

## BADANIA NAD KILKOMA IZOLATAMI WIRUSA MOZAIKI LUCERNY WYSTĘPUJĄCYMI NA ZIEMNIAKU

*Anna Kowalska*

Instytut Ziemniaka, Młochów

Wirus mozaiki lucerny wywołuje na ziemniaku trzy zasadnicze typy schorzeń. Najwięcej doniesień z wielu krajów dotyczy tzw. choroby „calico” odznaczającej się żółtymi plamami na liściach roślin porażonych [3, 4, 5, 7, 11, 13, 15, 17]. Choroba może występować również w formie nekrotycznej; w tym przypadku na roślinach ziemniaka obserwowano nekrozy na nerwach liści, ogonkach liściowych i łodygach oraz nekrozy na kłębach [2, 9, 11, 12]. Ponadto opisano również łagodną formę choroby powodowaną przez ten wirus odznaczającą się mozaiką i lekkim zwijaniem liści [7, 17] lub całkowitym brakiem objawów zakażenia [14].

Przyczyny różnic w objawach chorobowych wywoływanych na ziemniakach przez wirus mozaiki lucerny nie są całkowicie wyjaśnione. W niektórych przypadkach udowodniono odmienność szczepów wirusa wywołujących różne typy schorzeń [11, 12, 13]. Z drugiej strony obserwowano, że ten sam izolat wirusa może powodować odmienne objawy na różnych odmianach ziemniaka [12].

W niniejszej pracy scharakteryzowano kilka izolatów wirusa mozaiki lucerny występujących na ziemniaku. Podjęto przy tym próbę wyjaśnienia przyczyn występowania choroby w tak różnych formach.

### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w latach 1971-1972 nad sześcioma izolatami wirusa mozaiki lucerny znajdującymi się w kolekcji wirusów ziemniaka w Instytucie Ziemniaka w Młochowie. Izolaty te utrzymywane były w kłębach ziemniaka wysadzanych corocznie w polu. Opis badanych izolatów wirusa podano w tabeli 1. Szczególne zainteresowanie wzbudził fakt, że w dwóch przypadkach (na roślinach odmian Orzeł i Pollux) żółte plamy charakterystyczne dla choroby „calico” zanikły po pewnym czasie

Tabela 1

## Opis badanych izolatów wirusa mozaiki lucerny

Odmiana ziemniaka	Pochodzenie izolatu	Rok otrzymania izolatu	Objawy na roślinach ziemniaka w roku		
			otrzymania izolatu	prowadzenia doświadczeń	
				1971	1972
Orzeł	Polska	1964	żółte plamy*	słaba mozaika	słaba mozaika
Brda	Polska	1971	żółte plamy	żółte plamy	żółte plamy
Pirat	NRD	1971	żółte plamy	żółte plamy	żółte plamy
Pollux	NRD	1971	żółte plamy	żółte plamy	słaba mozaika
Siewka 41956	Holandia	1963	żółte plamy**	żółte plamy	żółte plamy
Friso	Holandia	1971	—	—	żółte plamy

\* Dane z pracy Chrzanowskiej i Śniegowskiego.

\*\* Dane z dokumentacji dotyczącej kolekcji wirusów ziemniaka.

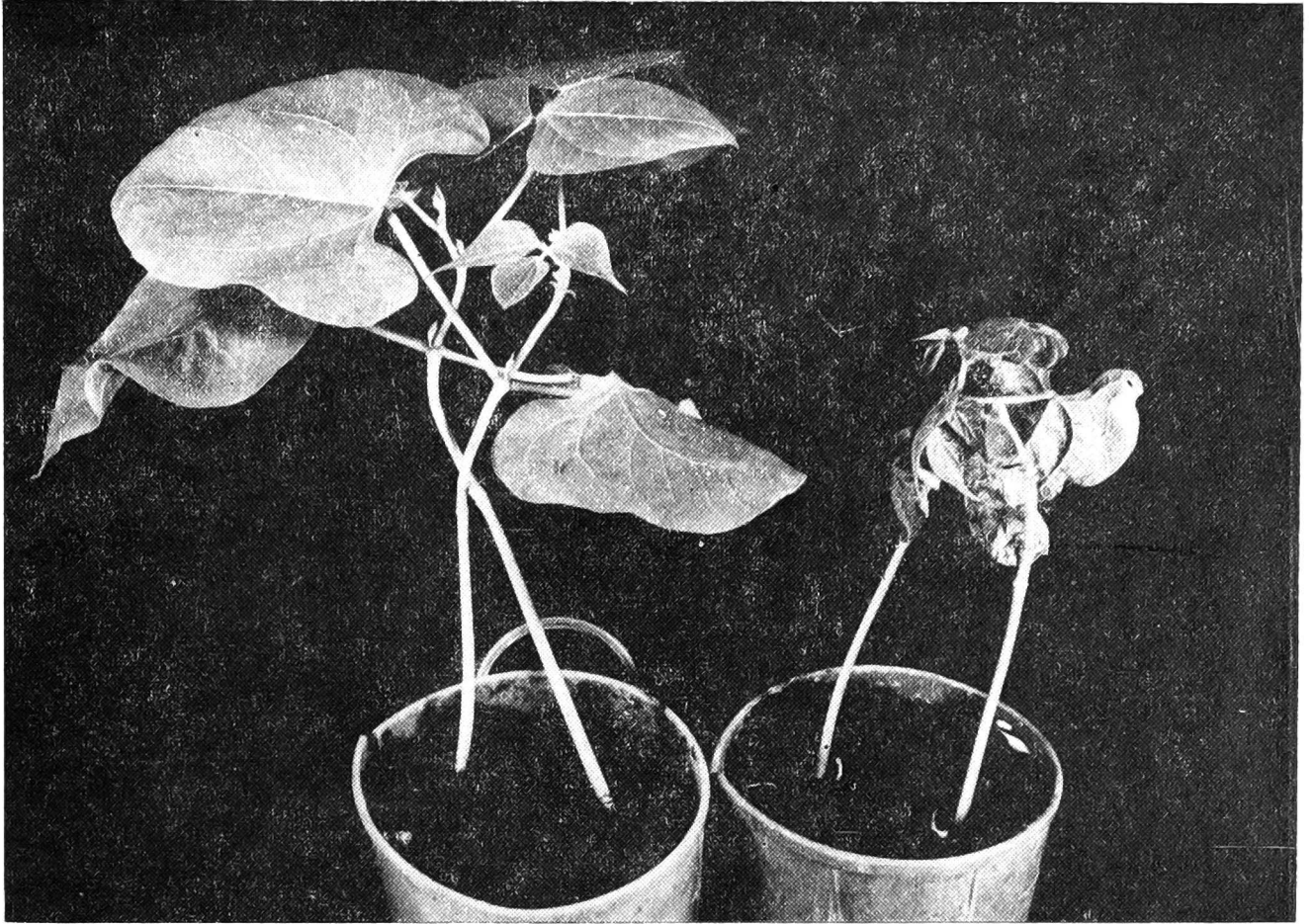
przy rozmnażaniu roślin z kłębów. W dalszym opisie badane izolaty wirusa określane będą nazwą odmiany z której zostały otrzymane.

Rośliny hodowano w wolnej od owadów szklarni, w temperaturze zmiennej, w doniczkach o średnicy 8 cm wypełnionych torfem. Rośliny inokulowano przez potarcie posypanych proszkiem karborundowym liści palcem lub gąbką umoczoną w soku wyciśniętym z zainfekowanych roślin. Po inokulacji liście splukiwano wodą.

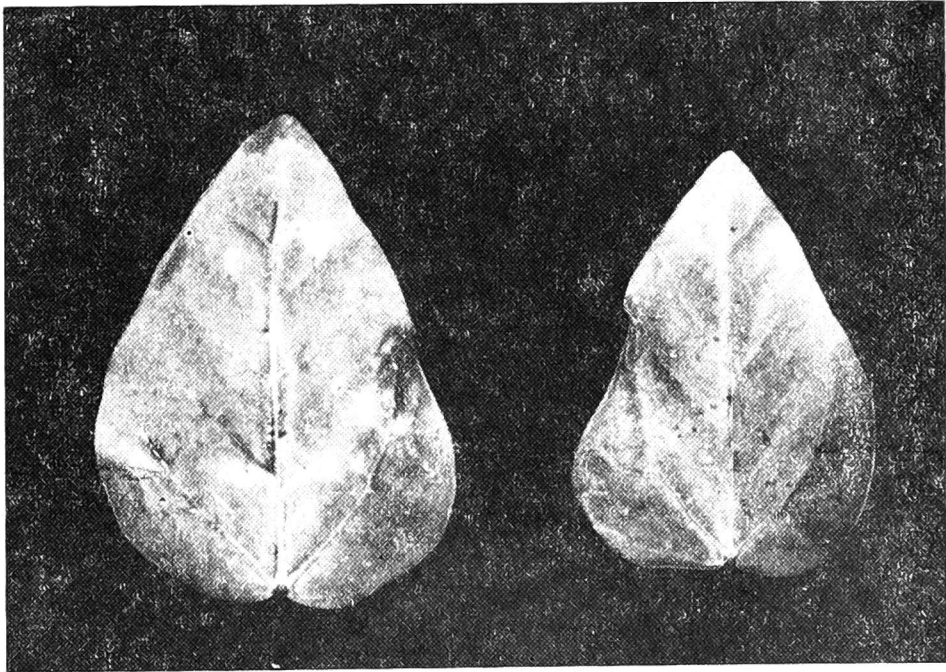
Przed przeprowadzeniem doświadczeń mających na celu porównanie izolatów wirusa, każdym z nich zainokulowano pierwsze pary liści roślin *Vigna sinensis* (Black Eye). Po wystąpieniu lokalnych, nekrotycznych plamek z liści wycinano krążki tkanki z nekrozami. Średnica wyciętych krążków wynosiła 5 mm. Krążki rozcierano z dodatkiem kilku kropel wody destylowanej i tak przygotowanym inokulum pocierano liście tytoniu Samsun.

Otrzymane z pojedynczych nekroz izolaty wirusa namnażano w tytoniu Samsun przez cały okres trwania doświadczeń. Po 7—14 dniach od inokulacji z liści tytoniu wyciskano sok zawierający wirus.

W celu porównania reakcji izolatów wirusa na roślinach testowych przebadano 19 gatunków roślin (*Capsicum annuum* L., *Chenopodium album* L., *C. amaranticolor* Coste and Reyn, *C. murale* L., *Cucumis sativus* L., (Monastyrskie), *Datura metel* L., *D. stramonium* L., *Gomphrena globosa* L., *Nicandra physaloides* (L.) Gaertn., *Nicotiana debneyi* Domin, *N. glutinosa* L., *N. tabacum* L. (Samsun), *Ocimum basilicum* L., *Phaseolus vulgaris* L. (Saxa Nowa) *Solanum demissum* (SdY) Lindl., *S. luteum* L., *S. nodiflorum* (Jacq), *Vigna sinensis* Endl. (Black Eye), *Zinnia elegans* Jacq, na których wirus mozaiki lucerny wywołuje charakterystyczne objawy chorobowe. Wśród nich znalazły się gatunki stosowane do różnicowania szczepów tego wirusa [1, 6, 8, 10, 16]. Każdym izolatem wirusa mozaiki lucerny inokulowano jednorazowo 8 roślin badanego gatunku rośliny. Każdy gatunek przebadano co najmniej dwukrotnie. Ro-



Rys. 1. Rośliny *Phaseolus vulgaris* (Saxa Nowa) — z prawej zainfekowane systemicznie izolatem Brda, z lewej zdrowe (fot. J. Stańczyk)



Rys. 2. Objawy infekcji lokalnej na liściach *Vigna sinensis* (Black Eye) inokulowanych wirusem mozaiki lucerny — z lewej izolatem Brda z prawej izolatem Pirat (Fot. J. Stańczyk)



Rys. 3. Rośliny *Chenopodium album* zakażone systemicznie wirusem mozaiki lucerny — z lewej izolatem Brda z prawej izolatem Orzeł (Fot. J. Stańczyk)

śliny inokulowano sokiem z tytoniu rozcieńczonym wodą destylowaną w stosunku 1 : 5. Badania serologiczne wykonano przy użyciu surowicy przeciw wirusowi mozaiki lucerny otrzymanej z Holandii oraz surowicy przeciw badanemu w niniejszej pracy izolatowi Orzeł. Testy przeprowadzono metodą podwójnej dyfuzji w żelu agarowym i agarozowym.

Do doświadczeń nad porównaniem reakcji izolatów wirusa mozaiki lucerny na inokulowanych nimi roślinach ziemniaka użyto zdrowych roślin ziemniaka odmian Baca, Bintje i Turysta.

W maju 1972 r. rosące w szklarni ziemniaki będące w stadium 4-6 liści zainokulowano sokiem z zakażonych roślin tytoniu rozcieńczonym wodą destylowaną w stosunku 1 : 3. Inokulację wykonano dwukrotnie w odstępie czterodniowym. Każdym izolatem wirusa zainokulowano po 10 roślin każdej odmiany. Przy końcu czerwca rośliny wysadzono w pole i w celu zabezpieczenia przed dostępem owadów przykryto izolatorami z siatki nylonowej.

Wszystkie rośliny inokulowane przetestowano na obecność wirusa mozaiki lucerny — dwukrotnie biologicznie (w maju i lipcu) — na roślinach *Phaseolus vulgaris* (Saxa Nowa) i *Vigna sinensis* (Black Eye) i jeden raz serologicznie (w lipcu) metodą podwójnej dyfuzji w żelu agarowym i agarozowym.

#### WYNIKI

Stwierdzono, że trzy spośród sześciu izolatów wirusa różniły się w reakcji wywoływanej na niektórych gatunkach roślin testowych, przy czym każdy z nich wykazywał swoiste cechy (tab. 2).

Izolat Orzeł wyróżniał się reakcją na *Cucumis sativus* wywołując na

Tabela 2

Rośliny testowe, na których badane izolaty wirusa mozaiki lucerny wywoływały reakcję odmienną

Gatunek rośliny	Izolat wirusa					
	Orzeł	Brda	Pirat	Pollux	41956	Friso
<i>Capsicum annuum</i>	+	+	+	+	+	x
<i>Chenopodium album</i>	+	x	+	+	+	+
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	+	x	+	+	+	x
<i>Cucumis sativus</i>	x	+	+	+	+	+
<i>Gomphrena globosa</i>	+	+	+	+	+	x
<i>Nicandra physaloides</i>	+	+	+	+	+	x
<i>Phaseolus vulgaris</i>	+	x	+	+	+	+
<i>Vigna sinensis</i>	+	x	+	+	+	+

+ Reakcje podobne.

x Reakcje odmiennie.

tej roślinie tylko objawy infekcji lokalnej, podczas gdy 5 pozostałych izolatów infekowało *Cucumis sativus* również systemicznie.

Izolat Brda różnił się od innych izolatów reakcją na 4 gatunkach roślin. Na roślinach *Phaseolus vulgaris* i *Vigna sinensis* obserwowano lokalne brązowe pierścienie i rozmyte, nieregularne plamy otoczone chlorotyczną obwódka oraz infekcję systemiczną prowadzącą do zamierania całych roślin (rys. 1). Inne izolaty wywoływały na tych dwóch gatunkach tylko objawy infekcji lokalnej i to odmienne od powodowanych przez izolat Brda: brązowe plamki nie były rozmyte i nie posiadały chlorotycznych obwódek (rys. 2).

Rośliny *Chenopodium amaranticolor* po inokulacji wszystkimi izolatami wirusa uległy infekcji systemicznej w postaci deformacji liści wierzchołkowych, otaśmienia nerwów i chlorotycznych plamek. W przypadku izolatu Brda deformacja była najslabsza, a chlorotyczne plamki rozmyte i zlewające się ze sobą, a nie oddzielone od siebie, jak to było w przypadku innych izolatów.

Podobne różnice między izolatem Brda i pozostałymi izolatami zaobserwowano na roślinach *Chenopodium album* z tym, że na tym gatunku wirus mozaiki lucerny nie powodował deformacji liści. (rys. 3).

Izolat Friso różnił się od innych izolatów wywołując najsilniejszą reakcję systemiczną na roślinach *Capsicum annuum*, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor* i *Nicandra physaloides*.

W badaniach serologicznych stwierdzono, że obie stosowane surowice reagowały pozytywnie ze wszystkimi sześcioma izolatami wirusa.

Na zainokulowanych badanymi izolatami wirusa roślinach ziemniaka objawy chorobowe pojawiły się w okresie od trzech tygodni do dwóch miesięcy po inokulacji w postaci charakterystycznych żółtych plam, lekkiej deformacji liści wierzchołkowych, a niekiedy również drobnych plamek nekrotycznych. Objawy takie wykazały 44 rośliny spośród 180 ino-

Tabela 3

Liczba roślin ziemniaka zainfekowanych różnymi izolatami wirusa mozaiki lucerny po sztucznej inokulacji

Izolat wirusa	Odmiana ziemniaka			Łącznie
	Baca	Bintje	Turysta	
Orzeł	1	0	2	3
Brda	0	0	5	5
Pirat	1	0	2	3
Pollux	1	1	5	7
41956	3	0	8	11
Friso	1	5	9	15
Razem	7	6	31	44

kulowanych. W testach biologicznych i serologicznych wirus mozaiki lucerny został wykryty tylko w tych roślinach, które wykazały objawy infekcji.

Liczba roślin ziemniaka zainfekowanych wirusem mozaiki lucerny w poszczególnych kombinacjach (różne izolaty wirusa na różnych odmianach ziemniaka) była niejednakowa i wahała się od 0 do 9 (tab. 3). Największa liczba roślin uległa zakażeniu przez izolat Friso. Najwięcej zainfekowanych roślin stwierdzono u odmiany Turysta.

#### DYSKUSJA

Z doświadczeń na roślinach testowych wynika, że izolaty Orzeł, Brda i Friso były inne niż trzy pozostałe izolaty, a także różniły się między sobą. Objawy jakie wystąpiły na zainfekowanych nimi sztucznie roślinach ziemniaka były jednak zbliżone. Uwagę przy tym zwrócił izolat Friso, który wywoływał najsilniejsze objawy chorobowe na niektórych gatunkach roślin testowych, a jednocześnie zainfekował największą liczbę roślin ziemniaka. Można na tej podstawie sądzić, że był on najbardziej wirulentny spośród wszystkich badanych izolatów.

Podczas badań nie udało się wyjaśnić opisanych w literaturze różnic w objawach chorobowych powodowanych przez wirus mozaiki lucerny na roślinach ziemniaka, ani odmiennością izolatów wirusa, ani też różnicami w reakcji odmian ziemniaka. Na wszystkich inokulowanych roślinach ziemniaka, w których stwierdzono obecność wirusa wystąpiły bowiem charakterystyczne dla choroby „calico” żółte plamy. Objawy takie stwierdzono między innymi na roślinach inokulowanych izolatami Orzeł i Pollux, pochodzącymi z naturalnie zainfekowanych roślin ziemniaka, na których objawy typu „calico” zanikły w kolejnych latach reprodukcji roślin z kłębów.

Nasuwa się pytanie czym należy tłumaczyć osłabienie objawów chorobowych na naturalnie zainfekowanych wirusem mozaiki lucerny roślinach ziemniaka odmian Orzeł i Pollux. Możliwe są dwa zjawiska: to nastąpiło wskutek mutacji wirusa. Przypuszczeniu temu przeczą jednak następujące fakty. Po pierwsze objawy chorobowe na roślinach testowych powodowane przez izolat Orzeł opisane przez Chrzanowską i Śniegowskiego [4] w 1965 r. pokrywają się z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy przez co brak jest dowodu świadczącego o zmianie wirusa. Po drugie po inokulacji roślin ziemniaka izolatami Orzeł i Pollux na zainfekowanych roślinach ponownie wystąpiły żółte plamy, chociaż w tym samym czasie na ziemniakach, z których izolaty te były otrzymane objawów takich nie stwierdzono.

Osłabienie objawów chorobowych, jakie wystąpiło w przypadku izolatów Orzeł i Pollux przypomina znane zjawisko pozornego ozdrowienia, obserwowane na wielu gatunkach roślin zainfekowanych różnymi wiru-

sami. Między innymi pozorne ozdrowienie występuje na roślinach tytoniu zakażonych wirusem mozaiki lucerny. Gdyby zjawisko takie było powodem osłabienia objawów chorobowych na roślinach ziemniaka, wskazywałoby to na jeszcze jedną przyczynę występowania wirusa mozaiki lucerny w postaci różnych typów schorzeń. Potwierdzenie tego przypuszczenia wymaga jednak dalszych badań.

*Autorka składa serdeczne podziękowanie Pani N. P. de Vos z Lisse za przysłanie surowicy, a Panu dr Z. Mierzwie z Pracowni Serologii Instytutu Ziemniaka w Gdańsku-Wrzeszczu za wyprodukowanie surowicy przeciw izolatowi Orzeł.*

#### LITERATURA

1. Bancroft J. B., Moorhead E. L., Tuite J., Liu H. P.: The antigenic characteristics and relationship among strains of alfalfa mosaic virus. *Phytopath.* 1960, t. 50, s. 34-39
2. Cervantes J., Larson R. H.: Alfalfa mosaic virus in relation to tuber necrosis in the potato variety Red La Soda. *Univ. Wis. Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, 1961, s. 229
3. Chrzanowska M.: Wyniki badań nad przydatnością różnych roślin testowych do wykrywania i rozpoznawania wirusów występujących w ziemniakach. *Biul. IHAR*, 1966, z. 5, s. 47-53
4. Chrzanowska M., Śniegowski C.: Wirusy pstrej plamistości łodyg, bukietowatości i mozaiki lucerny na ziemniakach oraz sposoby ich rozpoznawania. *Biul. IHAR* 1965, z. 5-6, s. 77-87
5. Dykstra T. P.: A study of viruses causing yellow mosaic in European and American varieties of the potato *Solanum tuberosum*. *Phytopath.* 1939, t. 29, s. 917-933
6. Gibbs A. J., Tinsley T. W.: Lucerne mosaic virus in Great Britain. *Pl. Path.* 1961, t. 10, s. 61-62
7. Kus M.: Alfalfa mosaic virus on potato in northwestern Yugoslavia. *Proc. 3-rd Conf. Eur. As. Potato Res. Zürich* 1966, s. 228-229
8. Matsumoto T., Kodama T., Murayama D.: On the alfalfa mosaic virus strains occurring on forage crops in Hokkaido. *J. Fac. agric. Hokkaido Univ.* 1968, t. 56, s. 1-16
9. Milbrath J. A.: Variations in potato calico caused by strains of alfalfa mosaic. *Phytopath.* 1952, t. 42, s. 516-517
10. Milbrath J. A., Mc Whorter F. P.: Response of cowpea varieties to strains of alfalfa mosaic virus. *Phytopath.* 1954, t. 41, s. 498
11. Oswald J. W.: A strain of the alfalfa mosaic virus causing vine and tuber necrosis in potato. *Phytopath.* 1950, t. 40, s. 973-991
12. Oswald J. W., Rozendaal A., van der Want J. P. H.: The alfalfa mosaic virus in the Netherlands, its effect on potato and a comparison with the potato aucuba mosaic virus. *Proc. 2-nd Conf. Potato Vir. Dis. Lisse-Wageningen* 1955, s. 137-147
13. Panjan M.: Potato viruses in Yugoslavia. *Proc. 6-th Conf. Czech. Pl. Virol., Olomouc.* 1967, s. 241-246
14. Richardson D. E., Tinsley T. W.: Lucerne mosaic virus in potato — a new record for the British Isles. *Pl. Path.* 1956, t. 5, s. 133-134



15. Slagg C. M.: Tuber symptoms of calico. Am. Potato J. 1952, t. 29, s. 123-124
16. Zaumeyer W. J., Patino G.: Vein necrosis, another systemically infectious strain of alfalfa mosaic virus in bean. Phytopath. 1960, t. 50, s. 226-231
17. Zimmerman-Gries S.: The occurrence of alfalfa mosaic virus (AMV) in potatoes in Isreal. 2 nd Israel Congr. Pl. Path. 1969

Анна Ковальска

## ИССЛЕДОВАНИЯ НАД НЕСКОЛЬКИМИ ИЗОЛЯТАМИ ВИРУСА МОЗАИКИ ЛЮЦЕРНЫ, ПОЯВЛЯЮЩИМИСЯ НА КАРТОФЕЛЕ

### Резюме

Вирус мозаики люцерны был изолирован из 6 сортов картофеля. На растениях картофеля сортов Брда, Пират, Фризо и севки 41956 наблюдались желтые пятна. На растениях сортов Орел и Поллюкс желтые пятна исчезли после нескольких размножений растений из клубней, и во время начала исследований на них наблюдались только слабые мозаичные пятна. 6 изолятов вируса, происходящих из перечисленных сортов картофеля, определены названием сорта из которого были получены. Три изолята отличались реакцией, вызванной на некоторых видах тестовых растений, причем каждый из них проявил своеобразные признаки. Изолят Орел проявил иную реакцию на *Cucumis sativus*, изолят Брда — на *Chenopodium album*, *C. amaranticolor*, *Phaseolus vulgaris* и *Vigna sinensis*, а изолят фризо — на *Capsicum annum*, *C. amaranticolor*, *Gomphrena globosa* и *Nicandra physaloides*.

Все изоляты реагировали с противовирусной сывороткой мозаики люцерны, полученной из Голландии, и с изготовленной в Польше сывороткой против изолята Орел. Растения картофеля трех сортов: Баца, Бинтье и Туриста инокулировались шестью изолятами вируса. Заразились 44 растения из числа 180 инокулированных растений. Все зараженные растения обнаруживали на листьях желтые пятна, в частности, те, которые заразились изолятом Орел и Поллюкс. Наибольшее количество растений было заражено изолятом Фризо. Из числа исследованных сортов больше всего растений заразилось от сорта Туриста.

Anna Kowalska

## STUDIES ON SEVERAL ISOLATES OF ALFALFA MOSAIC VIRUS OCCURRING ON POTATOES

### Summary

Alfaalfa mosaic virus was isolated from 6 varieties of potato. Yellow spots were observed on potato varieties Brda, Pirat, Friso and seedling 41 956, and had been observed on varieties Orzeł and Pollux. Disappearance of these spots took place in Orzeł and Pollux after some years of reproducing plants from tubers and finally these varieties showed only mild mosaic. Six isolates obtained from the mentioned varieties were investigated and designated with the name of the respective variety.

Three isolates differed in their reaction with some test plants: isolate Orzeł gave a distinctive reaction on *Cucumis sativus*, isolate Brda — on *Chenopodium album*, *C. amaranticolor*, *Phaseolus vulgaris* and *Vigna sinensis*, and isolate Friso — on *Capsicum annuum*, *C. amaranticolor*, *Gomphrena globosa* and *Nicandra physaloides*.

All isolates reacted with antiserum against alfalfa mosaic virus which had been obtained from the Netherlands, and with antiserum against isolate Orzeł prepared in Poland. After sap inoculation of three potato varieties — Baca, Bintje and Turysta, 44 out of 180 plants became infected. All infected plants showed spots and so did the plants infected with isolates Orzeł and Pollux. The highest percentage of infection was obtained with isolate Friso. Turysta showed a larger number of infected plants than the other varieties.