

IDENTYFIKACJA CHOROBY WIRUSOWEJ WYSTĘPUJĄCEJ W UPRAWACH POMIDORÓW SZKLARNIOWYCH

Lucyna Wajda

Pracownia Wirusologii, Zakład Fizjologii Roślin PAN, Kraków

Zagadnieniom związanym z występowaniem chorób wirusowych pomidorów poświęcono szczególnie dużo uwagi zwłaszcza w krajach gdzie ich hodowla i uprawa prowadzone są na wielką skalę. Najwięcej prac naukowych dotyczyło występowania, rozprzestrzeniania się oraz biologii wirusa mozaiki tytoniu, który występuje na pomidorach zarówno w uprawach polowych jak szklarniowych [4, 5, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 31, 32, 33, 34, 59, 60, 63]. W Polsce, jak dotąd, zagadnieniom chorób wirusowych pomidorów poświęcono niewiele uwagi a dotychczasowe prace traktowały to zagadnienie raczej wyrywkowo i opisywane były w nich wyłącznie objawy chorobowe. Nie mniej jednak w tym zakresie ukazało się kilka prac omawiających głównie występowaniu i dynamikę rozprzestrzeniania się wirusa na plantacjach [28, 29, 38, 41, 47, 48, 49, 50, 51, 55, 61, 62]. Jedną z nich jest praca Twardowicz-Jakuszowej [62], w której autorka omówiła nie tylko literaturę ogólnosiwiatową związaną z występowaniem wirusa mozaiki tytoniu na pomidorach, ale dokonała inwentaryzacji poszczególnych szczepów występujących w uprawach pomidorów koło Poznania i jego okolic oraz przeprowadziła ściśle badania diagnostyczne i epidemiologiczne.

Jak wiadomo najczęstsze choroby wirusowe na pomidorach powodowane są przez wirusy mozaiki tytoniu [3, 24, 30, 34] i jego szczepy [41, 42, 45, 46, 54-58, 62], wirusy ziemniaczane X, Y, M i ich szczepy, mozaikę aukuba ziemniaka, wirusa brązowej plamistości pomidora, wirusa mozaiki ogórka, a także przez kompleksy złożone z wyżej wymienionych wirusów [26, 40, 43, 53, 62-65]. Objawy powstałej choroby mogą być różne a zależą nie tylko od samego wirusa, jego szczepu ale i od rośliny, jej stanu fizjologicznego oraz warunków środowiska i terminu zakażenia. Wszystkie te zmieniające się czynniki powodują niejednokrotnie powstawanie objawów bardzo różnorodnych, różniących się zarówno wyglądem jak i stopniem nasilenia, co niejednokrotnie bardzo utrudnia właściwe i szybkie rozpoznanie choroby.

Praca niniejsza miała na celu zidentyfikowanie choroby występującej w szklarniach produkcyjnych Kombinatoru Ogrodniczego w Tychach, ustalenie źródła choroby, oraz czynników sprzyjających jej rozprzestrzenianiu się.

OBJAWY CHOROBY

Pomidory odmiany Revermun dotknięte chorobą różniły się znacznie wyglądem w porównaniu z roślinami zdrowymi. Wszystkie rośliny chore były nieco niższe, lub znacznie niższe, a zahamowanie wzrostu zależało prawdopodobnie od stopnia zaawansowania choroby. Na ogół przebieg choroby był dość ostry. Na liściach, pędach i ogonkach liściowych występowały nekrozy w postaci smug ciągnących się na krótkich przestrzeniach, lub rozciągające się prawie na całej długości pędów (rys. 1). Liście wierzchołkowe, zwłaszcza w pierwszej fazie choroby, były silnie wygięte ku dołowi, często zaznaczało się zwięźnienie blaszek liściowych, lub ich deformacja, oraz mniej lub więcej wyraźna mozaika (rys. 1, 3). Nekrozy powstałe na liściach z biegiem czasu stawały się coraz większe i bardziej rozległe, a wkrótce doprowadzały do powstawania dużych płaszczyzn martwic tkanki wyraźnie tracących barwę zieloną i stopniowo brązowiejących (rys. 1, 2, 3). Niejednokrotnie objawy te były tak silne, że doprowadzały do całkowitego usychania i zamierania rośliny. Owoce roślin porażonych były drobniejsze a na ich powierzchni często występowały nekrozy, czasami dochodziło do opadania owoców. Stopień nasilenia opisywanych objawów był bardzo różny i zależał od terminu zakażenia roślin, od ich stanu fizjologicznego i od temperatury. Wyższe temperatury maskowały występowanie niektórych objawów, a zwłaszcza mozaiki, która w podwyższonej temperaturze zanikała.

Prace przeprowadzono na materiale pochodzącym ze szklarni produkcyjnych w Tychach, a równocześnie na materiale zakażonym mechanicznie w Pracowni Wirusologii ZFR PAN w Krakowie.

METODYKA

Doświadczenia przeprowadzono na materiale roślinnym hodowanym w warunkach szklarniowych, w ziemi sterylizowanej parą. Wszystkie narzędzia używane do doświadczeń wyjaławiano w suszarkach o temperaturze 150°C, lub w autoklawie. Wszystkie rośliny testowe wysiewano do ziemi parowanej, a następnie pikowano do sterylizowanych skrzynek i wysadzano do doniczek wypełnionych parowaną ziemią. Stoły w szklarniach często myto 3% roztworem trójfosforanu sodu z mydłem.

Pracę podzielono na dwa etapy. W pierwszym prowadzono doświadczenia związane z identyfikacją choroby, a w drugim ustalano źródła



Rys. 1. Wierzchołek rośliny pomidora odm. Revertun z objawami choroby w postaci smug i nekroz, występujących na łodydze, ogonkach liściowych i liściach.

choroby oraz sposoby przenoszenia się jej na rośliny. Przy identyfikowaniu stosowano następujące metody:

- testów biologicznych i oznaczenie zakresu roślin gospodarzy,
- testów serologicznych,
- badań chemicznych, dla ustalenia niektórych właściwości fizycznych wirusów,
- badań w mikroskopie elektronowym.

Doświadczenia nad ustalaniem źródła choroby i sposobu jej przenoszenia obejmowały badania:

- nasion jako ewentualnego źródła choroby,
- gleby jako ewentualnego źródła choroby.

IDENTYFIKACJA CHOROBY

BADANIA NA ROŚLINACH TESTOWYCH

Po stwierdzeniu, że sok wyciśnięty z chorych pomidorów wywołuje objawy chorobowe w postaci plam i mozaiki na liściach *N. tabacum* (Samsun) oraz plamek nekrotycznych na liściach *Nicotiana glutinosa* przystąpiono do oznaczania zakresu roślin gospodarzy. Do badań na roślinach testowych używano soku wyciśniętego z liści pomidorów wykazujących wyraźne objawy chorobowe. Sok wirowano przez 15 min przy 3000 obr/min, a następnie rozcieńczano w stosunku 1:5 wodą wodociągową. Obserwacje inokulowanych roślin przeprowadzano po 3, 7 i 15 dniach, a następnie po 4 i 6 tygodniach od momentu inokulacji. Zakres roślin gospodarzy oznaczano inokulując po 3 do 5 roślin każdego gatunku. Kontrolę bezwzględną stanowiły rośliny nie poddane żadnym zabiegom, kontrolę względną zaś rośliny pocierane wodą destylowaną.

Inokulowano następujące rośliny testowe: *Capsicum annum* L., *Cucumis sativus* L., *Datura stramonium* L., *Gomphrena globosa* L., *Lycopersicon esculentum* Mill. (Potentat i Ailsa Craig), *Nicotiana glutinosa* L., *Nicotiana tabacum* L., (Samsun), White Burley, Xanthi oraz Samsun NN, *Phaseolus vulgaris* L. (Saxa i Pinto) oraz *Vigna sinensis* Savi (Black). Z wymienionych roślin negatywnie na inokulację sokiem chorych pomidorów zareagowały *Cucumis sativus* L., obie odmiany *Phaseolus vulgaris* L., oraz *Vigna sinensis* Savi — odmiana Black. Na pozostałych roślinach wystąpiły reakcje nekrotyczne różniące się wyraźnie nasileniem i wyglądem powstałych nekroz oraz na niektórych objawy systemiczne. Wyniki zestawiono w tabeli 1. Brak objawów na *Cucumis sativus* L., wyklucza występowanie wirusa mozaiki ogórka.

REAKCJA RÓŻNYCH ROŚLIN NA INOKULACJĘ SOKIEM CHORYCH POMIDORÓW

Capsicum annum L. — Inokulowane rośliny reagowały lokalnie i systemicznie. Po 3 dniach od inokulacji obserwowano charakterystyczne zwisanie liści inokulowanych w dół. Pojawiały się na nich przebarwienia

Tabela 1

Reakcja różnych odmian i gatunków roślin na inokulację sokiem chorych pomidorów

Gatunki i odmiany inokulowane	Porażenie	
	lokalne	systemiczne
<i>Capsicum annuum</i> L.	+	+
<i>Cucumis sativus</i> L.	—	—
<i>Datura stramonium</i> L.	+	+
<i>Gomphrena globosa</i> L.	+	—
<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.		
Potentat	+	+
Ailsa Craig	+	+
<i>Nicotiana glutinosa</i> L.	+	+
<i>Nicotiana tabacum</i> L.		
Samsun	+	+
White Burley	+	+
Samsun NN	+	+
Xanthi	+	+
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.		
Saxa	—	—
Pinto	—	—
<i>Vigna sinensis</i> Savi		
Black	—	—

mozaikowe, a wkrótce potem plamki nekrotyczne. Inokulowane liście odpadały, a na liściach wierzchołkowych pojawiały się objawy wtórne. Często zamierały całe rośliny.

Cucumis sativus L. — jak wspomniano powyżej nie reagował na inokulację sokiem wyciśniętym z chorych pomidorów.

Datura stramonium L. — Na inokulowanych roślinach występowały zarówno objawy lokalne jak i systemiczne. Zwykle po dwóch lub trzech dniach na inokulowanych liściach pojawiały się drobne okrągłe plamki, stopniowo powiększające się i zmieniające barwę od oliwkowych do bezowych. Na brzegach plamek tworzyła się wąska, brunatna obwódka. Podobne objawy przypisuje Smith [59] obecności wirusa mozaiki tytoniu. Po około trzech do czterech tygodni od momentu inokulacji na wierzchołkowych liściach pojawiała się delikatna wyraźna mozaika.

Gomphrena globosa L. — Na inokulowanych liściach ukazywały się w 5-7 dni wyraźne plamki z czerwono-brunatną obwódką. W miarę upływu czasu plamki te powiększały się nieco. W czasie przeprowadzanych doświadczeń nie zaobserwowano wyraźnych objawów choroby systemicznej. Czasami występowało tylko lekkie pofałdowanie liści wierzchołkowych, lub przejaśnienia nerwów (rys. 4).

Lycopersicum esculentum Mill. — Inokulowano pomidory odmiany Potentat i Ailsa Craig. Na obydwu odmianach notowano występowanie objawów pierwotnych i systemicznych. Należy zaznaczyć, że znacznie ostrzejsze były objawy na odmianie Ailsa Craig, która po około 2 tygod-

niach zamierała. Początkowo objawy występowały w postaci żółtawych plam zmieniających barwę na brązową. Później obserwowano objawy ostrej smugowatości na wszystkich częściach rośliny.

Nicotiana glutinosa L. — Na inokulowanych liściach tych roślin występowały zwykle w trzecim dniu po inokulacji drobne beżowe plamki z wyraźną brązową obwódką (rys. 5). Po upływie 3-6 tygodni na wierzchołkowych liściach obserwowano reakcję systemiczną w postaci wyraźnej mozaiki, a następnie silne zahamowanie wzrostu. Objawy systemiczne występowały zwykle w ostrej postaci.

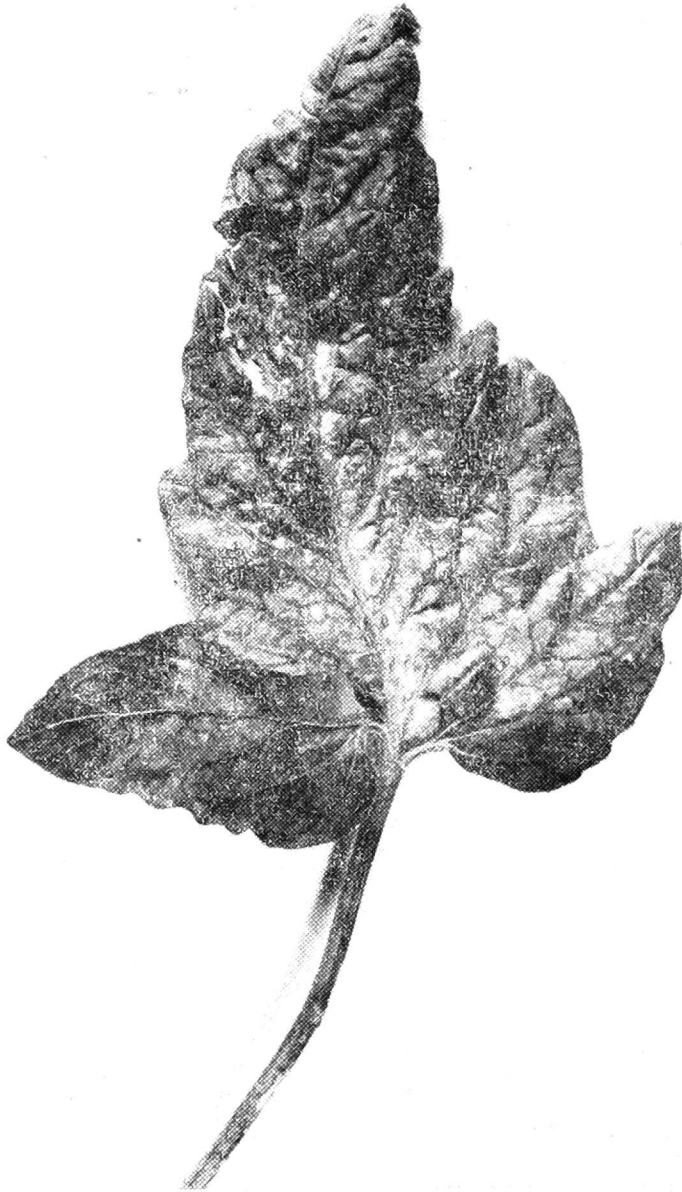
Nicotiana tabacum L. (Samsun) — rośliny reagowały na inokulację pojawianiem się wyraźnych plam i przebarwień blaszki liściowej, następnie zaś pojawianiem się licznych nekroz, które łącząc się dawały siateczkę nekrotycznych uszkodzeń często tak gęstą, że doprowadzały do usychania inokulowanego liścia. Po upływie około 14 dni na młodych wierzchołkowych liściach występowała wyraźna mozaika, oraz pomarszczenia, a następnie silna i bardzo wyraźna chloroza na przemian z bardzo intensywnie zabarwionymi miejscami na tych liściach. Następnie pojawiały się delikatne uszkodzenia nekrotyczne w postaci kresiek, lub smug prowadzące do silnej nekrotyzacji liści. Po 3 lub 4 tygodniach dawało się zaobserwować wyraźne zahamowanie wzrostu, usychanie inokulowanych liści oraz liści z bardzo silnymi i ostrymi objawami. Zazwyczaj nekrotyzacja tkanek postępowała od wierzchołka blaszki liściowej. Po 4 lub 5 tygodniach od inokulacji chore rośliny przybierały charakterystyczny wygląd. Na liściach wierzchołkowych występowała bardzo wyraźna mozaika połączona często z silną deformacją blaszek liściowych. Na liściach podwierzchołkowych tworzyły się duże rozlewające się plamy początkowo żółte, potem zmieniające barwę na brązową a następnie powstawały nekrotyczne martwice leżące między nerwami. Liście niżej położone częściowo zasychały. Cała roślina wykazywała silne zahamowanie wzrostu. Objawy występowały zwykle w bardzo ostrej postaci. Całe rośliny wykazywały zahamowanie wzrostu oraz miały drobniejsze liście.

Nicotiana tabacum L. (White Burley) — liście inokulowane reagowały pojawianiem się plam o średnicy ok. 3 mm. Plamki zazwyczaj otoczone były brązowiejącą obwódką, która następnie stawała się nekrotyczna i rozszerzała się. Poza obwódką nekrotyczną tworzy się jaśniejsza obwódka, łącząc często dwie, lub więcej plamek. Plamki takie często zlewały się tworząc rozległe partie nekroz (rys. 6). Po 2 lub 3 tygodniach na liściach wierzchołkowych ukazywała się łagodna mozaika. Obserwowano niewielkie zahamowanie wzrostu. Liście inokulowane przeważnie usychały i odpadały.

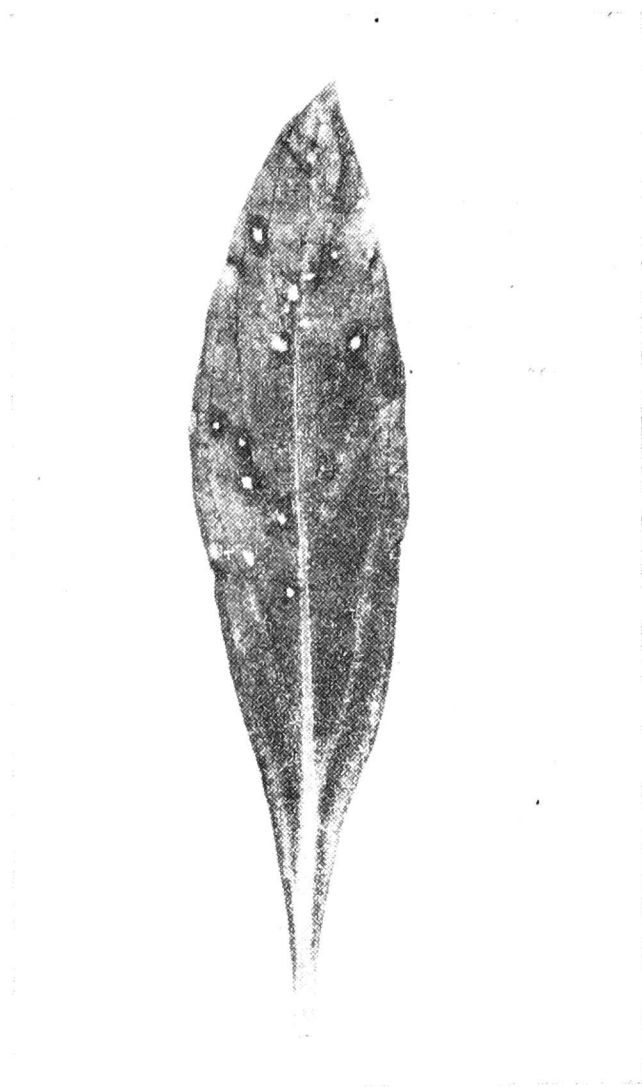
Nicotiana tabacum L. (Samsun NN) — na liściach tych roślin powstawały drobne uszkodzenia w postaci nekrotycznych plamek tylko na liściach inokulowanych przeważnie w okresie 4-6 dni po inokulacji. Liście



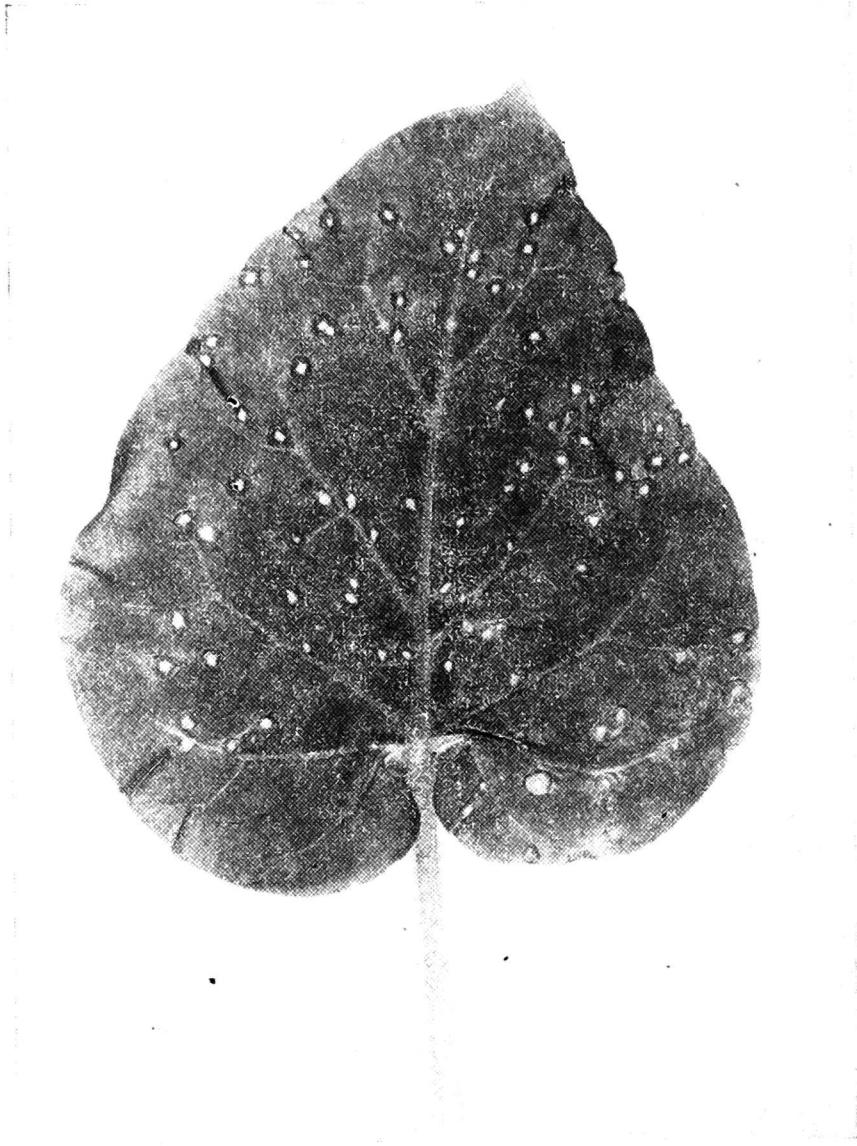
Rys. 2. Liść pomidora odm. Revertun z objawami choroby w postaci mozaiki, nekroz i pofałdowania blaszek liściowych, wywołanych ostrą smugowatością pomidora (smugowatość podwójnowirusowa)



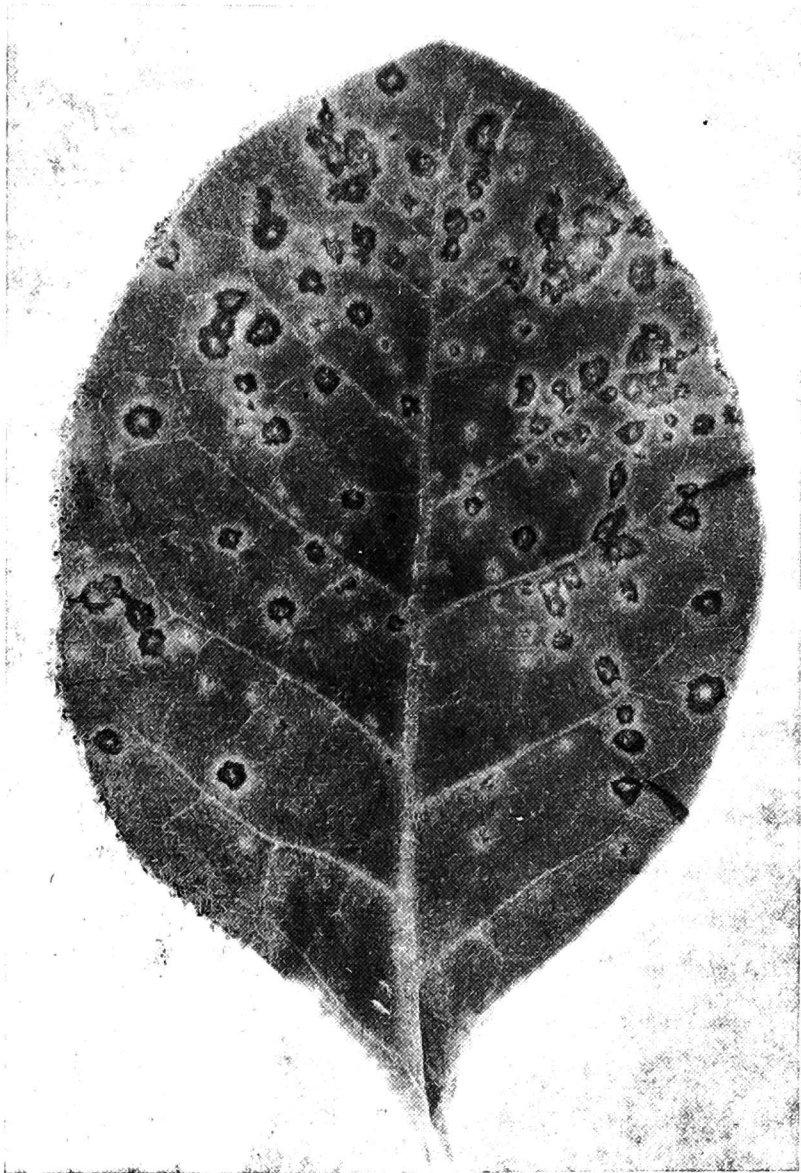
Rys. 3. Liść pomidora odm. Revertun z objawami mozaiki i nekrozami wywołanymi przez chorobę ostrej smugowatości pomidorów (smugowatość podwójnowirusowa)



Rys. 4. Liść *Gomphrena globosa* z objawami lokalnymi powstałymi po inokulacji sokiem chorych pomidorów



Rys. 5. Liść *Nicotiana glutinosa* z objawami lokalnymi powstałymi po inokulacji sokiem chorych pomidorów



Rys. 6. Liść *Nicotiana tabacum* odm. White Burley z objawami lokalnymi powstałymi po inokulacji sokiem chorych pomidorów

te wkrótce usychały i odpadały. Dopiero w 2 do 3 tygodni pojawiały się na wierzchołku rośliny objawy lekkiej mozaiki, a czasami towarzyszyło temu niewielkie pofałdowanie blaszki liściowej.

Nicotiana tabacum L. (Xanthi) — na liściach inokulowanych zazwyczaj w okresie do 5 dni od inokulacji tworzyły się drobne liczne plamki nekrotyczne. Po 3-5 tygodniach pojawiała się delikatna mozaika na młodszych nieinokulowanych liściach, a potem — drobne nekrotyczne uszkodzenia w postaci krótkich kreseczek lub smug. Czasami tworzyły się nieregularne plamki o średnicy ok. 1 mm. U wszystkich roślin obserwowano lekkie zahamowanie wzrostu, w porównaniu z roślinami kontrolnymi.

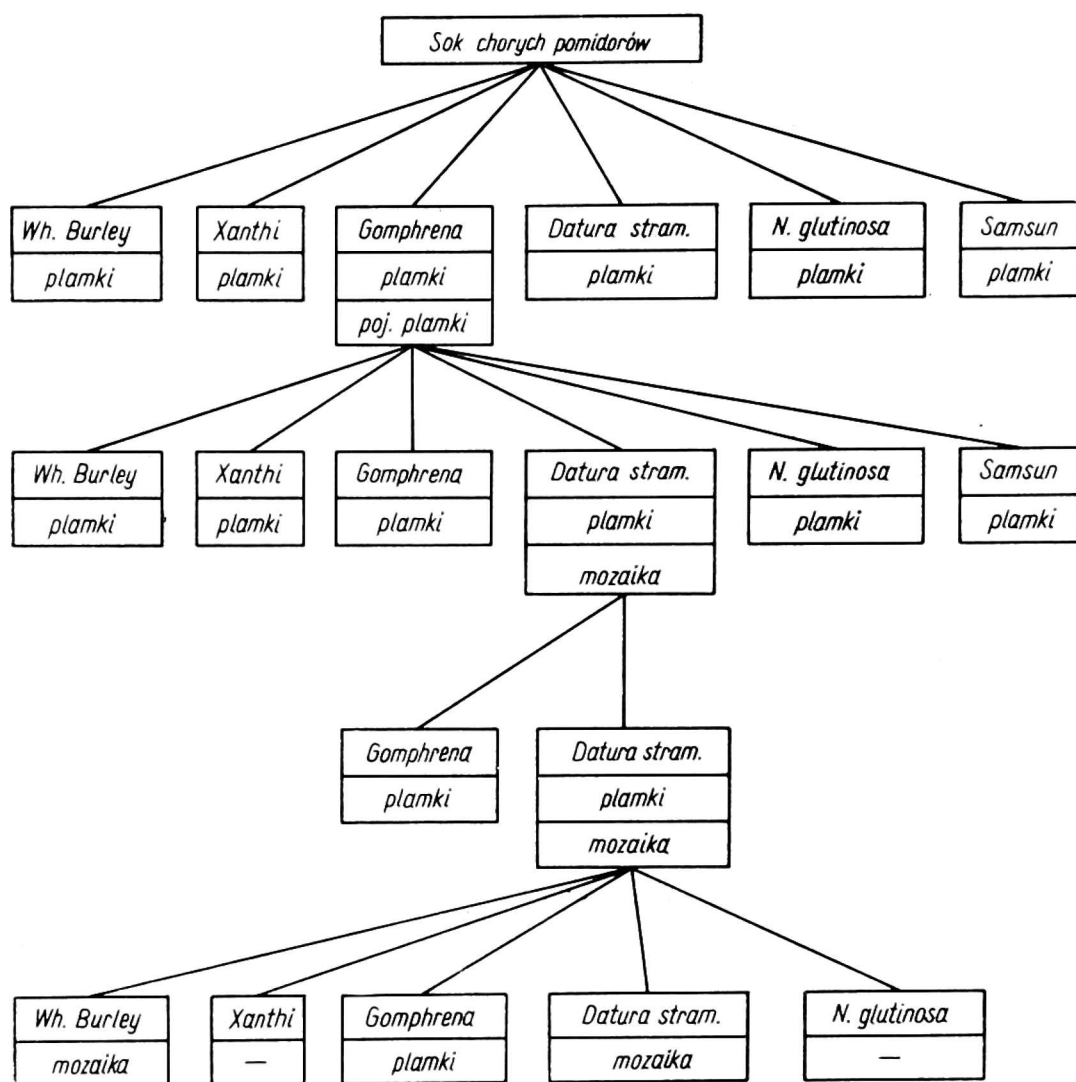
Phaseolus vulgaris L. — odmiana Saxa jak i odmiana Pinto nie dawały reakcji na liściach inokulowanych.

Vigna sinensis Savi (Black) — nie reagowała na inokulację sokiem chorych pomidorów.

Brak pozytywnej reakcji takich roślin testowych jak *Cucumis sativus* L. oraz *Vigna sinensis* umożliwia wykluczenie obecności wirusa mozaiki ogórka, zaś pozytywna reakcja na *Gomphrena globosa* i *Nicotiana glutinosa* sugerują występowanie kompleksu składającego się z wirusa mozaiki i wirusa ziemniaczanego X.

Dla stwierdzenia czy istotnie w plamkach powstałych na inokulowanych liściach *Gomphrena globosa* znajduje się tylko wirus ziemniaczany X, wycinano pojedyncze plamki z tych liści, rozcierano je z odrobiną wody i inokulowano nimi liście następujących roślin testowych: *Datura stramonium* L., *Gomphrena globosa* L., *Nicotiana glutinosa* L., oraz *Nicotiana tabacum* odmian White Burley, Xanthi, Samsun. Schemat doświadczenia przedstawiono na rysunku 7. Na wszystkich inokulowanych roślinach wystąpiły objawy świadczące o obecności obu wirusów w pojedynczych plamkach wyciętych z liści *Gomphrena globosa*. Jak wynika z rysunku 7 rośliny reagowały zarówno nekrotycznie np. *Datura stramonium*, *Nicotiana glutinosa*, Xanthi oraz *Gomphrena globosa*, co właśnie może świadczyć o obecności wirusa mozaiki tytoniu, zaś plamki na liściach *Gomphrena globosa* świadczą o obecności wirusa ziemniaczanego X. W późniejszym okresie na liściach (zwłaszcza wierzchołkowych) roślin testowych wystąpiła mozaika.

Uzyskane wyniki wydają się sugerować, że *Gomphrena globosa* nie rozdziela obu wirusów znajdujących się w kompleksie. W celu stwierdzenia, które rośliny mogą rozdzielić kompleks tak, aby nie występowały „domieszki” w postaci drugiego wirusa z kompleksu, do inokulacji wzięto młode liście *Datura stramonium* z objawami wyraźnej delikatnej mozaiki. Sokiem wyciśniętym z tych liści inokulowano rośliny testowe (takie same jak poprzednio). Objawy uzyskane w toku tego doświadczenia świadczą również o tym, że *Datura stramonium* nie rozdziela w sposób całkowity tego kompleksu, ponieważ liście wierzchołkowe tej rośliny za-



Rys. 7. Schemat reizolowania i pasażowania wirusów

wierają również wirus mozaiki tytoniu. Dopiero kilkakrotnie pasażowanie kompleksu przez rośliny „filtrujące” daje pewność uzyskania „pojedynczych” wirusów z kompleksu (rys. 7). Na podstawie uzyskanych wyników można sądzić, że kompleks ten nie daje się rozdzielić tak szybko i łatwo, a dopiero kilkakrotne pasażowanie przez rośliny filtrujące, czy też działające selektywnie umożliwia uzyskanie poszczególnych składników tego kompleksu. Schemat reizolowania i pasażowania wirusów przedstawiono na rysunku 7. Jak już wspomniano dotychczasowe wyniki sugerują w chorych pomidorach obecność kompleksu złożonego z wirusa mozaiki tytoniu i wirusa ziemniaczanego X.

WYNIKI BADAŃ SEROLOGICZNYCH

WYNIKI PRECYPITACJI

Do badań serologicznych użyto surowicę uczuloną przeciwko wirusowi mozaiki tytoniu, wirusowi ziemniaczanemu X, wirusowi Y, oraz przeciwko wirusowi M. Do badań serologicznych używano soku wyciśniętego z chorych pomidorów oraz z soku wyciśniętego z liści tytoniu odmiany Samsun, uprzednio inokulowanych sokiem wyciśniętym z chorych pomidorów. Do badań serologicznych używano soku wirowanego

przez 15 min. przy 3000 obr/min. Badania przeprowadzono metodą precypitacji kropelkowej według Jermoljeva i Hruški [37]. Wyniki precypitacji podano w tabeli 2. Świadczą one o pozytywnej reakcji soku chorych

Tabela 2

Wyniki precypitacji kropelkowej

Roślina	Surowica				
	Anty-X	Anty-TMV	Anty-M	Anty-Y	Kontrola
Pomidor	+++++*	+++++	—	—	—
White Burley	+++++	+++++	—	—	—
Samsun	+++++	+++++	—	—	—

* Maksymalna koncentracja.

roślin z surowicami uczulonymi na wirusa mozaiki tytoniu i wirusa ziemniaczanego X, co dowodzi obecności w soku tych roślin zarówno wirusa mozaiki tytoniu jak i wirusa ziemniaczanego X. Negatywne wyniki występujące w stosunku do surowicy anty -Y, anty -M potwierdzają nieobecność tych wirusów w tym kompleksie.

INAKTYWACJA WIRUSÓW W SOKU POMIDORÓW SUROWICAMI UCZULONYMI
PRZECIWKO TMV i PVX

Badania te miały na celu potwierdzenie obecności obu wirusów w kompleksie w soku chorych roślin oraz ewentualne wykrycie innego wirusa, którego obecność można by stwierdzić wtedy, kiedy zostaną zainaktywowane dwa znane składniki badanego kompleksu.

Sok wyciśnięty z liści chorych pomidorów, lub tytoniu odmiana Samsun wirowano przez 15 min. przy 3000 obr/min a następnie rozcieńczano roztworem soli fizjologicznej w stosunku 1:10. Tak przygotowany sok mieszano z odpowiednią surowicą anty-TMV, albo anty-PVX, albo z obydwojoma równocześnie, w stosunku 1:1, odstawiano na 30 min. w temp. pokojowej. Po upływie tego czasu wirowano próbki przez 15 min. przy 5000 obr/min, a następnie płynem z nad osadu inokulowano liście roślin testowych *Nicotiana glutinosa* i *Gomphrena globosa*. W tabeli 3 zestawiono wyniki tego doświadczenia. Jeżeli inokulowano liście roślin testowych sokiem wysyconym surowicą anty-TMV to na liściach *Nicotiana glutinosa* nie pojawiały się plamki, które zazwyczaj świadczą o obecności wirusa mozaiki tytoniu, natomiast były obecne na liściach *Gomphrena globosa*, co świadczy o zdolności wirusa ziemniaczanego X do zakażenia tej rośliny testowej. Jednocześnie brak plamek na liściach *Nicotiana glutinosa* świadczy o inaktywacji wirusa mozaiki tytoniu surowicą niszczącą właściwości infekcyjne tego wirusa w soku badanych roślin. Jeżeli natomiast do soku z chorej rośliny dodamy surowicy anty-X, to plamki wystąpią tylko na liściach *Nicotiana glutinosa* wywołane obecnością infekcyjnych cząsteczek wirusa mozaiki tytoniu. Wirus ziemniaczany X

Tabela 3

Inaktywacja wirusów przy pomocy surowic

Roślina	Surowica	Roślina testowa	
		<i>N. glutinosa</i>	<i>G. globosa</i>
Pomidor	anty-X	plamki	—
	anty-TMV	—	plamki
Samsun	anty-X	plamki	—
	anty-TMV	—	plamki
Pomidor	anty-X + anty-TMV	—	—
	bez surowicy	plamki	plamki

nie wywołuje wtedy plamek na liściach *Gomphrena globosa*, ponieważ jego właściwości infekcyjne zostały zniszczone przez przeciwciała znajdujące się w surowicy anty-X. Po dodaniu obu surowic jednocześnie do badanego soku na liściach roślin testowych nie uzyskano natomiast żadnych objawów, co wskazuje na wytrącenie obu wirusów jednocześnie. Należy podkreślić, że w niektórych doświadczeniach uzyskiwano pojedyncze plamki, co wydaje się świadczyć o zbyt niskiej zawartości przeciwciał w użytych surowicach. Z tego też powodu ważne jest dobranie odpowiedniego rozcieńczenia surowic jak też i używanie surowic o wysokim mianie.

* BADANIA CHEMICZNE

ROZDZIELANIE KOMPLEKSU METODĄ ROZCIEŃCZANIA

Z wyciśniętego i odwirowanego soku chorych pomidorów przygotowano serię rozcieńczeń w 0,15 M buforze fosforanowym o pH 7 od 10^{-2} do 10^{-7} . Przygotowaną serią rozcieńczeń inokulowano rośliny *Nicotiana glutinosa*, *Datura stramonium* i *Gomphrena globosa*. Pó kilku dniach obserwowano objawy na liściach roślin testowych. Wyniki zestawiono w tabeli 4. W doświadczeniach tych nie uzyskano objawów na roślinach testowych w dwóch różnych rozcieńczeniach, a mianowicie przy rozcieńczeniu 10^{-5} nie obserwowano występowania mozaiki zarówno na młodych

Tabela 4

Rozdzielanie kompleksu metodą rozcieńczenia

Rośliny	Średnia liczba plamek na liściach roślin testowych					
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
<i>Nicotiana glutinosa</i> liście młode	90 mozaika	40 mozaika	10 mozaika	4 mozaika	0,7 brak	0 brak
<i>Datura stramonium</i> liście młode	plamki mozaika	plamki mozaika	plamki mozaika	plamki mozaika	plamki brak	plamki brak
<i>Gomphrena globosa</i>	plamki	plamki	plamki	plamki	brak	brak

liściach *N. glutinosa* jak i na młodych liściach *Datura stramonium* oraz brak plamek na liściach *Gomphrena globosa*. W rozcieńczeniu zaś 10^{-7} nie wystąpiły objawy lokalne na żadnej z użytych roślin testowych. Wiadomo z literatury, że graniczny punkt rozcieńczenia dla wirusa ziemniaczanego X leży w zakresie 10^{-4} , a dla wirusa mozaiki tytoniu przy 10^{-7} [40]. Wyniki tych badań potwierdzają wnioski z poprzednich badań na podstawie których stwierdzono w soku chorych pomidorów wirus mozaiki tytoniu i wirus X ziemniaka.

ROZDZIELANIE KOMPLEKSU PRZY POMOCY RÓŻNEGO pH

Jak wiadomo obydwie wirusy występujące w soku chorych pomidorów różnią się znacznie wrażliwością na działanie kwasów i zasad. Zastosowano wobec tego metodę rozdzielania obu składników kompleksu za pomocą działania różnego pH [39, 40].

Sok wyciśnięty i odwirowany jak uprzednio mieszano z odpowiednimi buforami w stosunku 1 : 30. Przygotowano bufor o następującym pH:

- 8,6 glicyna + ług sodowy wg Sörensena i Clarka,
- 6,8 0,15 M bufor fosforanowy (kontrola),
- 2,2 glicyna + kwas solny wg Sörensena i Clarka.

Sok z chorych pomidorów zmieszany z odpowiednimi buforami w stosunku 1 : 30 przechowywano w temperaturze pokojowej, przy czym mieszaninę pierwszą o pH 8,6 przez 4 dni, drugą o pH 6,8 przez 24 godz. i przez 4 dni, a mieszaninę trzecią o pH 2,2 przez 24 godziny. Po upływie tego czasu wymienionymi mieszaninami inokulowano rośliny testowe *N. glutinosa*, *Gomphrena globosa* i *N. tabacum* (Samsun). Objawy powstające po inokulacji roślin świadczą o tym, że w środowisku kwaśnym ulega inaktywacji wirus ziemniaczany X, zaś w środowisku zasadowym wirus mozaiki tytoniu. Wyniki przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5

Rozdzielanie wirusów z kompleksu działaniem różnego pH

pH buforu	Roślina testowa		
	<i>N. glutinosa</i>	<i>Gomphrena</i>	Samsun
2,2	plamki	—	mozaika
6,8 (kontr.)	plamki	plamki	nekrozy mozaika
8,6	—	plamki	bez objawów

ROZDZIELANIE KOMPLEKSU DROGĄ INAKTYWACJI TERMICZNEJ

Sok z liści chorych roślin wirowano, a następnie pipetą nalewano po 2 ml soku do szklanych probówek, szczelnie zatykano i probówki umieszczano w łaźni wodnej o temp. 70-75°C przez 10 min. oraz inne probówki w temp. 95°C. również na 10 min. Po natychmiastowym ochłodzeniu pro-

bówek zawartość należy rozcieńczyć w stosunku 1 : 100 po czym inokulować liście *Nicotiana glutinosa* i *Datura stramonium*. Stwierdzono, że w badanym soku występują dwa komponenty każdy wrażliwy na inną temperaturę. Jeden z nich traci własności infekcyjne w temperaturze 70-74°C, a drugi dopiero w temperaturze 95°C, ponieważ objawy na roślinach testowych zależą od tego, który z komponentów jest obecny w soku (tab. 6). Na liściach *N. glutinosa* i *Datura stramonium* inokulowa-

Tabela 6

Rozdział wirusów z kompleksu metodą inaktywacji termicznej

Temperatura (°C)	Liście <i>Nicotiana glutinosa</i>		Liście <i>Datura stramonium</i>	
	inokulowane	wierzchołkowe	inokulowane	wierzchołkowe
70	plamki	mozaika	plamki	mozaika
75	plamki	brak	plamki	brak
90	plamki	brak	plamki	brak
95	brak	brak	brak	brak

nych sokiem podgrzewanym do temperatury 75°C ukazują się plamki nekrotyczne tylko na inokulowanych liściach, brak jest natomiast objawów systemicznych na liściach młodych. Na roślinach inokulowanych sokiem podgrzewanym do temperatury 95°C brak jest objawów pierwotnych w postaci plamek na inokulowanych liściach. Wiadomo, że wirus mozaiki tytoniu ulega inaktywacji w temperaturze 90-92°C, zaś wirus ziemniaczany X w temperaturze 68-74°C. [40, 62]. Uzyskane wyniki potwierdzają uprzednie wnioski, z których wynika, że choroba wywołana jest przez kompleks składający się z wymienionych wirusów.

BADANIA W MIKROSKOPIE ELEKTRONOWYM

Do badań zastosowano metodę bezpośredniego zanurzania skrawków chorych roślin w 1% wodnym roztworze octanu uranylu na siateczce, a następnie po wysuszeniu na powietrzu preparaty oglądano w mikroskopie elektronowym JEM-5Y przy napięciu przyspieszającym 80 KV. Na rysunkach 8, 9, 10 dają się wyróżnić dwa rodzaje cząsteczek wirusowych — typowe sztywne pałeczki z dobrze widocznym rdzeniem oraz cząsteczki nieco dłuższe i nitkowate. Wykonane pomiary pozwalają na zidentyfikowanie ich jako cząsteczek wirusa ziemniaczanego X o wymiarach około $518 \text{ m}\mu \times 10-11 \text{ m}\mu$ oraz cząsteczki wirusa mozaiki tytoniu o wymiarach $300 \text{ m}\mu \times 15 \text{ m}\mu$ [10, 40]. W literaturze podawane są różne wartości dla wymiarów tych wirusów, ale wszystkie są zbliżone do podanych powyżej [7, 8, 9, 10].

Na podstawie załączonych zdjęć można wnosić o koncentracji obu wirusów w tkankach chorych roślin. Wydaje się, że koncentracja ta jest

wysoka, ponieważ liczba cząsteczek w badanych preparatach wynosiła kilkadziesiąt a bardzo często w polu widzenia było ich po kilka (rys. 8, 9, 10). Takie synergiczne działanie wirusów jest znane i było opisywane w literaturze naukowej [35, 36, 64].

Wszystkie badania wykonano w Pracowni Mikroskopii Elektronowej Zakładu Anatomii Porównawczej UJ w Krakowie przy współpracy naukowej dr F. Kaczmarek.

BADANIA NAD USTALANIEM ŹRÓDŁA CHOROBY

BADANIE NASION

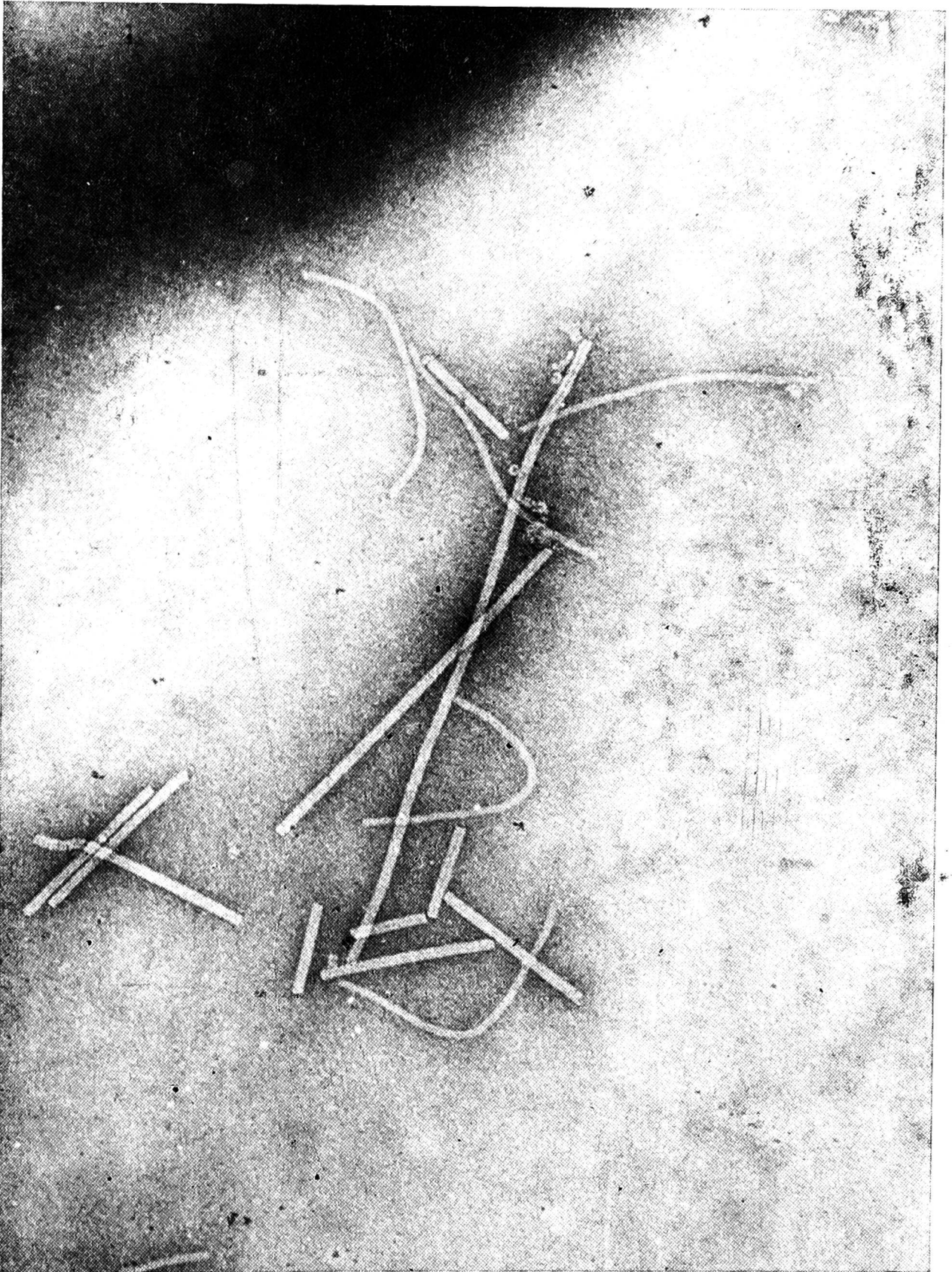
Ze względu na duże nasilenie choroby w szklarniach zachodziło podejrzenie, że pierwotnym źródłem zakażenia były nasiona. Dlatego też przebadano je na obecność wirusa mozaiki tytoniu. Nasiona odmiany Revermun wysiewano częściami po 100 sztuk na szalkach a po wykiełkowaniu przenoszono do naczyń z płynną pożywką, lub sadzono do doniczek ze sterylizowaną ziemią. Obserwacje wykonywano co kilka dni aż do momentu kwitnienia obserwowanych roślin. Wszystkie rośliny słabsze, wykazujące objawy słabej mozaiki, lub zwężenie blaszek liściowych, lub po prostu „podejrzane” były testowane na obecność wirusa mozaiki tytoniu na liściach *Nicotiana glutinosa*. We wszystkich testowanych przypadkach wyniki testów były negatywne. Ponadto w ciągu całego okresu obserwacji nie stwierdzono na badanych roślinach objawów występowania wirusa mozaiki tytoniu. Wydaje się więc, że zakażenie musiało przyjść inną drogą niż przez nasiona. Z literatury wiadomo, że nasiona mogą być pierwotnym źródłem infekcji wirusem mozaiki tytoniu [22, 40, 52, 60]. Jeżeli nasiona są zbierane z roślin chorych, to około dwóch procent tych nasion będzie zakażonych [40]. W żadnym z przeprowadzanych doświadczeń nie wystąpił wirus mozaiki tytoniu w nasionach.

BADANIE GLEBY JAKO ŹRÓDŁA CHOROBY

Zdrowe, wyhodowane w warunkach sterylnych rośliny pomidorów odmiany Revermun sadzono do doniczek wypełnionych ziemią przywiezioną ze szklarni produkcyjnych, w których wystąpiła choroba. Część roślin sadzono do ziemi parowanej, a część do ziemi nieparowanej. Rośliny rosły w jednakowych warunkach, a obserwacje przeprowadzano co kilka dni.

W grupie roślin rosnących w glebie przywiezionej ze szklarni, ale nieparowanej pierwsze objawy chorobowe wystąpiły mniej więcej w 13-16 dni po przeniesieniu roślin do doniczek wypełnionych taką nieparowaną glebą.

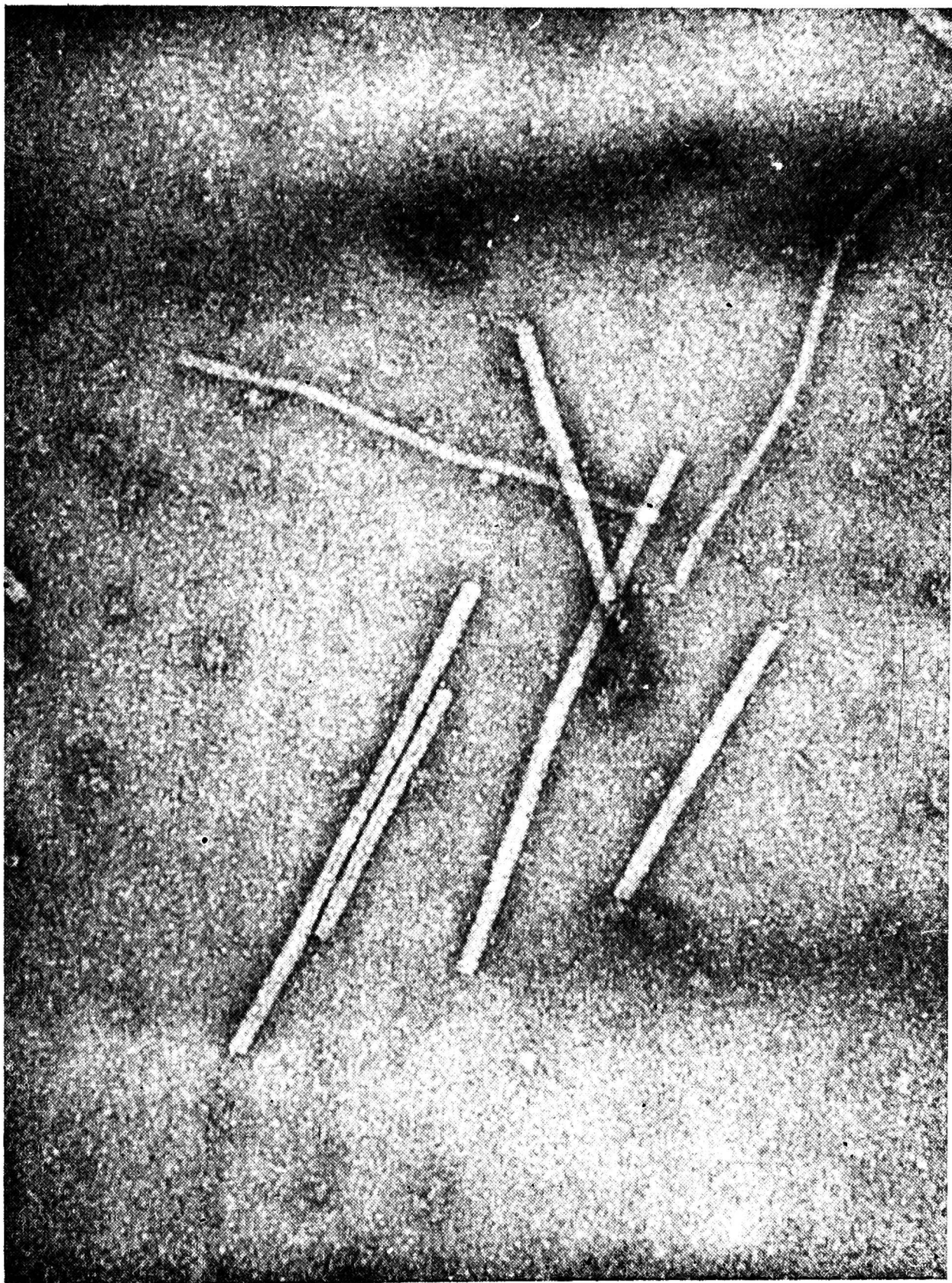
W grupie roślin rosnących w ziemi nieparowanej choroba wystąpiła w 30-50%. W innych powtórzeniach tego doświadczenia porażeniu uległo aż 70% roślin.



Rys. 8. Cząsteczki wirusów obecne w soku chorych pomidorów, widziane w mikroskopie elektronowym (pow. $3,5 \times 29\ 000$)



Rys. 9. Cząsteczki wirusów obecne w soku chorych pomidorów, widziane w mikroskopie elektronowym (pow. $3,5 \times 29\ 000$)



Rys. 10. Cząsteczki wirusów obecne w soku chorych pomidorów, widziane w mikroskopie elektronowym (pow. $3,5 \times 52\,000$)

W grupie roślin rosnących w ziemi przywiezionej ale parowanej nie stwierdzono występowania choroby.

Uzyskane wyniki (tab. 7) sugerują, że choroba mogła być przeniesiona

Zestawienie wyników badania gleby jako źródła infekcji

Tabela 7

Ziemia	Liczba roślin		%
	wysadzonych	zakażonych	
Nieparowana	35	19	54,3
	35	10	28,5
	35	26	74,3
	35	13	37,1
Parowana	35	0	
	35	0	
	35	0	
	35	0	

przez glebę znajdującą się w szklarniach produkcyjnych, gdzie często sadi się te same odmiany roślin. Wydaje się, że w tym przypadku źródłem choroby mogą stać się resztki zakażonych roślin, które nie ulegają rozkładowi, zwłaszcza jeżeli gleba nie jest parowana, lub parowana w sposób niewystarczający.

W szklarniach produkcyjnych, w których uprawia się kilkanaście tysięcy roślin wystarczy, że tylko kilka z nich ulegnie zakażeniu, a rozprzestrzenianie się infekcji dokonane zostanie przez personel pracujący w szklarni. Łatwość przenoszenia obu składników występującego kompleksu, oraz ich duża trwałość ułatwia rozprzestrzenianie się choroby.

DYSKUSJA

Na podstawie uzyskanych wyników chorobę występującą na pomidorach w szklarniach Gospodarstwa Ogrodniczego w Tychach zaliczyć należy do chorób wirusowych wynikających z synergistycznego działania dwu różnych wirusów, a mianowicie: wirusa mozaiki tytoniu i wirusa X ziemniaka. Chorobę powodowaną przez wymieniony kompleks nazwano chorobą ostrej smugowatości pomidorów, lub podwójno wirusową smugowatością pomidorów. Występować może ona zarówno w warunkach naturalnych w uprawach polowych jak i w szklarniach, a także może być wywoływana sztucznie. Ostra smugowatość pomidorów prowadzić może do dużych strat w uprawach. Ze względu na dużą infekcyjność obu wirusów i łatwość przenoszenia się ich z rośliny na roślinę, zwłaszcza w warunkach upraw intensywnych, kiedy rośliny sadzone są kilka razy do roku w tych samych szklarniach bezpośrednio po sobie, choroba może wystąpić epidemicznie. Niebezpieczeństwo powiększa fakt, że oba wirusy

mogą stanowić źródło infekcji nawet przez dłuższy czas w resztkach roślin pozostających w ziemi. Choroba ta częściej występuje w szklarniach, co wiąże się z czynnikami już wymienionymi.

Dotychczasowe wyniki badań związane z identyfikacją choroby są w zasadzie jednoznaczne. Należy jednak podkreślić, że wskutek trudności występujących w czasie identyfikacji, należało przeprowadzić badania kilkoma metodami równocześnie. Posługiwanie się tylko jedną metodą identyfikacji jest niewystarczające i nie może dać gwarancji prawidłowej interpretacji wyników a prowadzić może do poważnych wątpliwości. Stwierdzono bowiem w czasie pracy, że niektóre objawy występujące na roślinach testowych np. na tytoniu odm. White Burley mogły budzić zastrzeżenia i wątpliwości, że podobne plamki (rys. 6) wywołane zostały obecnością innego wirusa. W przypadku oznaczania tej choroby badania wymagają zarówno dużego doświadczenia jak też i odpowiednich warunków, zwłaszcza do testowania roślin, ponieważ objawy ukazujące się na roślinach testowych zależą od wielu czynników zewnętrznych, co z kolei może mieć zasadniczy wpływ na charakter tych objawów, a w konsekwencji i na końcowe rezultaty i interpretację wyników badań. Wiadomo również, że wiele podobnych, lub zbliżonych objawów mogą wywoływać inne wirusy, lub ich szczepy jak też inne kompleksy np. wirus mozaiki tytoniu i wirus mozaiki ogórka [26]. W zasadzie identyfikacja tej choroby jest możliwa za pomocą takich roślin testowych jak *N. glutinosa* i *Datura stramonium*, ponieważ obie rośliny reagują lokalnie na zakażenie wirusem mozaiki tytoniu, a systemicznie na wirusa ziemniaczanego X. Jednakże obecność wirusa ziemniaczanego X w liściach wierzchołkowych tych roślin wymaga potwierdzenia na innych roślinach wskaźnikowych.

Z moich badań wynika, że bezpośrednie przeniesienie kompleksu z pomidorów na liście *Gomphrena globosa* nie może być wystarczające dla identyfikacji kompleksu, ponieważ pojedyncze plamki wycinane z liści tej rośliny zawierały zawsze oba wirusy kompleksu. Wyniki uzyskane w toku powyższych doświadczeń są sprzeczne z doniesieniami Goldina, który uzyskał rozdział wirusa ziemniaka X od wirusa mozaiki tytoniu na liściach *Gomphrena globosa*. Niestety w moich doświadczeniach bezpośrednie przeniesienie kompleksu ostrej smugowatości pomidora na liście *Gomphrena globosa* nie dało pozytywnych rezultatów. Pomimo wielokrotnego powtarzania reizolacji pojedynczych plamek z liści tej rośliny zawsze zawierały one obydwie wirusy tego kompleksu. Być może wirus mozaiki tytoniu jest obecny na powierzchni plamek a nie wewnątrz tkanek tworzących plamkę. Podobną reakcję na inokulację sokiem chorych pomidorów wykazała *Datura stramonium*. Młode liście tej rośliny z objawami delikatnej mozaiki inokulowane na *Nicotiana glutinosa* dawały reakcję pozytywną zarówno na obecność wirusa mozaiki tytoniu jak i wirusa X ziemniaka. Jak stwierdzono dopiero dwu,

lub nawet trzykrotne pasażowanie przez rośliny selektywne (filtrujące) umożliwiło całkowity rozdział tych wirusów z kompleksu. Dlatego więc przy badaniach identyfikacyjnych należy uzyskać potwierdzenie innymi metodami. Niestety zabiera to wiele czasu i nie zawsze jest szybką metodą identyfikacji.

Rozdzielanie kompleksu na zasadzie działania różnego pH (traktowanie soku chorych roślin kwasem lub zasadą) dawało również pozytywne wyniki, ale metoda ta nie jest szybka i wymaga potwierdzenia na roślinach wskaźnikowych.

Względnie szybko i dobre wyniki uzyskano stosując badania serologiczne i wytrącanie z soku chorych roślin wirusów przy pomocy surowic. Metoda ta oprócz dużej prostoty ma i tę zaletę, że pozwala na ujawnienie obecności innego wirusa, który mógłby być obecny w badanym soku. Metoda ta umożliwia bezpośrednie stwierdzenie obecności wirusów w badanym soku chorych roślin (nie tylko na podstawie objawów).

Bezpośredni dowód obecności dwóch różnych wirusów w soku badanych roślin wirusa mozaiki tytoniu i wirusa X ziemniaka dały również badania wykonane w mikroskopie elektronowym. Metoda ta jest znana w literaturze [7-11] i stosunkowo szybka, bo już po kilku godzinach znamy wynik badania. Reasumując wyniki badań wykonanych na roślinach testowych, badań serologicznych oraz badań w mikroskopie elektronowym można stwierdzić, że były one jednoznaczne, a potwierdzone przez badania rozdzielające kompleks umożliwiły właściwą interpretację uzyskanych wyników. Pozytywna reakcja serologiczna z surowicą anti-X i anti-TMV świadczy o obecności tych wirusów w soku chorych roślin. Bezpośrednim dowodem występowania obu tych wirusów są również zdjęcia wykonane w mikroskopie elektronowym, łatwe do interpretacji, ponieważ występujące na nich dwie różne cząsteczki wirusowe, różnią się kształtem i grubością.

Wyniki uzyskane przez Brčaka [11], który metodę badań w mikroskopie elektronowym zastosował do identyfikacji wirusów TMV i PVX w soku tytoniu sztucznie zakażonym, potwierdzone zostały w toku niniejszych badań i udowodniły możliwość i skuteczność użycia tej metody do badań identyfikacyjnych.

Źródłem infekcji w badanym przypadku wydaje się być ziemia w szklarni, w której gromadzą się resztki chorych roślin. Rozprzestrzenianie się choroby dokonuje się głównie przez zabiegi pielęgnacyjne osób pracujących w szklarniach, jak również za pośrednictwem narzędzi. Z literatury wiadomo, że wirus mozaiki tytoniu może być przenoszony na rękach, włosach i ubraniu ludzi, co w połączeniu z trwałością tego wirusa stwarza prawie nieograniczone możliwości przenoszenia go [12, 14-17, 19, 21]. Wirus ziemniaka X jest łatwo przenoszony również mechanicznie. Jak stwierdzono, w badanym przypadku choroba nie była przenoszona przez nasiona, chociaż w literaturze są doniesienia o możli-

wości przenoszenia się wirusa mozaiki tytoniu przez nasiona [22, 52, 60]. Jak dotąd stwierdziłam istnienie tylko jednego doniesienia w piśmiennictwie polskim na temat występowania smugowatości podwójnowirusowej w Polsce [62]. Chorobę tę stwierdzono w jednej szklarni w woj. Poznańskim w 1964 roku.

Według badaczy angielskich [1, 34] smugowatość podwójnowirusowa występuje bardzo rzadko na terenie Angli. Natomiast w Finlandii Linnasalmi (cyt. za 62) choroba ta występuje tak często jak choroby wywołane przez sam wirus mozaiki tytoniu.

W Jugosławii stwierdzono również występowanie ostrej smugowatości wywoływanej przez kompleks wirusa mozaiki tytoniu i wirusa ziemniaczanego X. Na terenie Niemiec w 1952 r. Uschdraweit [64] stwierdził występowanie tej choroby, chociaż częściej podobne objawy na pomidorach w Niemczech wywoływane były przez wirusa mozaiki tytoniu i wirusa mozaiki ogórka.

Według autorów amerykańskich chorobę ostrej smugowatości pomidorów opisali po raz pierwszy Howitt i Stone w 1916 roku. Pierwsza zaś krytyczna rozprawa na temat tej choroby dokonana została dopiero w 10 lat później w 1926 r. przez Vanterpool'a, który opisał cały zespół objawów tej choroby i przypisał ją działaniu dwu różnych wirusów, a mianowicie wirusowi mozaiki tytoniu i wirusowi ziemniaczanemu X. Od tego też czasu datują się dalsze doniesienia potwierdzające dotychczasowe spostrzeżenia i dostarczające dalszych dowodów na podwójnowirusowy jej charakter [53].

Z wielu doniesień naukowych wynika, że podobne objawy smugowatości mogą być również spowodowane przez szczepy wirusa mozaiki tytoniu [1, 2, 6] jak też, przez kompleksy złożone z wirusa mozaiki tytoniu i wirusa mozaiki ogórka [26], a także przez wirusa brązowej plamistości pomidora [57]. Uschdraweit [64] natomiast donosi, że w Niemczech smugowatość podwójnowirusowa powodowana jest przez wirus mozaiki tytoniu i wirus mozaiki ogórka.

LITERATURA

1. Ainsworth G. C.: An investigation of tomato virus disease of the mosaic "stripe" streak group. *Ann. app. Biol.* 1933, t. 20; 1. s. 421-428
2. Ainsworth G. C., Berkeley G. H., Caldwell J.: A comparison of English and Canadian tomato virus diseases. *Ann. appl. Biol.* 1934, t. 21, s. 566-580
3. Ainsworth G. C.: Enation mosaic of tomato caused by a virus of the tobacco virus 1 type. *Ann. appl. Biol.* 1937, t. 24, s. 545-556
4. Bald J. G., Paulus O. A.: Field occurrence of tobacco mosaic virus in tomato and *Chenopodium murale*. *Phytopath.* 1960, t. 50, s. 628
5. Bancroft J. B., Pound G. S.: Cumulative concentrations of tobacco mosaic virus in tobacco and tomato at different temperatures. *Virology* 1956, z. 2, s. 29-56

6. Berkeley G. H., Phillips J. H.: Tobacco streak. *Can. J. Res.* 1943, t. 21, s. 181-190
7. Brandes J.: Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden-undstäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. *Nachr. Bl. dt. Pfl. Schutzdienst, Braunschweig.* 1957, z. 9, s. 151-152
8. Brandes J., Paul H. L.: Das Elektronenmikroskop als Hilfsmittel bei der Diagnostik pflanzlicher Virose. Betrachtungen zur Vermessung faden-und stäbchenförmiger Virusteilchen, *Arch. mikrobiol.* 1957, t. 26, s. 358-368
9. Brandes J., Bercks R.: Gross morphology and serology as a basis for classification of elongated plant viruses. *Adv. Virus Res.* 1965, t. 11, s. 1-24
10. Brandes J.: Identifizierung von gestreckten pflanzenpathogenen Viren auf morphologischer Grundlage. *Mitt. biol. Bund. Anst. Ld-u-Forstw.* 1964, z. 110, s. 1-130
11. Brčak J.: Biologische und elektronenmikroskopische Bestimmung der schweren Strichelkrankheit der Tomate. *Biol. Plant.*, 1961, z. 3, s. 285-290
12. Broadbent L., Martini C.: The spread of plant viruses. *Adv. Virus Res.* 1959, t. 6, s. 93-135
13. Broadbent L.: The epidemiology of tomato mosaic. A review of the literature. *A. Rep.* 1960, *Glas. Crops Res. Inst.* 1961, s. 96-116
14. Broadbent L.: The epidemiology of tomato mosaic. II. Smoking tobacco as a source of virus. *Ann. appl. Biol.* 1962, t. 50, s. 461-466
15. Broadbent L.: The epidemiology of tomato mosaic. III. Cleaning virus from hands and tools. *Ann. appl. Biol.* 1963, t. 52, s. 225-232
16. Broadbent L.: The epidemiology of tomato mosaic. IV. Persistence of virus on clothing and glasshouse structures. *Ann. appl. Biol.* 1963, t. 52, s. 233-241
17. Broadbent L., Cooper W. J.: The epidemiology of tomato mosaic. VI. The influence of tomato mosaic on root growth and the annual pattern of fruit production. *Ann. appl. Biol.* 1964, t. 54, s. 31-43
18. Broadbent L.: The epidemiology of tomato mosaic. VII. The effect of TMV on tomato fruit yield and quality under glass. *Ann. appl. Biol.* 1964, t. 54, s. 209-224
19. Broadbent L.: The epidemiology of tomato mosaic. VIII. Virus infection through tomato roots. *Ann. appl. Biol.* 1965, t. 55, s. 57-66
20. Broadbent L.: The epidemiology of tomato mosaic. IX. Transmission of TMV by birds. *Ann. appl. Biol.* 1965, t. 55, s. 67
21. Broadbent L., Read W. H., Last F. T.: The epidemiology of tomato mosaic X. Persistence of TMV-infected debris in soil and the effects of soil partial sterilization. *Ann. appl. Biol.* 1965, t. 55 s. 471, 483
22. Broadbent L.: The epidemiology of tomato mosaic. XI. Seed transmission of TMV. *Ann. appl. Biol.* 1965 t. 56, s. 177-205
23. Broadbent L., Flechter J. T.: The epidemiology of TMV in commercial tomato crops under glass. *Ann. appl. Biol.* 1966, t. 57, s. 113-120
24. Canova A.: Ricerche intorno ad una virosi del pomodoro (mal della striscia). Individuazione dell'agente infettivo. *Phytopath. Z.* 1957 t. 28 s. 343-352
25. Denby L. G., Wilks J. M.: The effect of tobacco mosaic virus on the yield of field tomatoes as influenced by sprays of milk and dross. *Can. J. Pl. Sci.* 1963, t. 43, s. 457, 461
26. Doolittle S. P., Aleksander L. J.: Injury to greenhouse tomatoes as a result of a combined infection with the viruses causing tomato and cucumber mosaic virus. *Phytopath.* 1936, t. 26, s. 920-923
27. Goldin M. I.: O reakcji *Gomphrena globosa* na wirus mozaiki tytoniu. *Wopr. Wirus.* 1957, z. 2, s. 168-171

28. Gubański M., Moycho W., Miazek T.: Dynamika rozprzestrzeniania się wirusa mozaiki tytoniowej na plantacjach pomidorowych. *Acta agrobot.* 1962 t. 12, s. 275-280
29. Gubański M.: Inhibitor wirusa mozaiki tytoniowej ze sporyszu. (*Claviceps purpurea*). *Acta Soc. Bot. Pol.* 1964, t. 33, s. 645-659
30. Holmes F. O.: Internal-browning diseases of tomato caused by strains of tobacco mosaic virus from Plantago. *Phytopath.* 1950, t. 40, s. 487-492
31. Holmes F. O.: Inheritance of resistance to infection by tobacco mosaic virus in tomato. *Phytopath.* 1954, t. 44, s. 640-642
32. Holmes F. O.: True-breeding resistance in tomato to infection by tobacco mosaic virus. *Phytopath.* 1957, t. 47, s. 16-17
33. Howitt J. E., Stone F. E.: A troublesome disease of winter tomatoes. *Phytopath.* 1916, t. 6, s. 162-166
34. Jarret P. H.: Streak — A virus disease of tomatoes. *Ann appl. Biol.* 1930, t. 17, s. 248-259
35. Jankowski F., Gajos Z.: Objawy synergizmu wirusa Yⁿ z wirusami: XV, TMV, CMV i LMV na tytoniu i roślinach testowych. *Biul. Cent. Lab. tyton.* 1967 z. 3/4, s. 29-42
36. Jankowski F., Gajos Z.: Występowanie wirusa mozaiki tytoniu (TMV) w kompleksie z wirusem nekrozy nerwów tytoniu (Yⁿ) i sposób odzyskiwania wirusa Yⁿ. *Zesz. probl. Post. Nauk. rol.* 1969 z. 94, s. 141-150
37. Jermoljev E., Hruška K.: Sérologická metoda urcovani virovych chorob u brambor. *Sb. v ýzk. úst. zeměd. sv.* 1947, s. 178
38. Juraszek H.: Choroby wirusowe pomidorów szklarniowych. *Prz. Ogród.* 1952, t. 12, s. 21-23
39. Kausche G. A.: Über die Trennung von Virusgemischen auf Grund der unterschiedlichen Säuren-Basenempfindlichkeit ihrer Komponenten. *Angew. Bot.* 1938, t. 20, s. 246-256
40. Klinkowski M.: *Pflanzliche Virologie.* Akad. Verlag Berlin 1954
41. Kochman J., Stachyra T.: Materiały do poznania chorób wirusowych w Polsce. *Roczn. Nauk rol.* 1957, A2 t. 77, s. 297-325
42. Kunkel L. O.: Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. *Phytopath.* 1934, 24:437-466
43. MacNeil B. H.: Studies on the virus-streak syndrome in tomatoes. *Can. J. Bot.* 1960, t. 38, s. 9-20
44. MacNeil B. H.: Specialized forms of the tobacco mosaic virus tomatoes in the United Kingdom. *Can. J. Bot.* 1963. t. 41, s. 1603-1604
45. McRitchie J. J.: Four pathogenic strains of TMV on tomato. *Phytopath.* 1960, t. 50, s. 645
46. Melchers G., Schramm G., Trurnit H., Friedrich-Frekša H.: Die biologische und elektronenmikroskopische Untersuchung eines Mosaikvirus aus Tomaten. *Biol. Zbl.* 1940, t. 60, s. 524-556
47. Moycho W., Gubański M., Rennert A.: Wyciągi z porostu *Cetraria islandica* — inhibitorem wirusa mozaiki tytoniowej. *Acta Soc. Bot. Pol.* 1959, t. 28, s. 185-193
48. Moycho W., Gubański M., Fromaides B., Lemańska M., Wajsbard E.: Występowanie wirusa mozaiki tytoniowej na plantacjach pomidorów miasta Łodzi i okolicy. *Post. Nauk rol.* 1960, nr 1, s. 79-82
49. Moycho W., Gubański M.: Z badań nad chorobami wirusowymi pomidorów, *Roczn. Nauk rol.* 1961, t. 84 A, s. 551-561
50. Moycho W., Niemyski K.: Wpływ porażenia wirusem mozaiki tytoniowej na plon i skład chemiczny pomidorów. *Acta agrobot.* 1962, t. 12, s. 261-275
51. Nieć H.: Produkcja warzyw w szklarniach i inspektach. W-wa PWRiL 1956

52. Niemyski K.: Inaktywowanie wirusa mozaiki tytoniu w nasionach pomidorów. Acta agrobot. 1963. t. 14, s. 233-244
53. Quanjer H. M., Silberschmidt K.: Über eine Komplexe Virus-Krankheit der Tomate, Phytopath. Z. 1932, z. 1 s. 75-83
54. Rast A. T. B.: A yellow ringspot strain of tobacco mosaic virus (TMV) from tomato. Neth. J. Pl. Path. 1965, t. 71, s. 91-93
55. Rębowska Z.: Wstępne badania nad wirusem mozaiki tytoniowej (TMV) na pomidorach. Acta microb. pol. 1958, t. 7, s. 245-248
56. Smith K. M.: Experiments with a mosaic disease of tomato. Ann. appl. Biol. 1928, t. 15, s. 155-167
57. Smith K. M.: Spotted wilt: an important virus disease of the tomato. J. Min. Agric. 1933, t. 39, s. 1097-1103
58. Smith K. M.: Two strains of streak: a virus affecting the tomato plant. Parasitology 1935 t. 27, s. 450-460
59. Smith K. M.: Textbook of plant virus diseases. Boston 1957
60. Taylor R. H., Grogan R. G., Kimble K. A.: Transmission of tobacco mosaic virus in tomato seed. Phytopath. 1961, t. 51. s. 837-842
61. Twardowicz-Jakuszowa A.: Zwalczenie chorób wirusowych pomidorów szklarniowych. Biul. Inst. Ochr. Rośl. 1961, t. 12, s. 109-128
62. Twardowicz-Jakuszowa A.: Badania nad chorobami wirusowymi pomidorów szklarniowych, występującymi w niektórych gospodarstwach ogrodniczych na terenie Poznania i okolicy. Pr. nauk. Inst. Ochr. Rośl. 1970, t. 12, s. 99-180
63. Uschdraweit H. A.: Viruskrankheiten der Tomaten. Phytopath. Z. 1951, t. 18, s. 231-245
64. Uschdraweit H. A.: Die Bedeutung des Tabakmosaikvirus und des Kartoffel-X-Virus für den Tomatenanbau. Angew. Bot. 1952, t. 26, s. 118-129
65. Vanterpool T. C.: Streak of winter blight of tomato in Quebec. Phytopath. 1926, t. 16, s. 311-331

Люцина Вайда

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСНОЙ БОЛЕЗНИ, ПОЯВЛЯЮЩЕЙСЯ НА ВЫРАЩИВАЕМЫХ В ТЕПЛИЦЕ ТОМАТАХ

Резюме

В ходе проводимых исследований идентифицирована болезнь, появляющаяся в теплицах Огороднического комбината в Тыхах, как двувирусная болезнь, вызванная комплексом вируса мозаики табака и X вируса картофеля. Болезнь называется: двойной стрик томата. Идентификация проводилась по биологическим и серологическим методами, а также в электронном микроскопе. Распределение вирусов из комплекса проведено по методу разбавлений, действием температуры и разным рН. Представлены обзор литературы и критическая оценка примененных исследовательских методов.

В ходе исследований исключены как источник болезни семена, а подтверждена инфекция из почвы, находящейся в теплице.

Lucyna Wajda

IDENTIFICATION OF VIRAL DISEASE APPEARING ON GLASSHOUSE TOMATO CULTURES

S u m m a r y

The disease occurring in the glasshouses of the Gardening Centre in Tychy was identified as a double-virus disease caused by the complex of tobacco mosaic virus and potato virus X. The disease is known as tomato double virus streak. The disease was identified by biological, serological and electron microscopic methods. The viruses from the complex were separated by the method of dilutions, the action of temperature and changing of pH. A literature review is given and critical evaluation of the methods applied.

In the course of the investigations seeds as source of infection were ruled out, and it was established that the infection came through the soil in the glasshouse.