

WYKRYWALNOŚĆ WIRUSA M ZIEMNIAKA NA ODCIĘTYCH
LIŚCIACH GOMFRENY (*GOMPHRENA GLOBOSA* L.)

Irena Kordzińska, Józef Kordziński

Stacja Hodowli Roślin, Krokowa

Szukając roślin rozpoznawczych służących do wykrywania wirusa M ziemniaka stwierdzono, że wirus ten daje najbardziej charakterystyczne i łatwe do odczytu objawy na roślinach fasoli oraz na roślinach *Lycopersicum chilense* [2, 4]. W przypadku gomfreny podkreślano jej niewielką przydatność do tego rodzaju testów, przede wszystkim ze względu na to, że gomfrena reaguje z małą liczbą izolatów wirusa M, a także ze względu na zbyt długi okres od momentu inokulacji do wystąpienia objawów [1, 3, 5].

MATERIAŁ I METODY

W badaniach nad wykrywaniem wirusów ziemniaka na odciętych liściach gomfreny stwierdzono możliwość stosowania ich do wykrywania wirusa M ziemniaka.

W pracy stosowano rośliny gomfreny (*Gomphrena globosa* L.) purpurowo kwitnącej, otrzymane z nasion w szklarni, a do zakażeń izolaty wirusa M pochodzące z różnych odmian i rodów ziemniaka. Doświadczenia wykonano w Stacji Hodowli Roślin Krokowa w październiku i listopadzie.

Rośliny gomfreny przed pobraniem z nich liści rosły przez ostatnie trzy tygodnie w szklarni, w której temperatura powietrza wynosiła 19-21°C. Liście do badań pobierano z trzeciego i czwartego piętra i były one delikatne lecz nie jasnozielone. Inokulum sporządzano z czterotygodniowych roślin ziemniaka (5 tygodni od wysadzenia oczek porażonych wirusem M) przez rozgniatanie liści w wyjałowionej prasie holenderskiej. Tak otrzymany sok rozcieńczano wodą destylowaną w stosunku 1 : 2.

Na odcięte liście gomfreny, jednakowe co do wielkości (w danej serii)

opylone karborundem (320) наносzono po 2 krople inokulum, które rozprowadzano bagietką szklaną, wykonując trzy ruchy wzdłuż liści (obok siebie). Inokulację przeprowadzano w pomieszczeniu o temperaturze powietrza 21°C. Inokulowane liście umieszczano w kuwetach plastikowych, które poddawano oświetleniu w kabinach inkubacyjnych przy różnych temperaturach.

Wszystkie badania wykonywano na 30 odciętych liściach, traktując każdy liść jako powtórzenie. Procent liści na których stwierdzono objawy chorobowe i średnie liczby plam przypadające na 1 liść podano w tabelach w zaokrągleniu do liczb całkowitych.

WYNIKI

Wirus M ziemniaka wywołuje na odciętych liściach gomfreny przezroczyste plamy, wyraźnie widoczne pod światło. Plamy te mają rozmażane kontury i wykazują tendencję do rozlewania się. W przypadku dłuższego utrzymywania liści w kabinie inkubacyjnej plamy mogą zabarwiać się czerwonawo.

Wygląd objawów chorobowych powodowanych przez wirus M na odciętych liściach gomfreny zależy od temperatury inkubacji. Przy temperaturze inkubacji 20-21°C objawy chorobowe wirusa występują w postaci plam przezroczystych o średnicy około 2 mm. Przy tej temperaturze inkubacji do końca obserwacji nie stwierdzono wystąpienia zabarwienia plam. Przy temperaturze inkubacji 24-25°C występują plamy większe (ok. 3 mm) i w zależności od izolatu wirusa M pomiędzy 10 a 20 dniem inkubacji mogą zabarwiać się czerwonawo.

Objawy chorobowe wywoływane przez wirus X ziemniaka na odciętych liściach gomfreny przy temperaturze inkubacji 20-21°C, w odróżnieniu od objawów wirusa M pojawiają się wcześniej, bo już po 4 dniach a często po 5 dniach występuje jasnoczerwone zabarwienie. Przy temperaturze inkubacji 24-25°C występują już w 5 dniu plamy okrągłe, przezroczyste, drobne (ok. 1 mm średnicy). Plamy te z dobrze widocznym centralnym punktem i wyraźnie zaznaczonych konturach do końca obserwacji nie zmieniały zabarwienia ani wielkości.

W każdym powtórzeniu obok liści gomfreny inokulowanych wirusem X ziemniaka umieszczano także liście zakażane wirusem S ziemniaka (izolat z odmiany Pierwiosnek). Wirus S ziemniaka, w czasie trwania doświadczenia, przy obu porównywanych temperaturach inkubacji nie wywołał objawów chorobowych na odciętych liściach gomfreny.

Szybkość występowania objawów chorobowych wirusa M na odciętych liściach gomfreny różniła się w zależności od stosowanej temperatury inkubacji (tab. 1, 2). Przy temperaturze inkubacji 24-25°C pierwsze

Tabela 1

Wykrywalność wirusa M ziemniaka na odciętych liściach gomfreny w zależności od stosowanego izolatu (temperatura inkubacji 20-21°C, oświetlenie ciągle 1000 luks)

Izolaty (odmiana)	Procent liści z objawami (licznik) i liczba plam (mianownik) po upływie dni od inokulacji				
	4	5	6	7	8
Krasawa	0	$\frac{20}{1}$	$\frac{60}{1}$	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{10}$
Karmen	0	0	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{15}$	$\frac{100}{15}$
R-6	0	0	$\frac{100}{5}$	$\frac{100}{8}$	$\frac{100}{10}$
Oslava	0	0	$\frac{100}{5}$	$\frac{100}{5}$	$\frac{100}{7}$
Craigs	0	0	$\frac{100}{2}$	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{10}$
Defiance	0	0	$\frac{80}{8}$	$\frac{100}{8}$	$\frac{100}{8}$
PG-42	0	0	$\frac{80}{6}$	$\frac{100}{8}$	$\frac{100}{8}$
Uran	0	0	$\frac{80}{5}$	$\frac{100}{5}$	$\frac{100}{8}$
Beta	0	0	$\frac{80}{2}$	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{12}$
Tatry	0	0	$\frac{60}{2}$	$\frac{80}{4}$	$\frac{100}{5}$
Ms-125	0	0	$\frac{40}{2}$	$\frac{80}{4}$	$\frac{100}{5}$
Forella	0	0	0	$\frac{40}{4}$	$\frac{100}{10}$
Turysta	0	0	0	$\frac{20}{5}$	$\frac{100}{10}$
Ms-65	0	0	0	0	0
Saga	0	0	0	0	0
Susanna	0	0	0	0	0

objawy chorobowe występowały u większości stosowanych izolatów (11/15) w 5 dniu inkubacji. Przy temperaturze 20-21°C w 5 dniu inkubacji wystąpiły objawy jedynie w przypadku izolatu z odmiany Krasawa. Objawy chorobowe wirusa M na wszystkich inokulowanych liściach wystąpiły przy temperaturze inkubacji 20-21°C w 7 dniu inkubacji 10 na 15, a przy temperaturze 24-25°C u 13 na 15 stosowanych izolatów.

Przy temperaturze inkubacji 24-25°C objawy chorobowe wirusa M ziemniaka wystąpiły na odciętych liściach gomfreny w przypadku 14 stosowanych izolatów, jedynie izolat z odmiany Susanna nie wywołał objawów. Przy temperaturze 20-21°C obok izolatu z odmiany Susanna

Tabela 2

Wykrywalność wirusa M ziemniaka na odciętych liściach gomfreny w zależności od stosowanego izolatu (temperatura inkubacji 24-25° C, oświetlenie ciągle 1000 luks)

Izolaty (odmiana)	Procent liści z objawami (licznik) i liczba plam (mianownik) po upływie dni od inokulacji				
	4	5	6	7	8
PG-42	0	$\frac{100}{3}$	$\frac{100}{12}$	$\frac{100}{15}$	$\frac{100}{15}$
Oslava	0	$\frac{100}{3}$	$\frac{100}{5}$	$\frac{100}{5}$	$\frac{100}{8}$
Ms-65	0	$\frac{100}{1}$	$\frac{100}{9}$	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{10}$
Uran	0	$\frac{60}{10}$	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{15}$	$\frac{100}{15}$
Craigs Defiance	0	$\frac{60}{8}$	$\frac{100}{9}$	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{11}$
Turysta	0	$\frac{40}{5}$	$\frac{100}{6}$	$\frac{100}{9}$	$\frac{100}{12}$
Ms-125	0	$\frac{40}{2}$	$\frac{90}{5}$	$\frac{100}{8}$	$\frac{100}{11}$
R-6	0	$\frac{40}{2}$	$\frac{80}{8}$	$\frac{100}{12}$	$\frac{100}{12}$
Karmen	0	$\frac{20}{1}$	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{15}$	$\frac{100}{15}$
Krasawa	0	$\frac{20}{1}$	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{11}$	$\frac{100}{14}$
Tatry	0	$\frac{20}{1}$	$\frac{80}{3}$	$\frac{100}{8}$	$\frac{100}{8}$
Forella	0	0	$\frac{100}{10}$	$\frac{100}{15}$	$\frac{100}{17}$
Beta	0	0	$\frac{100}{2}$	$\frac{100}{6}$	$\frac{100}{10}$
Saga	0	0	0	$\frac{60}{1}$	$\frac{100}{1}$
Susanna	0	0	0	0	0

jeszcze izolat pochodzący z odmiany Saga nie spowodował wystąpienia objawów chorobowych.

W zależności od stosowanego izolatu wirusa M objawy chorobowe występowały na odciętych liściach gomfreny wcześniej lub później, ale w 8 dniu inkubacji różnice w szybkości występowania objawów zanikły.

Temperatura inkubacji wywarła wpływ nie tylko na szybkość występowania objawów chorobowych (plam) wirusa M na odciętych liściach gomfreny, ale także na ich liczbę. Przy temperaturze inkubacji 24-25°C zaobserwowano wzrost liczby plam (tab. 2).

Tabela 3

Porównanie wyników testu serologicznego i testu na odciętych liściach gomfreny przy wykrywaniu wirusa M ziemniaka

Rozcieńczenie soku	Test serologiczny	Test na odciętych liściach gomfreny*	
		% liści z objawami	liczba plam na liść
Izolat Tatry			
1 : 2	+	100	8
1 : 4	+	100	6
1 : 8	+	100	5
1 : 16	+	100	3
1 : 32	+	100	2
1 : 64	—	90	2
1 : 128	—	100	1
1 : 256	—	10	1
1 : 512	—	30	1
1 : 1024	—	10	1
Izolat Beta			
1 : 2	+	100	10
1 : 4	+	100	8
1 : 8	+	100	6
1 : 16	+	100	5
1 : 32	+	100	3
1 : 64	—	100	2
1 : 128	—	100	1
1 : 256	—	40	1
1 : 512	—	50	1
1 : 1024	—	20	1

* W 8 dniu inkubacji przy temperaturze 24-25°C i oświetleniu ciągłym 1000 luks.

Badając możliwości wykrywania wirusa M ziemniaka na odciętych liściach gomfreny porównano wykrywalność tego wirusa w różnych rozcieńczeniach badanego soku przy pomocy testu serologicznego. Zaobserwowano, że test biologiczny był bardziej czuły od serologicznego. Przy wyższych rozcieńczeniach soku test serologiczny nie wykazywał obecności wirusa M, podczas gdy na odciętych liściach gomfreny występowały jeszcze objawy chorobowe przez niego powodowane. Pełną wykrywalność wirusa M na odciętych liściach gomfreny (objawy na wszystkich inokulowanych liściach) uzyskiwano jeszcze przy rozcieńczeniu soku 1 : 128 (tab. 3).

Dotychczas stosowane rośliny testowe (fasola, *Lycopersicum chilense*) jako uzupełnienie analiz serologicznych do wykrywania wirusa M wymagają znacznych powierzchni w szklarniach. Ponadto należy pamiętać, że najlepsza ze stosowanych dotychczas roślin testowych — fasola Red Kidney — daje w pełni zadowalające wyniki nie we wszystkich porach roku,

co znacznie utrudnia stosowanie tej rośliny jako testu przy masowych badaniach zdrowotności sadzeniaków ziemniaka w okresie jesienno-zimowym.

W przypadku gomfreny stosując kilkakrotne wysiewy nasion i zapewniając odpowiednie warunki wzrostu (chodzi tu przede wszystkim o ciepło) można dysponować w ciągu całego roku odpowiednim materiałem liściowym przydatnym do wykrywania wirusa M.

Stwierdzenie możliwości wykrywania znacznej liczby izolatów wirusa M ziemniaka na odciętych liściach gomfreny oraz przekonanie się o wysokiej czułości testu biologicznego w porównaniu z analizą serologiczną pozwala uważać ten sposób za dobre uzupełnienie analiz serologicznych przy masowych badaniach materiałów hodowlanych i nasienych ziemniaka.

LITERATURA

1. Chrzanowska M.: Wstępne badania nad wykrywaniem wirusów M i S w ziemniakach przy pomocy testów biologicznych. Zesz. probl. Post. Nauk. roln. 1969 z. 94, s. 127-134
2. Hiruki C.: Red Kidney bean, a useful bioassay host for qualitative and quantitative work with potato virus M. *Phytopathology* 1970 t. 60, z. 4, s. 739-740
3. Kowalska A., Waś M.: Wykrywanie wirusów M i S ziemniaka. VI Sesja nauk. Inst. Ziem. Kołobrzeg 13-15. 3. 1973, s. 26-27
4. Ross H.: *Lycopersicum chilense* Dun. eine Testpflanze für beiden Kartoffelviren M und S. *Eur. Potato J.* t. 11, z. 4, s. 281-286
5. Scholz M.: Die Differenzierung des Kartoffel S und M-Virus und das Vorkommen des M-Virus im Kartoffelsortiment der DDR. *NachrBl. dt. PflSchutzdienst* 1965, t. 19, z. 1, s. 5-8

Ирена Кордзиньска, Юзеф Кордзиньски

ВОЗМОЖНОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ М ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ НА ОТРЕЗАННЫХ ЛИСТЯХ ГОМФРЕНЫ (*GOMPHRENA GLOBOSA* L.)

Резюме

В исследованиях по обнаружению вирусов картофеля на отрезанных листьях гомфрены (*Gomphrena globosa* L.) установлена возможность их применения для обнаружения М вируса картофеля.

М вирус картофеля вызывает на отрезанных листьях гомфрены прозрачные пятна, отчетливо видимые на свет. Они проявляют тенденцию разливаться. Эти явления заметно отличаются от пятен вызванных на отрезанных листьях гомфрены X вирусом картофеля.

Определяя пригодность двух разных температур инкубации, температура 24-25°C признана наиболее пригодной, при непрерывном освещении с освещенностью 1000 люксов.

При этой температуре пятна появились быстрее, а их численность была выше чем при температуре инкубации 20-21°C.

Сравнивая обнаруживаемость М вируса картофеля в разных разбавлениях исследуемого сока серологическим тестом и на отрезанных листьях гомфрены установлено, что биологический тест был более чувствительным.

Высокая чувствительность отрезанных листьев гомфрены на большее количество изолятов М вируса позволяет считать этот тест хорошим дополнением массовых исследований, которые применяются в селекции и семеноводстве картофеля.

Irena Kordzińska, Józef Kordziński

POSSIBILITY OF DETECTION OF POTATO VIRUS M ON ISOLATED LEAVES OF GOMPHRENA GLOBOSA L.

Summary

In studies on the detection of potato viruses on isolated leaves of gomphrena (*Gomphrena globosa* L.), the possibility of applying these leaves for the detection of virus M was confirmed.

Virus M caused on isolated leaves of gomphrena transparent spots, which were clearly visible against the light, and showed a tendency to spread. These symptoms clearly differed from the spots caused on isolated leaves of *Gomphrena* by virus X.

In experiments on the suitability of two different incubation temperatures, the temperature range 24-25° was found to be preferable, with continuous irradiation with 1000 Lux. At this temperature the spots occurred earlier, and their number was higher than at 20-21 °C.

Comparison of the detectability of virus M, at various concentrations of the investigated sap, by the serological test and by the test using isolated gomphrena leaves showed that the latter one was more sensitive.

The high sensitivity of isolated gomphrena leaves to a considerable number of virus M isolates permits regarding this test as a useful supplement of the large-scale tests applied in potato cultivation and seed production.

Wpłynęło do Komitetu Redakcyjnego 29 01 76