

WYSTĘPOWANIE WIRUSA MOZAIKI OGÓRKA
(*CUCUMIS VIRUS* 1 DOOLITTLE, SMITH) NA NIECIERPKU
DROBNOKWIATOWYM (*IMPATIENS PARVIFLORA* D. C.)

Zbigniew Maj, Jan Bednarek

Zespół Botaniki Instytutu Przyrodniczych Podstaw Produkcji Roślinnej
Akademii Rolniczej w Krakowie

WSTĘP

W poprzednich badaniach [12] dotyczących identyfikacji wirusa mozaiki ogórka (*Cucumis virus* 1 Doolittle, Smith) występującego na zawleczonej do Polski roślinie *Echinocystis lobata* Michx. Torr. et Gr. autorzy zauważyli, że bardzo wrażliwy na zakażenie wymienionym patogenem jest niecierpek drobnokwiatowy — *Impatiens parviflora* D. C. (rys. 1). Roślina ta, pochodząca z Azji [18], wydoszła się w XIX wieku z ogro-



Rys. 1. Niecierpek drobnokwiatowy uprawiany w szklarni: z lewej — roślina zdrowa, z prawej — roślina zakażona mechanicznie wirusem mozaiki ogórka (fot. K. Dustanowska)

dów botanicznych Europy, gdzie opanowała w wielu rejonach naturalne zbiorowiska roślinne [9]. Również w Polsce obserwujemy obecnie jej rozprzestrzenianie się i opanowywanie naturalnych zbiorowisk roślinnych [11]. Tak więc *Impatiens parviflora* stał się pełnoprawnym składnikiem flory polskiej [11, 18]. Z uwagi na szybkie rozprzestrzenianie się tej rośliny w kraju, autorzy postanowili zbadać czy w naszych warunkach naturalnych ulega ona porażeniu wirusem mozaiki ogórka, a tym samym, czy jest jego naturalnym gospodarzem.

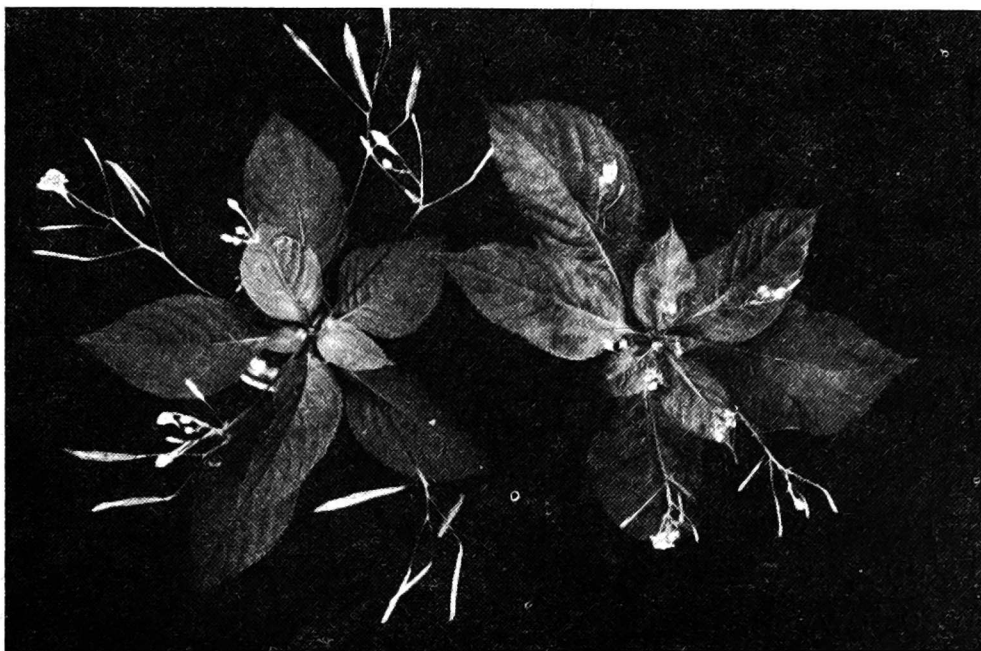
OBSERWACJE W TERENIE

Obserwacje roślin przeprowadzano latem 1974 r. pod Krakowem na terenie Lasu Wolskiego i jego najbliższej okolicy. Na tym obszarze *I. parviflora* jest bardzo pospolity. Występuje zarówno w samym lesie, jak i na granicy pól i lasu, gdzie pojawia się masowo, zwłaszcza na przydrożach. W okolicach Lasu Wolskiego rośnie w miejscach cienistych, najczęściej nad rowami, pod płotami, a nawet obserwowano go jako masowy chwast na zaniedbanej plantacji rabarbaru.

Obserwacje roślin rozpoczęto w maju 1974 r. W tym okresie na młodych jeszcze roślinach nie zauważono widocznych objawów chorobowych. Pierwsze podejrzane symptomy schorzenia stwierdzono dopiero na początku lipca, kiedy rośliny znajdowały się w stadium kwitnienia i zawiązywania owoców. W tym czasie jednak rośliny z widocznymi objawami chorobowymi występowały sporadycznie. Dopiero z końcem lipca, a szczególnie w sierpniu i wrześniu, gdy rośliny osiągnęły już pełnię kwitnienia i owocowania, liczba osobników z podejrzanyymi objawami chorobowymi znacznie wzrosła. Charakterystyczne objawy chorobowe były widoczne na młodych liściach wierzchołkowych jako zmiany zabarwienia w postaci mniej lub bardziej wyraźnej mozaiki występującej niekiedy wzdłuż nerwów. Symptomy te były często połączone z deformacją liści, na których obserwowano przeważnie pomarszczenia, skrzywienia czasem asymetrię blaszki liściowej lub ciemniej zabarwione pęcherzykowate wypukłości. Powierzchnia liści, na których występowały opisane objawy, była często zredukowana i błyszcząca a owoce niekiedy słabiej rozwinięte (rys. 2). Nie zauważono natomiast zakłóceń wzrostu i rozwoju chorych roślin.

MATERIAŁ I METODY

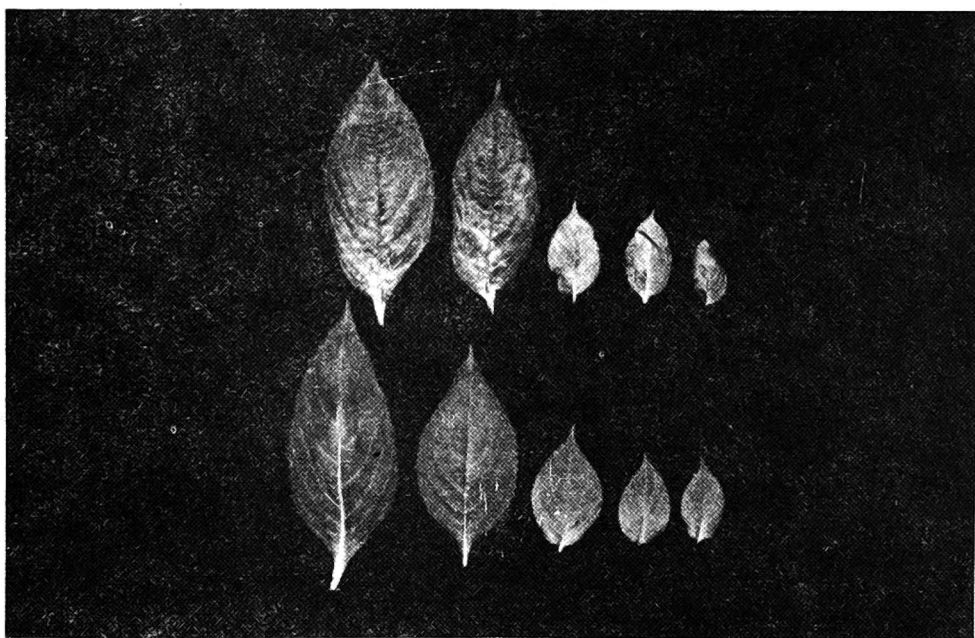
Uzupełnieniem obserwacji terenowych było określenie charakteru schorzenia, które polegało na mechanicznej inokulacji homogenizatem sporządzonym z świeżych porażonych liści niecierpka, następujących roś-



Rys. 2. Niecierpek drobnokwiatowy rosnący w warunkach naturalnych: z lewej — roślina zdrowa, z prawej — roślina chora (fot. Z. Maj)

lin testowych uprawianych w warunkach szklarniowych: *Cucumis sativus* L. var. Spotresisting, *Echinocystis lobata* Michx. Torr. et Gr., *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun i White Burley oraz *Nicotiana glutinosa* L. Na podstawie reakcji wymienionych gatunków roślin na inokulację oraz możliwości przenoszenia choroby, autorzy stwierdzili, że zauważone schorzenie ma charakter wirusowy. Przystąpiono więc do bliższego zbadania patogena i jego identyfikacji.

W celu zabezpieczenia materiału zakaźnego koniecznego do dalszych badań, zbierano z pojedynczych chorych roślin niecierpka liście z typo-



Rys. 3. Młode liście niecierpka drobnokwiatowego rosnącego w warunkach naturalnych zebrane z rośliny chorej — u góry i zdrowej — u dołu (fot. Z. Maj)

wymi objawami chorobowymi (rys. 3) i poddawano je liofilizacji. Wyszuszony w ten sposób materiał liściowy, po sproszkowaniu przechowywano w fiolkach. Stanowił on źródło wirusa i służył w dalszych badaniach do mechanicznej inokulacji roślin testowych, na których identyfikowano patogena. Susz przed użyciem zalewano wodą wodociągową w stosunku 1:12. Po 1-godzinnej maceracji w temperaturze około 5°C i roztarciu w porcelanowym moździerz, homogenizat był gotowy do inokulacji liści roślin testowych.

Według danych z literatury [1, 4, 5, 8, 10, 12, 16, 17] podobne objawy chorobowe jakie wystąpiły na wymienionych roślinach testowych są powodowane przez wirusa mozaiki ogórka (*Cucumis virus 1* Doolittle, Smith). Przystępując więc do identyfikacji patogena dobrano odpowiedni zestaw roślin testowych, charakterystycznie reagujących na mechaniczne zakażenie tym właśnie wirusem. Zestaw ten składał się z następujących gatunków roślin: *Chenopodium quinoa* Willd., *Cucumis sativus* L. var. Spotresisting, *Echinocystis lobata* Michx. Torr. et Gr., *Impatiens parviflora* D. C., *Lycopersicum esculentum* Mill. var. Potentat, *Nicotiana glutinosa* L., *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun i White Burley, *Phaseolus lunatus* L., *Vigna sinensis* L. var. Black Eye, *Zinnia elegans* Jacq. var. Gypsy.

Wszystkie rośliny testowe rozmnażano z nasion i uprawiano w ziemi kompostowej z dodatkiem torfu i piasku. Przygotowanym homogenizatem inokulowano wyłącznie rośliny młode w stadium kilku liści względnie liścieni. Przed inokulacją przetrzymywano rośliny w ciągu 24 godzin w ciemnym pomieszczeniu o temperaturze około 20°C. Inokulację przeprowadzano mechanicznie, używając jako środka raniącego karborundu. Z każdego gatunku inokulowano każdorazowo co najmniej 15 roślin. Równocześnie w celach porównawczych, taką samą liczbę roślin inokulowano homogenizatem przygotowanym ze znanego szczepu zwykłego wirusa mozaiki ogórka, który pochodził z kolekcji autorów [2, 12]. Po upływie kilku tygodni od momentu inokulacji, z najmłodszych wierzchołkowych liści tych gatunków roślin, które nie zareagowały na inokulację widocznymi objawami chorobowymi lub zareagowały tylko lokalnie, sporządzano homogenizat, którym inokulowano pierwsze pojedyncze liście rośliny *Vigna sinensis* var. Black Eye. Celem tej reinokulacji było wykrycie ewentualnej systemicznej infekcji utajonej.

Uzupełnieniem opisanego eksperymentu były badania właściwości fizycznych wirusa polegające na określeniu jego trwałości *in vitro*, punktu inaktywacji termicznej oraz granicznego rozcieńczenia. Do badań tych używano świeży sok wyciśnięty z porażonych liści roślin tytoniu odmiany Xanthi specjalnie w tym celu uprawianych w warunkach szklarniowych i zakażonych badanym wirusem. Sok ten rozcieńczano 0,1 M buforem

fosforanowym o pH = 7. Jako wskaźnika używano roślin *Chenopodium quinoa*, których liście inokulowano mechanicznie odpowiednio traktowanym sokiem.

WYNIKI

Wyniki doświadczeń identyfikacyjnych przeprowadzonych na roślinach testowych przedstawiono w tabeli 1. Wszystkie użyte gatunki roślin podzielono na 4 grupy różniące się reakcją na mechaniczne zakażenie identyfikowanym wirusem.

Tabela 1

Reakcja 10 gatunków roślin na zakażenie wirusem mozaiki ogórka występującym na niecierpku drobnokwiatowym (*Impatiens parviflora* D.C.)

Grupa	Rodzina	Gatunek	Objawy		
			lokalne	systemiczne	reinkulacja
I	<i>Balsaminaceae</i>	<i>Impatiens parviflora</i> D.C.	+	+	
	<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Cucumis sativus</i> L. var. Spotresisting	+	-	+
		<i>Echinocystis lobata</i> Michx. Torr. et Gr.	+		+
	<i>Papilionaceae</i>	<i>Phaseolus lunatus</i> L.	+		+
	<i>Solanaceae</i>	<i>Nicotiana tabacum</i> L. var. White Burley var. Samsun	+		+
+				+	
II	<i>Solanaceae</i>	<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. var. Potentat	-		+
		<i>Nicotiana glutinosa</i> L.	-		+
III	<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	+	-	-
	<i>Papilionaceae</i>	<i>Vigna sinensis</i> L. var. Black eye	+	-	-
IV	<i>Compositae</i>	<i>Zinnia elegans</i> Jacq. var. Gypsy	-	-	+

+ Reakcja pozytywna, - negatywna.

Do grupy I zaliczono te gatunki roślin, które na mechaniczne zakażenie reagowały zarówno objawami lokalnymi, jak i systemicznymi.

Impatiens parviflora — po 6 dniach na inokulowanych liściach pojawiały się jasne nieregularne plamki o średnicy 3-4 mm. Równocześnie liście te wyginały się szponowato ku dołowi (rys. 1). Niekiedy jednakże plamki lokalne były niewidoczne a jedyną oznaką zakażenia było wygięcie liści. Objawy wtórne na młodych wyrastających liściach występowały zwykle po 8 dniach od momentu inokulacji. Była to wyraźna mozaika posuwająca się stopniowo od nasady liścia ku jego wierzchołkowi. W przy-

padku inokulowania liścieni pierwsze lokalne objawy w postaci ciemno-brunatnych nekroz o średnicy 2-3 mm pojawiały się dopiero po 10 dniach. Objawy wtórne w tym wypadku występowały po 12 dniach i były podobne do objawów jakie występowały po inokulacji liści.

Cucumis sativus — na inokulowanych liścieniach po kilku dniach pojawiały się jasnozielone, okrągłe pierścieniowe plamki o średnicy około 5 mm. Plamki te stopniowo przybierały żółte zabarwienie. Po około 7 dniach od momentu inokulacji na młodych wyrastających liściach pojawiały się objawy systemiczne w postaci mozaiki.

Echinocystis lobata — na inokulowanych liścieniach obserwowano po 8 dniach bardzo słabo widoczne objawy lokalne w formie bardzo słabo widocznych jasnych okrągłych plamek o średnicy około 5 mm. Objawy systemiczne w postaci mozaiki obserwowano na młodych wyrastających liściach już po 6 dniach od momentu inokulacji liścieni.

Phaseolus lunatus — na inokulowanych pierwszych pojedynczych liściach już po 4 dniach obserwowano objawy pierwotne w postaci silnego pomarszczenia blaszki liściowej i wygięcia jej ku dołowi. W następnych dniach opisane objawy wzmagaly się a na nerwach inokulowanych liści pojawiały się brunatne nekrozy. Objawy systemiczne obserwowano na młodych wyrastających liściach w formie ciemnych pęcherzykowatych wypukłości, pomarszczenia listków oraz ich deformacji połączonej z wystąpieniem nekroz, zwłaszcza na ogonkach liściowych i nerwach. Wzrost roślin ulegał zahamowaniu.

Nicotiana tabacum var. White Burley — po 4 dniach od momentu inokulacji, na liściach wystąpiła bladozielona plamistość. Plamy o średnicy około 8 mm po kilku dniach zlewały się w charakterystyczną rozlaną mozaikę. Po około 12 dniach na młodych liściach wystąpiły objawy systemiczne w postaci przejaśnienia nerwów i zwięzienia blaszek liściowych.

Nicotiana tabacum var. Samsun — po 4 dniach od momentu inokulacji na liściach pojawiły się jasne plamki pierwotne o średnicy około 5 mm często z nekrotycznym punktem w środku, otoczone podwójnym nekrotycznym przerywanym pierścieniem. Ponadto obserwowano występowanie nekroz wzdłuż nerwów liścia. Po około 7 dniach występowały objawy systemiczne w postaci mozaiki, drobnych nekroz, pomarszczeń i rozjaśnienia nerwów.

Do grupy II zaliczono te gatunki roślin, które na mechaniczne zakażenie badanym wirusem reagowały wyłącznie systemicznie.

Lycopersicum esculentum — po około 10 dniach od momentu inokulacji na młodych liściach wystąpiła bardzo słaba mozaika, która najczęściej zanikała, a blaszki listków ulegały zwięzieniu. Równocześnie obserwowano ciemniejsze zabarwienie nasadowej części łodygi.

Nicotiana glutinosa — po około 10 dniach od momentu inokulacji

najmłodsze liście ulegały pomarszczeniu i deformacji z równoczesnym wystąpieniem na nich mozaiki a niekiedy plamek nekrotycznych.

Do grupy III zaliczono gatunki roślin, które na mechaniczne zakażenie badanym wirusem reagowały wyłącznie objawami lokalnymi.

Chenopodium quinoa — po 4 dniach na inokulowanych liściach pojawiły się drobne wgłębienia o średnicy kilku milimetrów, które następnie przechodziły w nekrozy z jaśniejszym punktem w środku.

Vigna sinensis — na inokulowanych pierwszych pojedynczych liściach już po 24 godzinach wystąpiły wgłębione plamki o średnicy około 1 mm. Po kilku dniach plamki te przybrały barwę brunatną.

Do grupy IV zaliczono roślinę *Zinnia elegans*, u której choroba miała przebieg utajony i można ją było wykryć jedynie na drodze reinkulacji.

Wszystkie wymienione gatunki roślin, zakażone dla porównania znanym szczepem zwykłym wirusa mozaiki ogórka pochodzącym z kolekcji autorów [2, 12] zareagowały podobnie. Zarówno objawy chorobowe występujące na ich liściach, jak i okresy inkubacji choroby były zgodne z opisanymi powyżej objawami występującymi na roślinach zakażonych identyfikowanym wirusem pochodzącym z *Impatiens parviflora*.

Wyniki badań dotyczących własności fizycznych identyfikowanego wirusa przedstawiały się następująco:

- 1) trwałość *in vitro* do 8 dni,
- 2) punkt inaktywacji termicznej 70-75°C,
- 3) granica rozcieńczalności 1 : 10 000.

DYSKUSJA I WNIOSKI

Objawy chorobowe, które wystąpiły na wymienionych gatunkach roślin zakażonych identyfikowanym wirusem, porównane z charakterystycznymi dla wirusa mozaiki ogórka objawami cytowanymi w literaturze [1, 4-6, 8, 10, 13, 16, 17] sugerują, że obserwowane przez autorów schorzenie na *Impatiens parviflora*, spowodowane było przez wirusa mozaiki ogórka (*Cucumis virus 1* Doolittle, Smith). Objawy wywołane przez badany izolat na *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana tabacum* var. White Burley, *Echinocystis lobata* i *Cucumis sativus* są podobne do opisanych przez Smitha [16] dla zwykłego szczepu wirusa mozaiki ogórka. Również Polak [13] obserwował podobne objawy wywołane przez tego wirusa na *Nicotiana glutinosa* i *Cucumis sativus*. Identyczne objawy na *Chenopodium quinoa*, *Cucumis sativus*, *Vigna sinensis* i *Nicotiana tabacum* var. Samsun wywołane przez szczep R wirusa mozaiki ogórka wyizolowany na terenie Francji z *Ranunculus asiaticus* L. opisuje Devergne i inn. [7]. Jednakże brak reakcji lokalnej u *Nicotiana glutinosa* na zakażenie badanym

szczepem oraz nieco inne objawy systemiczne u *Lycopersicum esculentum*, nasuwają przypuszczenie, że różni się on nieco od szczepu R opisywanego przez Devergne i inn. [7].

Reakcja na zakażenie użytych w teście identyfikacyjnym trzech rodzajów roślin testowych dla odróżnienia 3 głównych szczepów wirusa wymienianych przez Klinkowskiego i in. [10], a mianowicie *Phaseolus lunatus*, *Vigna sinensis* i *Zinnia elegans* wykazała, że badany izolat uzyskany z *Impatiens parviflora* zawierał zwykły szczep wirusa mozaiki ogórka. Wskazuje na to utajona reakcja na zakażenie rośliny *Zinnia elegans* [10].

Otrzymane wyniki zostały potwierdzone przez porównanie objawów chorobowych i okresu inkubacji choroby na użytym w teście identyfikacyjnym zestawie roślin, zakażonych równoległe znanym szczepem wirusa mozaiki ogórka pochodzącym z kolekcji autorów [2, 12]. Ponadto przeprowadzone przez autorów badania właściwości fizycznych identyfikowanego wirusa zbliżone są do danych z literatury dla mozaiki ogórka jakie podają Ainsworth [1], Smith [16], Klinkowski i Uschdraweit [10], Błaszczak i Fiedorow [4], Simons [15], Bhargawa [3], oraz Polak [14].

O występowaniu wirusa mozaiki ogórka na *Impatiens parviflora* na terenie Pragi w Czechosłowacji donosi Polak [14]. Objawy chorobowe występujące na tej roślinie jakie opisuje wspomniany autor, miały formę zielono-żółtych przeźroczystych plamek o średnicy około 5 mm, widocznych niekiedy wyłącznie w świetle przechodzącym. Charakter tych objawów był odmienny od tych jakie obserwowali autorzy na *Impatiens parviflora* rosnącym w okolicach Krakowa. Różnice dotyczą również reakcji niektórych roślin testowych jak np. ogórka, u którego szczep opisany przez Polaka nie dawał reakcji lokalnej oraz pomidora, który nie podlegał zakażeniu. Wyraźne różnice w charakterze objawów chorobowych występujących na *Impatiens parviflora* oraz odmienna reakcja niektórych roślin testowych wykazują, że są to prawdopodobnie dwa różne szczepy wirusa mozaiki ogórka.

Autorzy składają podziękowanie Panu inż. Kazimierzowi Waniowskiemu za umożliwienie przeprowadzenia doświadczeń w swoich szklarniach oraz za pomoc techniczną.

LITERATURA

1. Ainsworth G. C.: Mosaic diseases of the cucumber. Ann. Appl. Biol. 1935, t. 22, s. 55-67
2. Bednarek J., Maj Z.: Reakcja niektórych odmian szpinaku uprawianych w Polsce na zakażenie wirusem mozaiki ogórka *Cucumis virus 1* Doolittle, Smith. Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1974, z. 156, s. 175-180

3. Bhargava K. S.: Some properties of four strains of cucumber mosaic virus. *Ann. Appl. Biol.* 1951, t. 38, s. 377-388
4. Błaszczak W., Fiedorow Z.: Wirus mozaiki ogórka *Marmor cucumeris* var. *Vulgare* Holmes na dzwonku bolońskim *Campanula boloniensis* L. i złocieniu ogrodowym *Chrysanthemum indicum* L. *Zesz. probl. Post. Nauk rol.* 1969, z. 94, s. 197-209
5. Bojňanský V. i in.: *Virusove choroby rastlin.* Slov. Vydav. pôdohosp. Lit., Bratislava 1963
6. Brčák J., Polak Z.: Identification of the viruses responsible for the mosaic diseases of *Alliaria officinalis* Andr. in central Bohemia. *Preslia* 1963, t. 35, s. 110-117
7. Devergne J. C., Cardin L., Marais A.: Étude d'une souche du virus de la mosaïque du concombre isolée en France de *Ranunculus asiaticus* L. *Ann. Phytopath.* 1969, t. 1, nr 4, s. 329-339
8. Doolittle S. P.: The mosaic disease of cucurbits. *U. S. Dept. Agric. Bul.* 1920, Nr 879, s. 1-69
9. Hess H. E., Landolt E., Hirzel R.: *Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete.* Band 2, Birkenhäuser Verlag, Basel und Stuttgart 1970
10. Klinkowski M., Uschdraweit H. A.: *Pflanzliche Virologie*, t. 2, cz. 2, Akademie Verlag, Berlin 1968
11. Kornaś J.: Współczesne zmiany flory polskiej. *Wszechświat* 1970, Nr 9, s. 229-234
12. Maj Z., Bednarek J., Nowak G.: Wirus mozaiki ogórka na *Echinocystis lobata* Michx. Torr. et Gr. *Zesz. probl. Post. Nauk rol.* 1972, z. 133, s. 109-121
13. Polak Z.: *Campanula rapunculoides* L. — A natural source of cucumber mosaic virus. *Preslia* 1964, t. 36, s. 306
14. Polak Z.: *Impatiens parviflora* D. C. — A natural host of cabbage black ringspot and cucumber mosaic viruses. *Biol. Plant.* 1967, z. 9(5), s. 354-359
15. Simons J. N.: Three strains of cucumber mosaic virus affecting bell pepper in the everglades area of south Florida. *Phytopathology* 1957, t. 47, s. 145-150
16. Smith K. M.: *A textbook of plant virus diseases.* J. and A. Churchill LTD, London 1957
17. Valenta V.: *Echinocystis lobata* — rezervoarova rastlina uhorkovej mozaiky na Slovensku. *Biologia Bratislava*, 1960, t. 15, z. 3, s. 217-220
18. Zając-Sychowa M.: Rodzina *Balsaminaceae*, Niecierpkowate. *Flora Polska — Rośliny naczyniowe Polski i ziem ościennych* 1959, t. 8, s. 390-392

Збигнев Май, Ян Беднарек

**ПОЯВЛЕНИЕ ВИРУСА ОГУРЕЧНОЙ МОЗАИКИ
(*CUCUMIS VIRUS 1* DOOLITTLE, SMITH)
НА НЕДОТРОГЕ МЕЛКОЦВЕТКОВОЙ (*IMPATIENS PARVIFLORA* D. C.)**

Резюме

Авторы провели идентифицирование вируса появляющегося на недотроге мелкоцветковой (*Impatiens parviflora* D. C.) растущей в окрестностях Кракова. На основе болезненных признаков появляющихся на листьях тест-растений зараженных механически исследуемым вирусом и на основе некоторых физических свойств вируса, авторы предполагают, что наблюдаемая болезнь вызвана обыкновенным штаммом вируса огуречной мозаики (*Cucumis virus 1* Doolittle, Smith).

Zbigniew Maj, Jan Bednarek

CUCUMBER MOSAIC VIRUS (*CUCUMIS VIRUS 1* DOOLITTLE, SMITH)
ON *IMPATIENS PARVIFLORA* D. C.

Summary

The virus found in the plants of small balsam (*Impatiens parviflora* D.C.) growing in the vicinity of Cracow was identified as the common strain of the cucumber mosaic virus (*Cucumis virus 1* Doolittle, Smith). This conclusion was based on the examination of the symptoms caused by this virus on different test plants, as well as on the determination of its physical properties.

Wpłynęło do Komitetu Redakcyjnego 15 02 76