

KORTE MEDEDELING

CUCUMIS VIRUS 2 IN NEDERLAND¹

With a summary:

Cucumis virus 2 in The Netherlands

DOOR

S. N. LIEM

Laboratorium voor Virologie, Wageningen

In mei 1956 werden door vriendelijke bemiddeling van de heer Ir. Y. VAN KOOT van het Proefstation voor de Groente- en Fruitteelt onder Glas te Naaldwijk, enkele komkommerplanten verkregen, waarvan de bladeren een duidelijk groen mozaïek vertoonden. Op de vruchten, die opvallend krom waren, kwamen kleine lichtgele vlekjes voor. Deze symptomen komen overeen, met die welke in de literatuur worden toegeschreven aan *Cucumis virus 2* SMITH, dat door AINSWORTH (1935) Cucumber virus 3 wordt genoemd.

Bij inoculatie van komkommerplanten van de variëteit Lange Groene met sap van zieke planten traden de volgende ziekteverschijnselen op. Op het geïnoculeerde blad verschenen onduidelijke, lichte vlekjes. Het jonge, zich ontplooiende blad vertoonde eerst ronde, lichtgele vlekjes en was enigszins gebobeld. Naarmate het jonge blad groter werd, breidden de vlekjes zich uit tot een duidelijk mozaïekpatroon van donkergroene en lichtgele vlekken was ontstaan. Op de volgende, jongere bladeren werd dit mozaïek steeds duidelijker. In de zomer duurde het ongeveer twee tot drie weken voor er symptomen op het blad verschenen. 's Winters was de incubatietijd ongeveer een maand.

Het *Cucumis virus 2* vertoont in een aantal opzichten overeenkomst met het tabaksmozaïekvirus, zoals ook uit het onderzoek van KNIGHT (1955) bekend is. Zo bleek de verdunningsgrens van sap van zieke planten bij 10^{-7} of 10^{-8} te liggen, terwijl inactivering van het virus optrad na verhitting gedurende 10 minuten tot 98-99°C.

De waardplantenreeks van het virus is beperkt tot de *Cucurbitaceae*: het kon worden overgebracht op *Cucumis sativa*, *Cucurbita melo* en *C. vulgaris*, doch niet op *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa* en *Physalis floridana*.

Voor de praktijk is het van betekenis, dat het virus met zaad overgaat. Het gaat hier volgens CROWLEY (1957) om virus dat in opgedroogde vruchtresten op de zaden achterblijft en dat aanleiding geeft tot een besmetting van 10 tot 20 % der zaailingen. In hoeverre deze infectiebron door middel van uitwendige ontsmetting kan worden verwijderd, is bij het Proefstation te Naaldwijk in onderzoek.

Er werd getracht het virus te zuiveren ten einde er elektronenmicroscopische opnamen van te kunnen maken. Hiertoe werd uitgegaan van perssap, afkomstig van geïnoculeerde komkommerplanten van de variëteit Lange Groene. De zuivering werd uitgevoerd op een wijze, die in hoofdzaak overeenkomt met de door BAWDEN & PIRIE (1937) beschrevene. Het perssap werd van de groene bestanddelen ontdaan door het gedurende 10 minuten tot 65°C te verhitten en

¹ Aangenomen voor publikatie 24 april 1959.

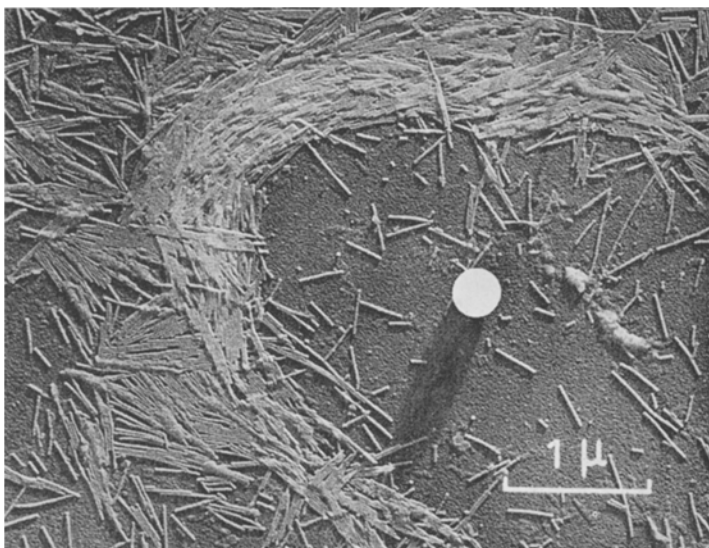


Fig. 1.

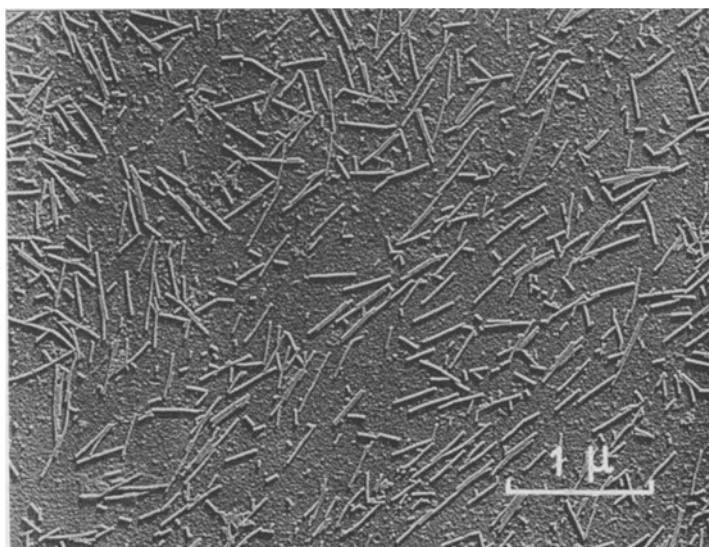


Fig. 2.

FIG. 1 en 2. Elektronenmicroscopische opnamen van *Cucumis virus 2*.
 Vergr. 195.000 $\times$. Foto Stichting Landbouw Fysisch-Techni-
 sche Dienst, Wageningen.
Electron micrographs of Cucumis virus 2. Magn. $\times$ 195,000.

vervolgens gedurende 30 minuten bij 5000 toeren per minuut te centrifugeren. Wanneer de p_H van de aldus verkregen vloeistof door toevoeging van HCl (ongeveer 2,8 N) op 4,8 werd gebracht, vlokke het virus uit. Door gedurende 30 minuten bij 10.000 toeren per minuut te centrifugeren, werd een neerslag verkregen, dat vervolgens in een weinig water werd opgenomen. Het nog in het perssap resterende virus werd met behulp van $(NH_4)_2SO_4$ (25 g per 100 ml perssap) neergeslagen. Ook dit neerslag werd gedurende 30 minuten bij 10.000 toeren per minuut afgecentrifugeerd en gevoegd bij het vorige. De zo verkregen virussuspensie werd gedurende 48 uur gedialyseerd tegen leidingwater, waarna nogmaals werd afgecentrifugeerd bij 4000 toeren per minuut gedurende 20 minuten om de laatste verontreinigingen te verwijderen.

Het verkregen viruspreparaat bleek zeer geconcentreerd en zeer infectieus te zijn. Het vertoonde onder het microscoop bij een vergroting van ongeveer 100-maal naaldvormige parakristallen. Bij verdunnen van het preparaat met gedistilleerd water losten deze parakristallen op. Elektronenmicroscopisch onderzoek wees uit, dat zij uiteen waren gevallen in staafvormige deeltjes (fig. 1 en 2). Uit een groot aantal metingen, waarbij de deeltjeslengte in klassen van 25 $m\mu$ werd ingedeeld, kwam vast te staan, dat het merendeel der deeltjes een lengte heeft, die in de klasse van 325 $m\mu$ valt (fig. 3). Er is dus, ook wat afmetingen betreft, een opvallende overeenkomst van het *Cucumis virus 2* met tabaksmozaïekvirus.

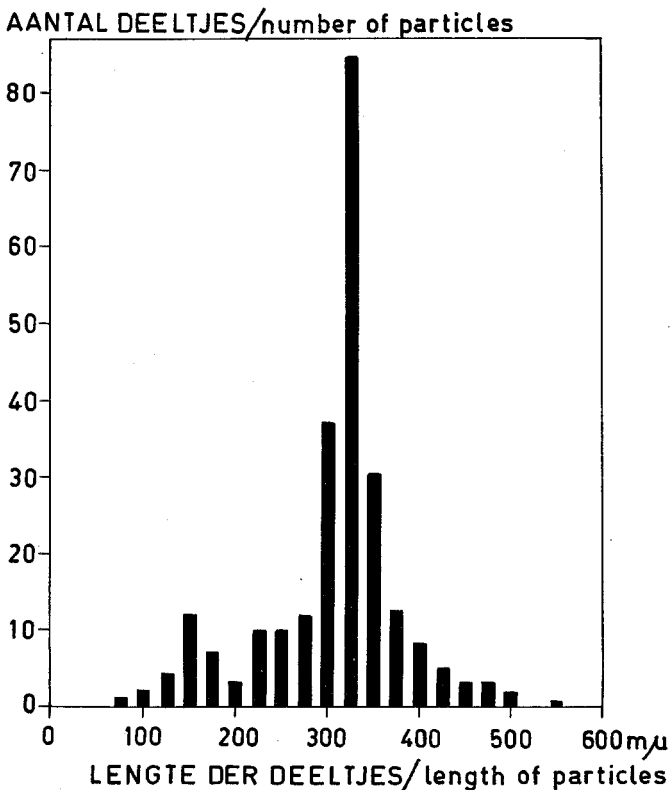


FIG. 3.
Frequentiecurve van
Cucumis virus 2.
Frequency curve of
Cucumis virus 2.

Langs deze weg wordt hartelijke dank betuigd aan de heer Dr. J. G. TEN HOUTEN, Directeur van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen, voor de gelegenheid om het onderzoek aan het genoemde Instituut te verrichten. Mej. Dra. C. VAN DER SCHEER van de Landbouw Fysisch-Technische Dienst te Wageningen wordt dank gezegd voor het vervaardigen van de elektronenmicroscopische opnamen.

SUMMARY

Some properties of *Cucumis virus 2*, occurring in The Netherlands were studied. From electron micrographs can be concluded that the virus particles are rod-shaped, with a length of about 325 m μ (fig. 1, 2 and 3).

The thermal inactivation point, the dilution-endpoint and the length of the rods of this virus agree with those of *Cucumis virus 2* as described in literature. There is a close resemblance of this virus with tobacco mosaic virus.

LITERATUUR

- AINSWORTH, G. C., - 1935. Mosaic diseases of the cucumber. Ann. appl. Biol. 22: 55-67.
BAWDEN, F. C. & N. W. PIRIE, - 1937. The relationships between liquid cristalline preparations of cucumber 3 and 4 and strains of tobacco mosaic virus. Brit. J. exp. Path. 18: 275-291.
CROWLEY, N. C., - 1957. Studies on the seed transmission of plant virus diseases. Austr. J. biol. Sc. 10: 449-464.
KNIGHT, C. A., - 1955. Are cucumber viruses 3 and 4 strains of tobacco mosaic virus? Virology 1: 261-267.