

WSTĘPNA IDENTYFIKACJA WIRUSA WYWOŁUJĄCEGO MOZAIKĘ BOBIKU W SHR POLANOWICE

Tadeusz Kobytko

Katedra Botaniki Ogólnej WSR Kraków

Spośród roślin motylkowych uprawianych na szerszą skalę, bobik bardzo często porażany jest przez wiele chorób wirusowych. Reaguje na nie spadkiem plonu zarówno masy zielonej jak i nasion. O jego dużej podatności na wirusy może świadczyć fakt, że jak stwierdził Krajew [11] na polach gospodarstw doświadczalnych Ukraińskiego Instytutu Uprawy Roli, 80—90% roślin było porażonych przez mozaikę. Na podstawie naszych obserwacji prowadzonych w Stacji Hodowli Roślin Polanowice ok. 30—40% roślin podlegało corocznie infekcji wirusami wywołującymi chorobę typu mozaiki.

Jest to zresztą wiroza bobiku występująca najczęściej. Po raz pierwszy opisana była przez Böninga w Niemczech w 1927 r. O występowaniu jej w Polsce donosili Kochman i Stachyra [9] określając porażenie nią plantacji na ok. 10%.

Nasilenie występowania tej choroby w ostatnich latach na plantacji bobiku w SHR Polanowice skłoniło autora do podjęcia badań mających na celu zidentyfikowanie wirusa wywołującego tę chorobę oraz zbadanie dynamiki jego rozprzestrzeniania w ciągu dwóch kolejnych lat 1968 i 1969.

MATERIAŁ I METODYKA

Materiałem wyjściowym do badań był izolat wirusa otrzymany z porażonej przez mozaikę rośliny bobiku odmiany Major. Mozaika ta wystąpiła na polach hodowlanych w SHR Polanowice. Zawirusowanie plantacji określano jako odsetek chorych roślin z ogólnej ilości roślin liczonych w 10 losowo wybranych miejscach, przesuwając się po przekątnej pola.

Po uzyskaniu izolatu dalsze badania prowadzono w warunkach szklarniowych. Szklarnia wolna była od owadów. W okresie badań temperatura w szklarni wahała się w granicach 18—26°C, a wilgotność względna powietrza wynosiła ok. 70%. Nasiona roślin używanych w doświadczeniu dezynfekowano 45% etanolem, a następnie wysadzano do doniczek z parowaną ziemią. Kulturę wirusa utrzymywano przez kolejne inokulacje młodych siewek bobiku tej samej odmiany.

Inokulowano rośliny młode w fazie 2—3 liści (par liści) przez pocieranie blaszek liściowych. Jako inokulum używano soku chorych roślin, rozcieńczonego równą ilością buforu fosforanowego o pH 7,2 z dodatkiem karborundu o gradacji 500 mesh. Z każdego gatunku inokulowano po ok. 20 roślin. Reinokulacji na *Chenopodium amaranticolor* dokonywano w przypadkach wątpliwych.

Właściwości fizyczne oznaczano na bobiku odmiany Major oraz na komosie czerwonej. Sok pobierano z młodych roślin bobiku z objawami mozaiki. Wyciśnięty sok wirowano przez 10 min. przy 3006 obr./min., a następnie po 2 ml tego soku w cienkościennych probówkach ogrzewano w ultratermostacie w ciągu 10 min. Po podgrzaniu, sok chłodzono w zimnej, bieżącej wodzie. Sokiem tym inokulowano liście młodych siewek bobiku i komosy. Przy określaniu granicznego punktu rozcieńczenia sok rozcieńczano wodą destylowaną. Trwałość *in vitro* badano pozostawiając sok w temperaturze pokojowej (ok. 20°C) i codziennie zakażano nim kilkanaście siewek. Doświadczenia te prowadzono od czerwca 1967 r. do listopada 1969 r.

WYNIKI

W latach 1968—1969 przeprowadzono po 3 obserwacje w ciągu okresu wegetacji nad występowaniem wirusa mozaiki bobiku na polach hodowlanych w SHR Polanowice. Wyniki obserwacji przedstawia tabela 1.

Tabela 1

Porażenie plantacji bobiku odmiany Major przez wirus mozaiki bobiku w SHR Polanowice w latach 1968—1969

	Data obserwacji	% porażenia
1968	17 VI	32,7
	19 VII	38,4
	8 VIII	45,1
1969	20 VI	23,4
	16 VII	31,6
	12 VIII	38,8

Przedstawione w niej dane wskazują, że procent zawirusowanych roślin wykazywał tendencję wzrostową w okresie wegetacji, przy czym w 1968 r. był on znacznie wyższy.

Celem zidentyfikowania wirusa przebadano reakcję szeregu gatunków roślin zarówno z rodziny motylkowatych (*Papilionaceae*), jak i innych, służących jako rośliny testowe (tab. 2). Tabela ta przedstawia porównanie danych z literatury dotyczących reakcji roślin testowych na zakażenie przez *Pisum virus 2* i *Phaseolus virus 2*, z reakcją tych roślin na badany wirus.

Tabela 2

Porównanie reakcji różnych roślin testowych na zakażenie przez *Pisum virus 2*, *Phaseolus virus 2* i wirus badany

Gatunki i odmiany roślin	<i>Pisum virus 2</i>		<i>Phaseolus virus 2</i>		Badany wirus
	Cytowana praca	Cytowana praca	Cytowana praca	Cytowana praca	
<i>Vicia faba (minor)</i> L. — Major	S	Książek [1962]	S	Błaszczak [1963]	S
<i>Vicia faba (major)</i> L. — Seville					S
<i>Lupinus albus</i> L. — Przebędowski			S	Błaszczak [1963]	L, S
<i>Lupinus albus</i> L. — Kali					L, S
<i>Lathyrus odoratus</i> L. — White King	S	Książek [1962]	S	Błaszczak [1966]	S
<i>Pisum sativum</i> L. — Jeleniecki					S
„ „ — Kosieczynska			S	Błaszczak [1963]	S
„ „ — Kortowska					S
<i>Trifolium repens</i> L.			S	Kovachevsky [1968]	S + —
<i>Trifolium incarnatum</i> L. — Opolska				{ Błaszczak [1963]	—
<i>Trifolium pratense</i> L. — Gloria			S?	{ Książek [1962]	S
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. — Saxa	S	Roland [1966]	S	Błaszczak [1966]	S
„ „ — Canadian Wonder					S
„ „ — Pinto					S + —
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	L, S?	{ Własow [1966]	L, S	Własow [1966]	L, S
		{ Książek [1962]			
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste et Reyn.	L, S?	{ Własow [1966]	L, S	Własow [1966]	L, S
		{ Książek [1962]			
<i>Cucumis sativus</i> L. — Monastyrski					—
<i>Nicotiana tabacum</i> L. White Burley	L	Klinkowski [1968]			—
<i>Gomphrena globosa</i> L.	L	Krajew [1966]	L	Klinkowski [1968]	—

L = objawy lokalne, S = objawy systemiczne, — = brak objawów, + — = brak jednolitej reakcji. ? = rozbieżność w doniesieniach z literatury.

OBJAWY WYSTĘPUJĄCE NA RÓŻNYCH GATUNKACH ROŚLIN TESTOWYCH ZAKAŻONYCH
BADANYM IZOLATEM WIRUSA MOZAIKI BOBIKU

Vicia faba var. minor — W warunkach polowych pierwsze objawy ukazywały się w drugiej połowie okresu wegetacji, w fazie pełnego kwitnienia. Na górnych liściach pojawiały się plamki i rozjaśnienia biegnące wzdłuż nerwów. Przy silnym porażeniu powierzchnia liści pokrywała się drobnymi wypukłościami. Brzeg blaszki liściowej lekko podwijał się ku górze lub ku dołowi. Górna część łodygi wykazywała silne skrócenia międzywęźli.

W warunkach szklarniowych obraz choroby był następujący: po 7—8 dniach od momentu inokulacji na najmłodszych liściach obserwowano rozjaśnienie nerwów, a następnie jasne plamki, gęsto rozsiane, z czasem zlewające się w większe. Występowała bardzo wyraźna mozaika. Przebadano reakcję 65 odmian bobiku — europejskich, azjatyckich, afrykańskich i stwierdzono, że wszystkie ulegały infekcji, a obraz chorobowy był we wszystkich przypadkach podobny. Różnice występowały jedynie w intensywności objawów.

Vicia faba var. major — Objawy były podobne jak na bobiku.

Lupinus albus — Po około 12 dniach na inokulowanych listkach następowało miejscowe odbarwienie blaszki liściowej i ukazywały się ciemnozielone plamki. Listki te następnie zasychały. Roślina albo ginęła albo regenerowała i wtedy wyrastały młode liście z jasnymi plamkami. Stwierdzono również silne zahamowanie wzrostu. Obydwie badane odmiany Kali i Przebędowski reagowały podobnie.

Lathyrus odoratus — Po 2 tygodniach od momentu inokulacji górne liście wykazywały silne objawy mozaiki.

Pisum sativum — Groch Jeleniecki reagował mozaiką o silnie odgraniczonych, jasnych i ciemnych plamach. Objawy występowały po 7—8 dniach.

Pisum arvense — Na peluszcze Kosieczynskiej i Kortowskiej objawy mozaiki wystąpiły dopiero po 12 dniach od momentu inokulacji.

Trifolium repens — Po 24 dniach najmłodszy liść wykazywał wyraźną mozaikę, złożoną z pasiastych rozjaśnień, biegnących wzdłuż albo między nerwami, którą obserwowano również na każdym nowo formującym się liściu. Objawy takie wystąpiły tylko w kilku przypadkach.

Trifolium incarnatum — Objawy były podobne jak na *T. repens*.

Trifolium pratense — Na najmłodszych liściach wystąpiło silne przejaśnienie biegnące wzdłuż nerwów. Objawy ukazywały się po 3 tygodniach. Zakażeniu podlegał tylko znikomy procent inokulowanych roślin.

Phaseolus vulgaris — Z trzech odmian fasoli Canadian Wonder, Saxa i Pinto tylko pierwsze dwie dość łatwo podlegały zakażeniu. Stwierdzono wyłącznie reakcję systemiczną. Po 3 tygodniach na najmłodszych liściach występowała mozaika i silne pomarszczenie.

Chenopodium quinoa — Na liściach inokulowanych, po 6 dniach pojawiały się objawy lokalne w postaci jasnych plamek. Plamki te powiększały się wytwarzając fioletowo-czerwoną obwódkę. Po 14—16 dniach od inokulacji liście te zasychały i odpadały. W tym czasie na górnych liściach pojawiała się mozaika.

Chenopodium amaranticolor — Po 7 dniach ukazywały się plamki na liściach

inokulowanych. Blaszki liściowe podwijały się brzegiem w dół. Po 2 tygodniach od inokulacji na górnych liściach pojawiały się plamki podobne do plamek na liściach inokulowanych.

Nie uległy zakażeniu: *Cucumis sativus* odmiana Spotresisting, *Nicotiana tabacum* odmiana White Burley i *Gomphrena globosa*.

Uzupełnieniem wymienionych wyżej badań diagnostycznych było zbadanie właściwości fizycznych identyfikowanego wirusa. Na podstawie przeprowadzonych testów ustalono, że tracił on swą infekcyjność w temperaturze 65°C, a zachowywał ją jeszcze w temperaturze 60°C. Przeżywalność w soku wynosiła 2—3 dni. Graniczny punkt rozcieńczenia wahał się w granicach 1:1000 do 1:5000.

DYSKUSJA I WNIOSKI

Przebieg choroby na bobiku zgodny był z opisami podanymi przez Böninga [4], Quantza [14], Rolanda [16], Noura, Noura [13], Czesnokowa, Gołubiewa [5], Krajewa [11], Własowa [21], Klinkowskiego [8] dla zwykłej mozaiki bobiku. Jako sprawcę tej choroby wymieniają oni wirusa zwykłej mozaiki grochu *Pisum virus 2* (ang. pea mosaic virus — PMV). Niektórzy z wymienionych autorów Klinkowski [8], Krajew [11], Własow [21] wyrażają pogląd, że zwykłą mozaikę bobiku może również wywołać wirus żółtej mozaiki fasoli *Phaseolus virus 2* (ang. bean yellow mosaic virus — BYMV). Różnice w poglądach na temat przyczyn tej choroby mogły wynikać z trudności w rozróżnianiu tych wirusów, które jak się okazało w świetle ostatnich badań Goodchilda [6], Schroedera i Prowidenti'ego [17], Taylora [20] są różnymi szczepami tego samego wirusa.

Badany izolat wirusa wywoływał reakcję systemiczną u fasoli odmiany Saxa, którą Książek [12] i Błaszczak [2] uważają za odporną na PMV. Wartość diagnostyczną tego testu ogranicza jednak doniesienie Rolanda [16], że szczep PMV wyizolowany z bobiku wywoływał mozaikę na liściach fasoli tej odmiany.

W kilku przypadkach udało się przenieść badanego wirusa drogą inokulacji na koniczynę białą, którą jako roślinę gospodarza dla wirusa żółtej mozaiki fasoli wymienia Anderson i Halpin [1], Kovachevsky [10]. Według Klinkowskiego [8] koniczyna biała jest gospodarzem dla PMV.

Na *Chenopodium amaranticolor* i *Ch. quinoa* obserwowano objawy bardzo zbliżone do tych, jakie dla *Phaseolus virus 2* podają Błaszczak [2], Własow [21], Šutić i Babović [19]. Podobne objawy na obu wymienionych gatunkach komosy obserwowwała Książek [12] po zakażeniu ich szczepem PMV wyizolowanym z łubinu, wywołującym u niego „wąskolistność”.

Wyniki uzyskane w doświadczeniu nad własnościami fizycznymi wirusa mozaiki bobiku (punkt termicznej inaktywacji 60—65°C, trwałość *in vitro* 2—3 dni, rozcieńczenie graniczne 1:1000—1:5000) pokrywają się z danymi Noura [13], Krajewa [11]. Takie same własności dla szczepu PMV podają Smith [18] i Klinkowski [8]. Roland [16] dla szczepu PMV wyizolowanego z bobiku podaje punkt termicznej inaktywacji w granicach 56—60°C.

Ustalony zakres roślin gospodarzy i reakcja roślin testowych oraz właściwości fizyczne badanego wirusa, pozwalają przypuszczać, że mozaikę bobiku w SHR Polanowice wywołał szczep typu PMV wirusa żółtej mozaiki fasoli.

STRESZCZENIE

W pracy przedstawiono próby identyfikacji szczepu wirusa mozaiki bobiku, która wystąpiła w hodowlach SHR Polanowice.

Wynik dotychczas przeprowadzonych testów wskazuje na to, że wirus ten ma pośrednie właściwości pomiędzy *Phaseolus virus 2* a *Pisum virus 2*. Nie wyklucza się również możliwości infekcji mieszanej.

LITERATURA

1. Anderson L. P. and Halpin J. E. — 1961, *Phytopath.* 51: 642.
2. Błaszczak W. — 1963, *Rocz. WSR w Poznaniu*, 15: 1—78.
3. Błaszczak W. — 1966, *Acta agrobot.* XVIII: 31—57.
4. Böning K. — 1927, *Forsch. Pfl. Kr.* 4: 43—111.
5. Czesnokow P. G., Gołubiew A. A. — 1966, *Trudy V Wsjesojuznowo Sowieszczania po Wirusnym Boleznjam Rastieni*, Kijew: 386—390.
6. Goodchild D. J. — 1956, *Austr. J. Biol. Sci.* 9: 231—237.
7. Klinkowski M. — 1964, *Choroby wirusowe roślin*, PWRiL Warszawa.
8. Klinkowski M. — 1968, *Pflanzliche Virologie*, Akademie Verlag, Berlin.
9. Kochman J. i Stachyra T. — 1957, *Rocz. Nauk rol., ser. A.* t. 77, z. 2, 297—325.
10. Kovachevsky J. C. — 1968, *Phytopath. Z.* 61: 41—48.
11. Krajew W. G. — 1966, *Trudy V Wsjesojuznowo Sowieszczania po Wirusnym Boleznjam Rastieni*, Kijew: 406—412.
12. Książek D. — 1962, *Acta agrobot.*, XII: 278—322.
13. Nour M. A. and Nour J. J. — 1962, *Phytopath.* 52: 398—403.
14. Quantz L. — 1953, *Phytopath. Z.* 20: 421—448.
15. Quantz L. — 1958, *T. Pl. ziekten.* 64: 396—398.
16. Roland G. — 1966, *Parasitica*, XXII. Nr 4: 277—284.
17. Schroeder W. T. and Prowidenti R. — 1966, *Pl. Dis. Rep.* 50: 337—340.
18. Smith K. M. — 1957, *A textbook of plant diseases*, London.
19. Šutić D. and Babović M. — 1966, *Rev. Roum. Biol.-Botanique*, t. 11, nr 1—3: 225—229.
20. Taylor R. H. and Smith P. R. — 1968, *Austr. J. Biol. Sci.* 21: 429—437.
21. Własow Ju. — 1966, *Trudy V Wsjesojuznowo Sowieszczania po Wirusnym Boleznjam Rastieni*, Kijew: 391—397.

Тадеуш Кобылко

ВСТУПИТЕЛЬНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСА ВЫЗЫВАЮЩЕГО МОЗАИКУ МЕЛКОСЕМЯННОГО БОБА В ПОЛЯНОВИЦАХ

РЕЗЮМЕ

Работа представляет попытки идентифицирования штамма вируса мозаики мелкосемянного боба, появившегося в культурах Станции селекции растений Поляновице.

Результаты проведенных до сего времени тестов указывают на то, что упомянутый вирус имеет промежуточные свойства между *Phaseolus virus 2* и *Pisum virus 2*. Не исключена также возможность смешанной инфекции.

Tadeusz Kobyłko

ELIMENTARY IDENTIFICATION OF BROAD BEAN MOSAIC VIRUS OCCURRED
AT POLANOWICE

S U M M A R Y

The paper presents attempts of the identification of the strain of broad bean mosaic virus which occurred in plantations of the Plant Breeding Station at Polanowice.

Results of tests carried out recently indicate that the virus has intermediate properties between *Phaseolus virus 2* and *Pisum virus 2*. The possibility of mixed infection also cannot be excluded.