

LYCOPERSICUM-VIRUS 3 (TOMATO SPOTTED WILT VIRUS),
OORZAAK VAN EEN ZIEKTE BIJ NICOTIANA TABACUM
EN IMPATIENS HOLSTII¹⁾

*With a summary: Lycopersicum-virus 3 (Tomato spotted wilt virus),
on Nicotiana tabacum and Impatiens holstii*

DOOR

G. DE BRUIN-BRINK²⁾, H. P. MAAS GEESTERANUS³⁾ en Dr D. NOORDAM⁴⁾

1. OPTREDEN VAN LYCOPERSICUM-VIRUS 3 BIJ *Nicotiana Tabacum* IN KASSEN EN
BESCHRIJVING VAN DE ZIEKTEBEELDEN

Gedurende enige jaren reeds hadden wij in de proefkassen te Baarn zeer veel last van een rottingsziekte van bladeren van tabak (*Nicotiana tabacum*), die binnen korte tijd de gehele plant aantastte en doodde. De snelle afsterving leek op een aantasting door *Botrytis cinerea*, hoewel de schimmel daarop zeer zelden werd gevonden. Daar in dezelfde kas gewerkt werd met *Lycopersicum-virus 3* op *Sinningia* (Gloxinia), *Richardia* en *Hippeastrum* vermoedden wij dat de necrose op de tabak veroorzaakt werd door hetzelfde virus. Al spoedig bleek dat dit werkelijk de oorzaak van deze verrotting van het tabaksblad was. Later is dit nog duidelijker aangetoond door inoculatie op verschillende toetsplanten evenals door bepaling van de verdunningsgrens en de inactivering van het virus in het sap bij bewaring en bij verhitte.

De beschrijving van de symptomen, zoals die in 1943 te zien waren, is als volgt:

Bij jonge planten begint de aantasting in de top. Langs hoofd- en zijnerven van de bladeren treedt plaatselijk zwartgrijze necrose op; de fijnere nerven vormen een duidelijk zichtbaar zwart-grijs netwerk.

De allerjongste blaadjes krijgen een droog viltachtig uiterlijk door het ontbreken van klierafscheiding. De top van dergelijke blaadjes sterft in, waardoor de nerf naar boven omkrult. Lager zittende bladeren beginnen af te sterven met de vorming van grote necrotische vlekken, die vaak geringd zijn, of omgeven door een hel gele chlorotische strook. De uitbreiding van de vlekken verloopt vooral langs de nerven (Fig. 1). De ene helft van het blad sterft dikwijls eerder af dan de andere. Langs de stengel lopen grijze stroken en vlekken op tijgering gelijkend. De afgestorven bladeren drogen op en hangen slap naar beneden. De top van de plant is omgebogen. Dit typische symptoom is eveneens beschreven door MOORE (1933) onder de naam van „Kromnek”. De uitgelopen okselknoppen zijn gezond. De plant sterft echter in vele gevallen af als gevolg van de aantasting van de stengel.

Bij overwinterde oude tabaksplanten schijnt de aantasting iets anders te ver-

¹⁾ Ontvangen voor publicatie Febr. 1953.

²⁾ Voormalig assistente bij het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten” te Baarn.

³⁾ Biologisch candidaat, werkende in het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten” te Baarn.

⁴⁾ Onderzoeker bij het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, destijds gedetacheerd bij het Proefstation voor de Bloemisterij te Aalsmeer.

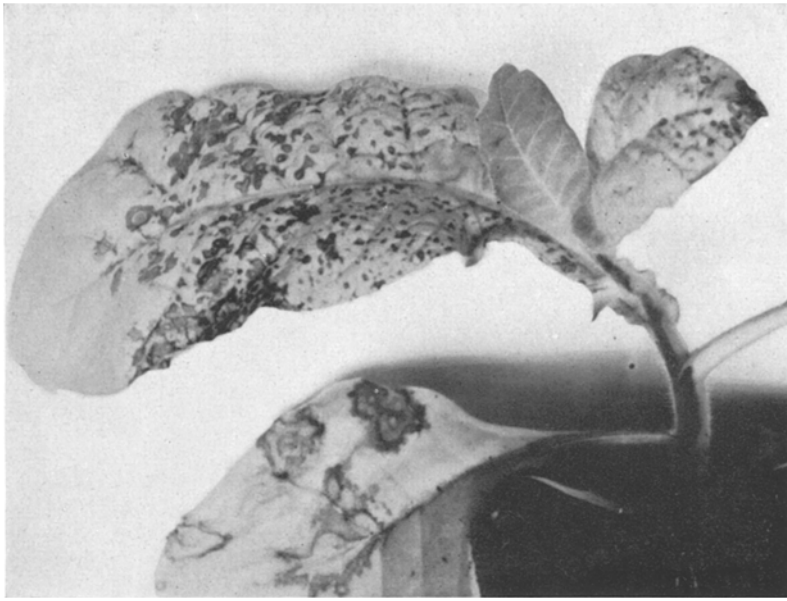


Fig. 1

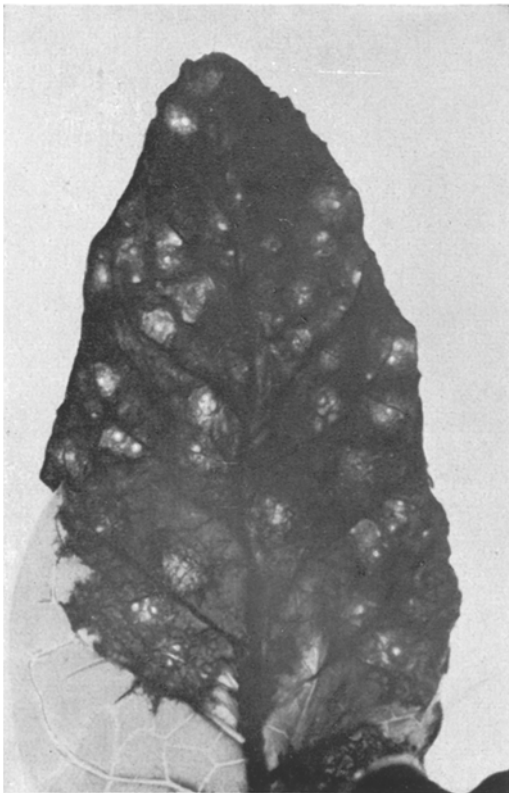


Fig. 2



Fig. 3

Fig. 1-4 *Nicotiana tabacum*.

Fig. 1. Locale reactie en spreidsymptomen na inoculatie met *Lycopersicum-virus 3*.
Inoculation with Lycopersicum virus 3. Local and systemic reaction.

Fig. 2. Gedeeltelijk verdord geïnoculeerd blad, waarop de heldere infectiepunten duidelijk zichtbaar zijn (Doorvallend licht).
Partly withered inoculated leaf on which clear infected points are distinctly visible (Transmitted light).

Fig. 3. Gedeelte van een blad met een necrose van donkere en lichte ringen.
Part of a leaf with a necrosis with dark and light ring pigmentation.

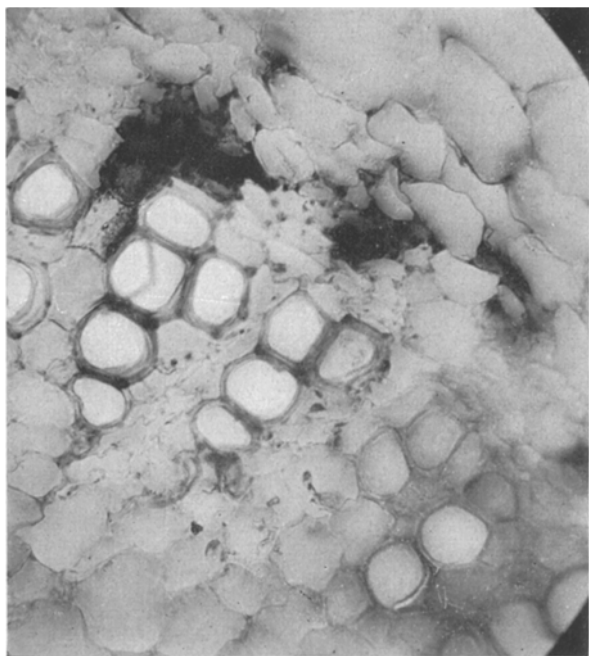


Fig. 6

Fig. 4



Fig. 5a



Fig. 5b



Fig. 8

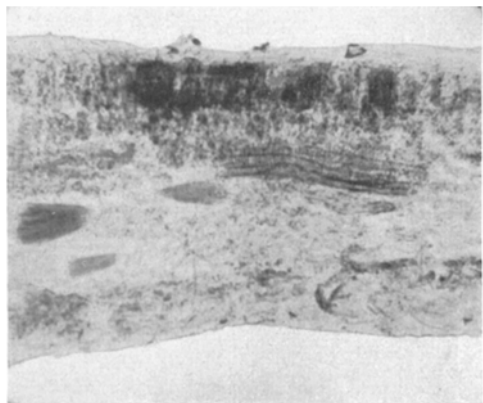
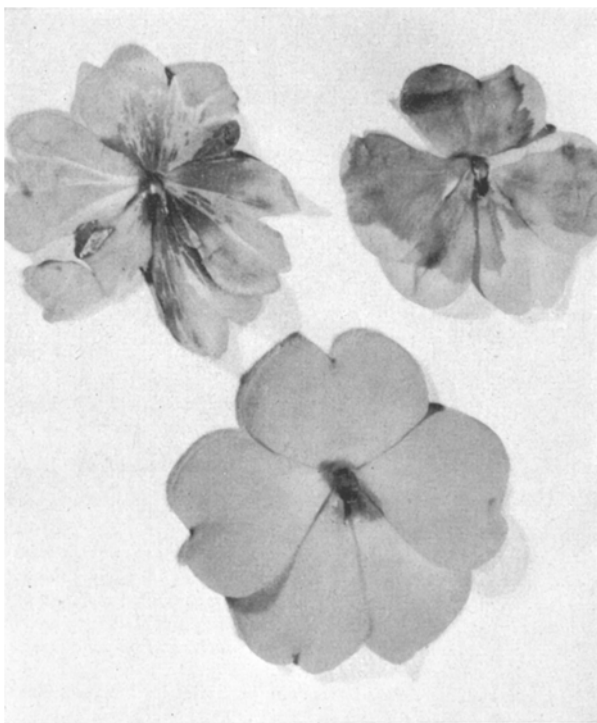


Fig. 7



lopen. Daar beginnen de symptomen op de oudste bladeren. Deze worden plotseling geel of vertonen grote ronde, of langs de rand van het blad, half cirkelvormige necrotische vlekken met een chlorotische omranding. Ook hier volgt spoedig afsterving, vaak eerst van de ene helft van het blad. De afsterving geschiedt achtereenvolgens van lager naar hoger zittende bladeren. Een enkele maal vertoont een hoog zittend blad fijne nerven, die necrotisch zijn. De okselspruiten zijn oorspronkelijk weer gezond, later krijgen zij dezelfde verschijnselen. Langs de stengel lopen grijze, vaak onderbroken stroken. De planten hebben naar verhouding van hun grootte een klein wortelstelsel. De aantasting leidt minder tot afsterving dan bij jonge planten.

2. ZIEKTEVERSCIJNSELEN BIJ *Nicotiana tabacum* NA SAPINOCULATIE

Onderstaande beschrijving van ziektesymptomen is gemaakt aan de hand van verschijnselen, die optraden in één der kassen van het Phytopathologisch Laboratorium te Baarn gedurende de maanden Augustus tot December 1950 na sapinoculaties op *Nicotiana tabacum* met perssap van *Hippeastrum hybridum* en *Impatiens holstii*, die beide door *Lycopersicum-virus 3* waren aangetast.

Als eerste ziekteverschijnsel na de inoculatie vormt zich op de bovenzijde van het blad een inzinking, meestal niet groter dan 2 mm, die donkerder groen gekleurd is dan zijn omgeving. Hier sterven de cellen van het palissadenparenchym af. Daarna wordt het sponsparenchym aangetast en gaat ook te gronde, waarop na verloop van tijd deze vlek necrotisch wordt. Proeven, in September gedaan, lieten 3–5 dagen na inoculatie een necrotische plek zien, terwijl in December zeer lang een ronde vlek zichtbaar bleef, die in het geheel niet of pas veel later in het centrum necrotisch werd.

Het punt van infectie is altijd helder (Fig. 2), terwijl de rest van de necrose donkerder bruin gekleurd is. In de langzaam groter wordende necrotische vlek tekenden zich in December lichtere, in September donkerdere ringen af; de vlek zelf was in December lichter dan in September. Dat de daglengte niet van invloed is op de kleur van necrose bleek bij een proef, waarbij de Decemberplanten met

Fig. 4. Phloëem necrose in een bladnerf van *Nicotiana tabacum*
Phloëmnecrosis in a leaf-vein of Nicotiana tabacum

Fig. 5–8. *Impatiens holstii*.

Fig. 5. a. Normaal blad. b. Blad van zieke plant: bij bladbasis en hoofdnerf geel-groen; twee donkerder groene vlekken. Blad sterk glimmend.

a. Leaf of healthy plant. b. Leaf of a diseased plant: Base of the leaf blade and midrib yellow-green; two darker green spots. Leaf strongly gleaming.

Fig. 6. Blad van zieke plant: zwarte concentrische kringen of evenwijdig lopende lijnen. Tussen deze zwarte necrose wordt het weefsel geel en bruin.

Leaf of a diseased plant: black concentric or parallel lines. The tissue between this black necrosis becomes yellow and brown.

Fig. 7. Dwarsdoorsnede van blad met necrose als in fig. 6. De palissaden-parenchymcellen zijn gevuld met een bruine massa.

Cross-section of a leaf with necrosis as fig. 6. The palissadeparenchyma cells are filled with a brown mass.

Fig. 8. Boven: bloemen van zieke plant: onregelmatig van vorm, naast vermiljoenrood zijn de bloemen paars. Linker bloem bovendien bleek vermiljoenrood en wit. Onder: normale, vermiljoenrode bloem.

Top: flowers of a diseased plant; irregular shape. Beside vermillion the flowers are violet. Left flower moreover pale vermillion and white. Bottom: normal flower, vermillion.

TL-buizen bijbelicht werden tot 12 uur licht per etmaal. De waarneming over het kleurverschil, wellicht ten gevolge van veel of weinig zonlicht, zijn in overeenstemming met mededelingen van BEST (1936), DUFRENOY (1937) en NORRIS (1946).

In September werd op enkele bladeren elke dag aangetekend, hoever de necrose gevorderd was, om te zien of de concentrische ringen verband hielden met de periodiciteit van dag en nacht, maar dit kon op deze manier niet worden aangetoond.

Van het infectiepunt uit breidt de necrotische vlek zich in alle richtingen met gelijke snelheid uit, maar in de nerven sneller, waardoor de vlek stervormig wordt (Fig. 3). In de nerven wordt het phloëem het eerste aangetast (Fig. 4). Vervolgens blijken de cellen tussen de houtvaten te verschrompelen en zich met een bruine massa te vullen. Daarna worden de houtvaten zelf verstopt, wat het verdorren van het apicale deel van het blad ten gevolge heeft.

In de hoofdstengel werd in dieper naar binnen gelegen weefsel een vlek waargenomen bestaande uit bruine concentrische ringen. Na 2 dagen was er van de ringen weinig meer te zien en was de plek geheel necrotisch geworden: het phloëem was grotendeels verstopt en het schorsparenchym vertoonde bruine massa's in zijn cellen.

Ongeveer een maand na inoculatie zien wij necrosen in de topbladeren. De allerjongste topbladeren verdorren geheel. Op de bladeren groter dan 3 cm vormen zich vele zwarte stipjes, zodat het blad een grijze kleur krijgt. Bij de bladeren groter dan 10 cm zien wij aan de basis, waar sterkere groei optreedt, necroses met concentrische ringen opkomen. Geheel volgroeide bladeren hebben bij deze proeven nooit symptomen gegeven.

Ziekteverschijnselen op de wortels werden niet waargenomen.

3. LYCOPERSICUM-VIRUS 3 BIJ *Impatiens*

Te Aalsmeer werd enige keren een ziekte bij *Impatiens holstii* en *I. sultani* waargenomen, die, zoals hieronder uiteengezet zal worden, door *Lycopersicum-virus* 3 veroorzaakt bleek te zijn. Waar deze ziekte bij *Impatiens* werd geconstateerd, was ook steeds *Campanula isophylla* aanwezig met dezelfde ziekte. Stellig is deze ziekte door thrips van *Campanula* op *Impatiens* overgebracht. Daar *Impatiens* door stek wordt vermenigvuldigd, bestaat de mogelijkheid, dat de ziekte via het stek in *Impatiens* in stand gehouden wordt. De ziekteverschijnselen bij deze, uit besmet stek gewonnen planten, zijn echter van zo ernstige aard, dat de kweker deze planten vroeg of laat opruimt en niet voor stekwinning zal gebruiken.

Ziektebeeld bij Impatiens holstii. Zieke planten vertonen een geremde groei. De topbladeren (Fig. 5) zijn asymmetrisch of min of meer scheef, doordat de ene blad helft sterker ontwikkeld is dan de andere. De blad helft, die in groei achterblijft, is gegolfd en de top van het blad wijst naar één kant of naar onderen. Meestal is de bladbasis, om de hoofdnerf heen, geelgroen tot geel. De rest van het blad is wat bobbelig door glimmende, groene opgebolde gedeelten. Op enkele bladeren zijn groene vlekken te zien, die donkerder zijn dan de normale groene kleur. De jonge zieke bladeren onderscheiden zich ook van gezonde, doordat ze sterk glimmen. Zijn bovengenoemde verschijnselen altijd min of

meer te zien, in de winter en vooral in het voorjaar ziet men dikwijls zeer kenmerkende necrosen. Deze necrose kan bestaan uit onregelmatige vlekjes ter grootte van enkele millimeters, maar soms zijn zwarte, later meer bruine, concentrische kringen of evenwijdige lijnen te zien, die scherp afsteken tegen het groene blad (Fig. 6). Naderhand vergeelt het weefsel tussen deze necrotische kringen en lijnen en vallen de bladeren af. Ook op de stengels en bloemknoppen kan zwarte necrose voorkomen, terwijl naderhand deze stengeldelen en knoppen soms afvallen.

Een dwarse doorsnede door een blad met zwarte necrosen toont ons een aantasting van het palissadenparenchym. Op de plaatsen, waar uitwendig zwarte necrose is te zien, zijn de cellen gevuld met een bruine massa (Fig. 7). Het sponsparenchym wordt alleen necrotisch als het blad af gaat sterven. De onderzijde van het blad laat dan ook geen symptomen zien. Alleen de necrosen van het palissadenparenchym schemeren iets er doorheen. Van phloëmnecrose was noch in het blad, noch in de stengel iets te zien.

Ook de bloemen (Fig. 8) van de zieke planten zijn, vooral in winter en voorjaar, sterk afwijkend. De bloemen, die normaal vermiljoenrood (Hort. Col. Chart 181) van kleur zijn, vertonen paarse vlekken (Hort. Col. Chart solferinorood 26), of mengkleuren van vermiljoenrood en dit paars. Dit paars kan het grootste gedeelte van de bloem in beslag nemen. Naast deze twee kleuren tonen sommige bloemen soms een witte streping, of het vermiljoenrood is bleker. De zieke bloemen hebben soms slechts $\frac{3}{4}$ van de normale grootte. Vaak is de rand van de bloembladeren onregelmatig ingesneden of soms ingescheurd en zijn de bloembladeren min of meer hobbelig.

Inoculaties. Door sapinoculatie werd op toetsplanten, *Nicotiana glutinosa* en *N. tabacum* „White Burley” en *Petunia hybrida*, vele malen een reactie verkregen van *Lycopersicum-virus 3*. Voor een beschrijving van deze verschijnselen op toetsplanten verwijzen wij naar het bovenstaande en naar NOORDAM (1952). Het fijn maken van zieke bladeren in een vijzel werd bemoeilijkt door het vele slijm van de plant. Door reeds bij het uitpersen water of 1% Na_2SO_3 krist. oplossing toe te voegen werd het fijnmaken van de bladeren vergemakkelijkt, terwijl de sap-inoculaties ook een hoger slagingspercentage gaven dan zonder verdunning.

Het voorkomen van deze ziekte in Nederland werd reeds eerder geconstateerd (NOORDAM, 1947 en 1951). Door HOPKINS (1943) werd bij *Impatiens balsamina* een ziekte geconstateerd, die vermoedelijk door *Lycopersicum-virus 3* veroorzaakt werd.

Een „mozaïek” met grotendeels andere verschijnselen en van onbekende oorzaak beschreef NEERGARD (1945).

Andere opgaven uit de literatuur over virusziekten bij *Impatiens* zijn ons niet bekend, zodat het ons wenselijk leek bovenstaand onderzoek bekend te maken.

SUMMARY

A description is given of the symptoms of *Lycopersicum-virus 3* on naturally infected plants of *Nicotiana tabacum* in glasshouses of the Phytopathological Institute at Baarn.

The symptoms on plants of *Nicotiana tabacum* inoculated with sap are as follows: 3 to 5 days after inoculation dark green spots 2 mm. in diameter appear on the inoculated leaves owing to the dying of the palisade tissue. Later, the spongy tissue dies and the spots become necrotic.

The points of infection are always distinct (Fig. 2), and around each of them a circular band of pigmentation appears in the necrotic tissue (Fig. 3). In September the necrotic tissue was rather dark with blackish-brown rings; in December it was very light and the rings almost colourless, although the plants were given lamplight for 12 hours a day. In the mesophyll tissue the necrosis spreads equally in all directions but along the veins it travels faster (Fig. 1, 3). When the necrosis reaches a vein, the phloem is first affected and is blocked (Fig. 4). Later the cells between the xylem vessels die and finally the vessels themselves become necrotic which causes the distal parts of the leaf to dry. Subsequent symptoms appear first on the top leaves about a month after the inoculation. The smallest leaves wither completely; leaves longer than about 3 cm appear grey owing to the presence of numerous small dark necrotic spots. On leaves longer than about 10 cm distinct ringspots appear towards the base. During the experiments necrotic spots never appeared on fully grown leaves. In the stem of one plant the cortical parenchyma cells were affected and the phloem was blocked. No symptoms were observed on the roots.

The disease was recorded on *Impatiens holstii* and also on *I. sultani*, the following symptoms being noted on the former: stunting of the plant; asymmetry of the leaf, of which the top mostly pointed to one side; yellow-green coloration of the leaf base near the midrib; and blisters or raised areas of shiny darker green on the remainder of the leaf (Fig. 5b). Especially in spring irregular necrotic spots some millimetres in diameter are often to be seen. Sometimes black, and later brown, concentric rings or parallel lines are to be seen on the green leaf (Fig. 6). Leaves, buds and internodes may fall. A cross-section through a necrotic spot on a leaf shows a brown mass in the cells of the palisade parenchyma (Fig. 7). Phloem necrosis was not found. Especially in winter and in spring the normally vermilion flowers (Hort. Col. Chart, 181) show violet spots (Hort. Col. Chart, solferino purple 26) or mixed colours (Fig. 8). Sometimes the flower is also white-striped or pale and deformed. The sap from infected leaves (which on account of the presence of mucus, were pulverized in a mortar with water or 1% Na_2SO_3 solution), when inoculated on to the indicator-plants *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* and *Petunia hybrida* gave rise to typical reactions for *Lycopersicum-virus 3* (Tomato spotted wilt).

LITERATUUR

- BEST, R. J. – 1936. The effect of light and temperature on the development of primary lesions of the viruses of tomato spotted wilt and tobacco mosaic. *Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 14: 223–239.
- DUFRENOY, J. – 1937. Le Spotted Wilt. *Ann. Epiphyties N.S.*, 3: 187.
- HOPKINS, J. C. F. – 1943. Mycological notes 16. The campaign against the kromnek virus. *Rhod. Agr. J.* 40: 47–49.
- MOORE, E. S. – 1933. The Kromnek or Kat River disease of tobacco and tomato in the East Province (South Africa). *S. Afrika Dept. Agr. Sci. Bull.* 123: 28 pp.
- NEERGARD, P. – 1945. Mosaiksyge paa *Impatiens sultani*. 10 Aarsberetn. *Ohlsens Enkes Plante-patologiske Lab.* 1944–1945: 8–9.
- NOORDAM, D. – 1947. Algemeen ziekteonderzoek. Jaarversl. Proefst. Bloemisterij Aalsmeer 1946: 105.
- NOORDAM, D. – 1951. Mozaïekziekte. Jaarversl. Proefst. Bloemisterij Aalsmeer 1950: 57.
- NOORDAM, D. – 1952. *Lycopersicum-virus 3* (Tomato spotted wilt) bij enkele bloemisterij-gewassen. *T.o.Pl.ziekten* 58: 89–96.
- NORRIS, D. O. – 1946. The straincomplex and symptom-variability of Tomato Spotted Wilt virus. *Council Sc. Ind. Res. (Austr.) Bull.* 202.