ono na mechanicznej inokulacji homogenizatem sporządzonym z porażonych liści miechunki japońskiej następujących roślin uprawianych w szklarni: *Cucumis sativus* L., *Datura stramonium* L., *Ly-*



Rys. 1. Liście miechunki japońskiej (*Physalis Franchettii* Mast.) z objawami chorobowymi obserwowanymi przez autorów (fot. Z. Maj)

*copersicum esculentum* Mill., *Nicotiana glutinosa* L. oraz *N. tabacum* L. odmiana Samsun. Na podstawie objawów jakie wystąpiły na liściach wymienionych roślin oraz możliwości przenoszenia choroby, autorzy upewnili się, że obserwowane schorzenie ma charakter wirusowy. Przystąpiono więc do identyfikacji patogena.

Według danych z literatury [5, 12, 13] podobne objawy chorobowe jakie wystąpiły na liściach wymienionych powyżej roślin testowych są charakterystyczne dla wirusa mozaiki tytoniu (tobacco mosaic virus). Dlatego też przystępując do identyfikacji patogena dobrano odpowiedni asortyment roślin testowych, charakterystycznie reagujących na mechaniczne zakażenie głównie tym wirusem. Składał się on z następujących gatunków i odmian roślin: *Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn, *Ch. quinoa* Willd., *Cucumis sativus* L. odmiany Delikates, *Datura stramonium* L., *Gomphrena globosa* L. odm. Rosea, *Lycopersicum esculentum* Mill. odm. Potentat, *Nicotiana glutinosa* L., *N. sylvestris* Spegaz. et Comes, *N. tabacum* L. odm. Samsun i Xanthi-nc, *Petunia hybrida* Juss. odm. Niebiańska różyczka, *P. nyctagyniflora* Juss., *Phaseolus vulgaris* L. odm. Michigan i Pinto, *Physalis Alkekengi* L., *P. Franchettii* Mast. Wszystkie wymienione gatunki roślin uprawiano w doniczkach w szklarni.

Źródłem wirusa stosowanym w doświadczeniu były młode liście miechunki japońskiej (*Physalis Franchettii* Mast.) zebrane z jednej chorej rośliny, przechowywane w formie tryturacji z sacharozą [6] w sto-

sunku 1 : 10 (1 + 9). Przed przystąpieniem do identyfikacji patogena, wyosobniono z preparatu czysty izolat (single lesion isolate) przez 3-krotne pasażowanie pojedynczych uszkodzeń na liściach *Nicotiana glutinosa* [3, 11] i następne zakażenie roślin tytoniu odmiany Samsun, których liście z systemicznymi objawami choroby stanowiły źródło wirusa służące w badaniach do inokulacji roślin testowych, na których identyfikowano patogena. Z poszczególnych gatunków względnie odmian, inokulowano każdorazowo około 15 roślin w stadium kilku liści, a u ogórka w stadium liścieni. Środkiem raniącym był proszek karborundowy, którym opylano liście przed inokulacją.

Równocześnie w celach porównawczych, takie same rośliny testowe inokulowano zwykłym szczepem zielonym U1 (vulgare) wirusa mozaiki tytoniu pochodzącym z kolekcji autorów, oraz dzikim szczepem pomidorowym (dahlemense) tego wirusa pochodzącym od G. Melchersa z Instytutu Biologii Max Planck w Tübingen [7, 8].

Po upływie kilku tygodni od momentu inokulacji, z najmłodszych wierzchołkowych liści tych gatunków roślin testowych, których liście nie zareagowały na inokulację lub zareagowały tylko lokalnie, sporządzano homogenizat, którym inokulowano mechanicznie liście młodych roślin *N. glutinosa*. Celem tej reinokulacji było wykrycie ewentualnej systemicznej infekcji utajonej.

Uzupełnieniem opisanych badań było porównanie kształtu ciał inkluzyjnych pojawiających się we włoskach epidermalnych liści roślin pomidorów odmiany Potentat, zakażonych porównywanymi patogenami. Badania te polegały na obserwacji pod mikroskopem wnętrza komórek włosków umieszczonych w kropli wody wodociągowej i fotografowaniu zauważonych inkluzji.

## WYNIKI

Wyniki doświadczeń identyfikacyjnych badanego wirusa przeprowadzonych na roślinach testowych przedstawiono w tabeli 1, w której dla porównania zamieszczono również wyniki reakcji takich samych roślin testowych na inokulację oryginalnym szczepem dzikim (dahlemense) oraz zwykłym szczepem zielonym U1 (vulgare) wirusa mozaiki tytoniu.

Z tabeli 1 wynika, że wszystkie użyte w doświadczeniu rośliny testowe inokulowane identyfikowanym izolatem wirusa pochodzącym z miechunki japońskiej (*Physalis Franchettii* Mast.), można posegregować na 4 następujące grupy, różniące się reakcją na mechaniczną inokulację badanym wirusem.

Grupa I — rośliny reagujące wyłącznie lokalnie: *Cucumis sativus*,

*Datura stramonium*, *Nicotiana glutinosa*, *N. sylvestris*, *N. tabacum* odmiany Xanthi-nc, *Petunia hybrida*, *P. nyctagyniflora*.

Grupa II — rośliny reagujące wyłącznie systemicznie: *Lycopersicum esculentum*, *Nicotiana tabacum* odmiany Samsun, *Physalis Alkekengi*, *P. Franchettii*.

Grupa III — rośliny reagujące zarówno lokalnie jak i systemicznie: *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. quinoa*, *Gomphrena globosa*.

Grupa IV — rośliny niepodatne, którymi okazały się obie odmiany *Phaseolus vulgaris* — Michigan i Pinto.

Te same gatunki i odmiany roślin testowych inokulowane oryginalnym szczepem dzikim (dahlemense) zareagowały podobnie (tab. 1). Nie stwierdzono bowiem różnic ani w charakterze objawów występujących na liściach inokulowanych roślin testowych, ani też w okresach inkubacji choroby.

Odmienne natomiast zareagowały niektóre rośliny testowe inokulowane zwykłym zielonym szczepem U1 (vulgare) wirusa mozaiki tytoniu a mianowicie rośliny *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. quinoa* oraz obie odmiany *Phaseolus vulgaris* zareagowały tylko lokalnie, natomiast *Petunia hybrida*, *P. nyctagyniflora* i *Nicotiana sylvestris* zareagowały tylko systemicznie.

Badnia porównawcze ciał inkluzyjnych, które pojawiały się w komórkach włosków liściowych roślin pomidorów zakażonych 3 porównywanymi izolatami nie wykazały różnicy w kształcie tych ciał. Wszystkie porównywane patogeny inicjowały powstawanie krystalicznych, heksagonalnych ciał wtrętowych (rys. 2).

#### DYSKUSJA I WNIOSKI

1. Identyfikowany patogen powodujący objawy chorobowe na roślinie *Physalis Franchettii* obserwowanej przez autorów jest bez wątpienia wirusem mozaiki tytoniu. Świadczą o tym charakterystyczne dla tego wirusa objawy chorobowe występujące na liściach zakażonych roślin *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* odm. Xanthi-nc i Samsun, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa* [12, 13]. Typowo również zareagowały inne rośliny np. *Cucumis sativus* [5] czy *Lycopersicum esculentum* [7, 12].

2. Identyfikowany izolat jest szczepem pomidorowym wirusa mozaiki tytoniu, na co wskazuje reakcja *Chenopodium amaranticolor* [12], *Nicotiana sylvestris*, *Petunia hybrida*, *P. nyctagyniflora* [11], oraz brak reakcji u obu odmian *Phaseolus vulgaris* — Michigan [10] i Pinto [7], wrażliwych na zakażenie większością szczepów wirusa mozaiki tytoniu [4, 12].

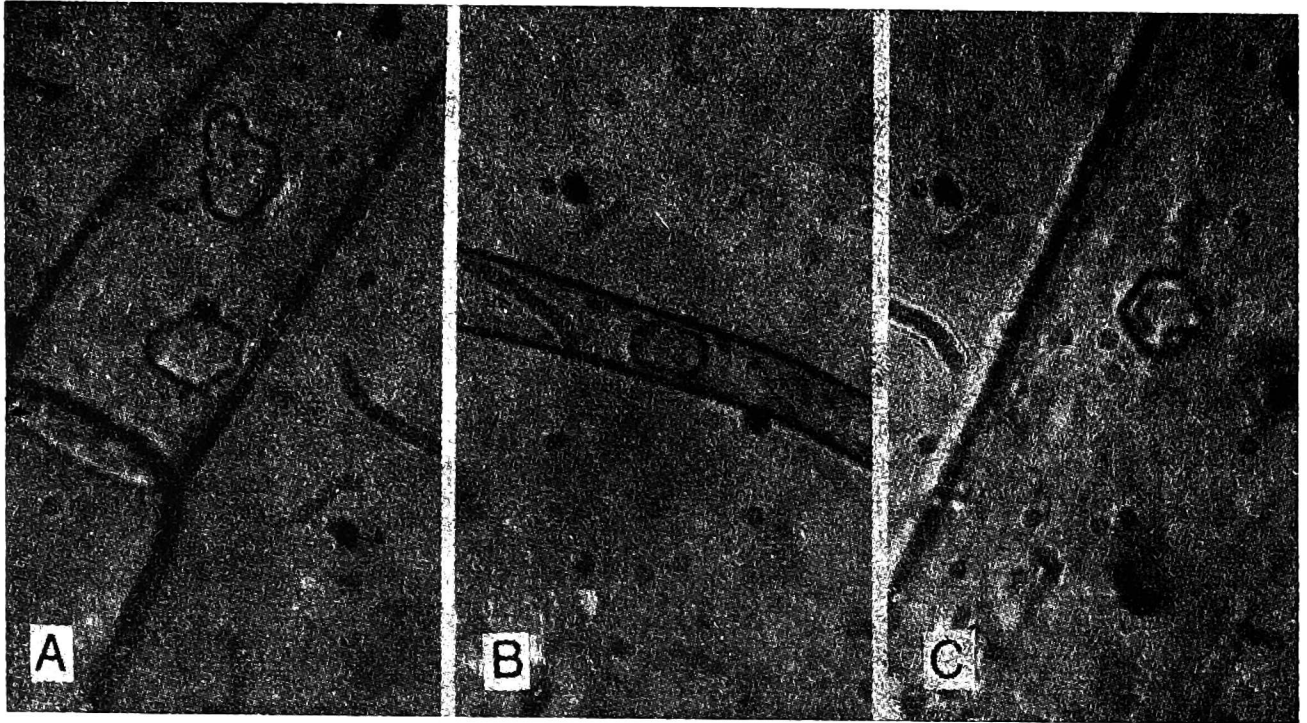
Tabela 1

Objawy na roślinach testowych po inokulacji wirusem wyizolowanym z rośliny *Physalis Franchetii* oraz szczepem dzikim (dahlemense) i szczepem zwykłym U1 (vulgare) wirusa mozaiki tytoniu

Rośliny testowe	Izolaty identyfikowane				Szczep dziki - dahlemense				Szczep U1 - vulgare			
	lokalne	systemiczne	reinokulacja	lokalne	systemiczne	reinokulacja	lokalne	systemiczne	reinokulacja	lokalne	systemiczne	reinokulacja
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	+	+		+	+		+	+		+	+	
<i>Chenopodium quinoa</i>	+	+		+	+		+	+		+	+	
<i>Cucumis sativus</i>	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—
<i>Datura stramonium</i>	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—
<i>Gomphrena globosa</i>	+	+		+	+		+	+		+	+	
<i>Lycopersicum esculentum</i>	—	+		—	+		—	+		—	+	
<i>Nicotiana glutinosa</i>	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—
<i>Nicotiana sylvestris</i>	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—
<i>Nicotiana tabacum</i>	—	+		—	+		—	+		—	+	
odm. Samsun	—	+		—	+		—	+		—	+	
<i>Nicotiana tabacum</i>	—	+		—	+		—	+		—	+	
odm. Xanthi-nc	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—
<i>Petunia hybrida</i>	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—
<i>Petunia nyctagyniflora</i>	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—
<i>Phaseolus vulgaris</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
odm. Michigan	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Phaseolus vulgaris</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
odm. Pinto	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Physalis Alkekengi</i>	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—
<i>Physalis Franchetii</i>	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—

+ Reakcja pozytywna, — brak reakcji.





Rys. 2. Ciała wtętowe obserwowane we włoskach epidermalnych liści pomidorów zakażonych: A — identyfikowanym izolatem, B — oryginalnym szczepem dahlemense, C — zielonym szczepem wirusa mozaiki tytoniu (fot. J. Bednarek)

3. Identyfikowany izolat stanowił najprawdopodobniej dziki szczep pomidorowy (dahlemense) wirusa mozaiki tytoniu. Przemawiają za tym identyczne objawy chorobowe uzyskane na takim samym zestawie roślin testowych inokulowanych dla porównania oryginalnym szczepem dzikim (dahlemense). Szczególnie charakterystyczna okazała się tutaj reakcja rośliny *Chenopodium quinoa*, która na zakażenie dzikimi szczepami pomidorowymi (dahlemense) reaguje zarówno lokalnie jak i systemicznie [14].

Odmiennie zareagowały niektóre rośliny testowe inokulowane dla porównania zwykłym zielonym szczepem U1 (vulgare) wirusa mozaiki tytoniu a mianowicie *Chenopodium amaranticolor*, *Nicotiana sylvestris*, *Petunia hybrida*, *P. nyctagyniflora* oraz obie odmiany *Phaseolus vulgaris* (tab. 1). Taka właśnie reakcja wymienionych gatunków roślin jest charakterystyczna dla szczepów tytoniowych wirusa mozaiki tytoniu, do których należy zielony szczep U1 (vulgare) tego wirusa [11, 12].

Obserwacje mikroskopowe krystalicznych ciał wtętowych nie wykazały jednakże różnic w ich kształcie. Wszystkie bowiem (3) patogeny inicjowały we włoskach liści pomidorów syntezę krystalicznych heksagonalnych ciał inkluzyjnych.

## LITERATURA

1. Błaszczak W., Weber Z.: Reakcja roślin trzech odmian pomidora na agresywny izolat wirusa mozaiki tytoniu (*Nicotiana virus* 1 Smith). Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1973, 142: 111-114.
2. Błaszczak W.: Mozaika miechunki rozdętej (*Physalis alkekengi* L.) Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1976, 182: 185-190.
3. Boxall M., Macniell B. H.: Local lesions as sources of biologically pure strains of tobacco mosaic virus. Can. J. Bot. 1974, 52 1: 23-25.
4. Holmes F. O.: A distinctive strain of tobacco mosaic virus from *Plantago*. Phytopathology 1941, 31: 1089-1098.
5. Lindner R. C., Kirkpatrick H. C., Weeks T. E.: Some factors affecting the susceptibility of cucumber cotyledons to infection by tobacco mosaic virus. Phytopathology 1959, 49: 78-88.
6. Maj Z., Bednarek J.: Przedłużenie infekcyjności wirusa mozaiki ogórka (*Cucumis virus* 1 Doolittle, Smith) przechowywanego w formie preparatu „Teep”. Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1976, 182: 151-156.
7. Melchers G., Schramm G., Trurnit H., Friedrich-Frekxa H.: Die biologische, chemische und elektronen-mikroskopische Untersuchung eines Mosaikvirus aus Tomaten. Biol. Zbl. 1940, 60, 1/2: 524-556.
8. Melchers G.: Korespondencja z dnia 7 grudnia 1977 r. dotycząca pochodzenia i nazwy szczepu dahlemense.
9. Nischimura M.: A carrier of the mosaic disease. Bull. Torrey Bot. Club 1918, 60, 1/2: 524-556.
10. Nowak G., Maj Z., Bednarek J.: Reakcja niektórych odmian fasoli uprawianych w Polsce na inokulację wirusem mozaiki tytoniu (*Nicotiana virus* 1 Mayer, Smith). Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1973, 142: 131-135.
11. Rast A. Th. B.: Variability of tobacco mosaic virus in relation to control of tomato mosaic in glasshouse tomato crops by resistance breeding and cross protection. Agric. Res. Rep. 834, Wageningen 1975: 1-76.
12. Smith K. M.: A textbook of plant virus diseases. J. and A. Churchill LTD, London 1957.
13. Smith K. M.: A textbook of plant virus diseases. Longman Group LTD, London 1972.
14. Wetter C., Bernard M.: Identifizierung, Reinigung und serologischer Nachweis von Tabakmosaikvirus und Para-Tabakmosaikvirus aus Zigaretten. Phytopath. Z. 1977, 90: 257-267.

Збигнев Май, Ян Беднарек

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСА МОЗАИКИ ТАБАКА,  
ИЗОЛИРОВАННОГО ИЗ *PHYSALIS FRANCHETTII* MAST.

Резюме

Вирус, найденный в растении физалие японский в Кракове, идентифицирован как дикий томатный штамм вируса моzaики табака. Вывод основан на исследованиях болезненных симптомов на тест-растениях, сравнивая их с симптомами, вызванными диким, оригинальным штаммом томата.

*Zbigniew Maj, Jan Bednarek*

IDENTIFICATION OF TOBACCO MOSAIC VIRUS ISOLATED  
FROM WINTER CHERRY (*PHYSALIS FRANCHETTII* MAST.)

S u m m a r y

The virus found in the plants of *Physalis Franchettii* growing in the Cracow was identified as the wild strain (dahlemense) of the tobacco mosaic virus. This conclusion was based on the examination of the symptoms caused by this virus on different test plants, as well as compared with original dahlemense strain.

*Wpłynęło do Komitetu Redakcyjnego 15 12 78*