

Z BADAŃ NAD ODPORNOŚCIĄ KONICZYNY CZERWONEJ NA WIRUS ŻÓLTEJ MOZAIKI FASOLI

Zofia Fiedorow, Magdalena Margowska

Instytut Ochrony Roślin, AR Poznań

WSTĘP

Choroby wirusowe są szeroko rozpowszechnione na uprawach koniczyiny czerwonej. Straty szacuje się na 23-55% w USA [9] oraz kilkanaście procent w Europie. W Polsce wg Kowalskiej [7] straty plonu zielonej masy w pierwszym roku są nieznaczne i wzrastają w miarę przedłużania czasu uprawy. Choroby wirusowe wpływają także ujemnie na produkcję nasion oraz są groźnym rezerwuarem wirusów dla upraw innych roślin motylkowatych. Jak stwierdzono, spośród około 15 wirusów [6] występujących na koniczyinie czerwonej dominującą rolę odgrywa wirus żółtej mozaiki fasoli [2-8].

W wyniku badań odpornościowych uzyskano w USA odmianę koniczyiny czerwonej Arlington o umiarkowanej odporności oraz klony odmiany Kenstar wykazujące całkowitą, polegającą na nadwrażliwości odporność na wirus żółtej mozaiki fasoli.

W Polsce badania nad odpornością koniczyiny czerwonej na choroby wirusowe prowadzili Błaszczak i Kowalska [1] i wykazali istnienie odporności na wirus żółtej mozaiki fasoli spośród pięciu badanych odmian koniczyiny czerwonej.

Badania podjęte w 1974 r. przez Instytut Ochrony Roślin Akademii Rolniczej w Poznaniu miały na celu zbadanie reakcji możliwie dużej liczby odmian i rodów hodowlanych koniczyiny czerwonej na zakażenie przez izolaty wirusa żółtej mozaiki fasoli ze szczególnym zwróceniem uwagi na obecność osobników wykazujących reakcję nadwrażliwą jako rokujących szybsze efekty w pracy hodowlanej.

MATERIAŁ I METODYKA

Materiał infekcyjny stanowiły izolaty wirusa żółtej mozaiki fasoli zebrane z naturalnie zakażonych roślin koniczyny czerwonej z terenów województw poznańskiego i częstochowskiego. Ogółem zebrano 50 prób roślin koniczyny czerwonej wykazujących wiropodobne objawy, z których w warunkach szklarniowych wykonano reizolacje na zestaw roślin testowych obejmujących: fasolę Saxa, bobik — Nadwiślański, łąbin wąskolistny — Obornicki, łąbin biały — Kali, groch — Łagiewnicki i Cud Ameryki, tytoń oraz komosę amarantową. Obserwacje ujawniających się objawów chorobowych przeprowadzono w ciągu trzech tygodni, a następnie celem ustalenia infekcji bezobjawowych wykonywano reizolacje z roślin nie wykazujących objawów na groch Łagiewnicki.

Spośród 34 zebranych izolatów wirusa żółtej mozaiki fasoli wybrano do porównania 9 izolatów. Pięć izolatów zebranych w 1974 r. porównywano na odmianie Gloria, a 4 izolaty zebrane w 1975 r. na odmianie Skrzyszowicka. Każdym izolatem inokulowano 60 roślin koniczyny czerwonej. Inokulum przygotowywano z zakażonych roślin grochu a w przypadku izolatu kcz 2 także z koniczyny w celu porównania infekcyjności inokulum. Obserwacje objawów chorobowych przeprowadzano co 3-5 dni, w ciągu 4-8 tygodni od inokulacji.

Do dalszych badań wybrano izolat kcz 4, który w 1974 r. wykazał największą zakaźność (wirulencję). Z kolei przebadano wpływ czynników zewnętrznych na efektywność inokulacji koniczyny czerwonej, mając na uwadze badania Kowalskiej [7], w których rośliny koniczyny czerwonej trudno ulegały zakażeniu w wyniku inokulacji mechanicznej.

Zbadano następujące czynniki:

- 1) wiek roślin w chwili inokulacji (3, 5 i 7 tygodni);
- 2) powtórzenie inokulacji — jednokrotna, dwukrotna (po 2 dniach), trzykrotna (po 2 i 3 dniach);
- 3) zaciemnianie roślin przez 24 godziny przed inokulacją.

Doświadczenia przeprowadzono na odmianach koniczyny czerwonej Skrzyszowicka (wariant 1 i 2) oraz Gloria (wariant 3), biorąc po 60-100 roślin na 1 kombinację. Rośliny, które po upływie 4 tygodni od inokulacji okazały się wolne od infekcji (co sprawdzono poprzez reizolacje na groch Łagiewnicki) wysadzono do gruntu w ogrodzie w celu sprawdzenia ich odporności na zakażenie przez wirusy w warunkach naturalnych.

Przebadano reakcję ośmiu odmian koniczyny czerwonej: Skrzyszowicka, Hruszowska, Radzikowska, Disa, Reko, Hermes, Merkur, Pennscot oraz rodów Strugi R-104 i R-72 tetraploidalna na zakażenie przez wirus żółtej mozaiki fasoli. Inokulowano po 60 roślin każdej odmiany, obserwacje objawów przeprowadzano co 3-5 dni w ciągu 4 tygodni od inokulacji;

z roślin nie wykazujących objawów wykonano reizolacje na groch Łągiewnicki.

Rośliny koniczyny czerwonej odmian Skrzyszowicka, Hruszowska, Radzikowska oraz rodu Strugi R-104, które nie uległy zakażeniu w szklarni wysadzono do gruntu w celu sprawdzenia ich odporności na zakażenie w warunkach naturalnych. Obserwacje nad zdrowotnością roślin wysadzonych do gruntu prowadzono co 7-14 dni w ciągu 2 miesięcy od wysadzenia (do końca lipca). Z 22 roślin wykazujących objawy wiropodobne wykonano reizolacje na zestaw roślin testowych w celu identyfikacji sprawcy. W przypadku 2 izolatów dodatkowo zbadano ich właściwości fizyczne. Spośród roślin, które nie uległy zakażeniu w polu wybrano 4 rośliny do badań szklarniowych. Resztę roślin pozostawiono w polu w celu przezimowania.

WYNIKI

Spośród zebranych 37 izolatów wirusów z naturalnie zakażonych roślin koniczyny czerwonej zdecydowanie dominował wirus żółtej mozaiki fasoli — 33 izolaty. Sporadycznie izolowano wirus mozaiki koniczyny białej oraz wirus mozaiki lucerny (tab. 1). Identyfikację oparto o reakcję roślin testowych (tab. 2). Wirus żółtej mozaiki fasoli wywołał infekcję lokalną w przypadku fasoli i komosy amarantowej, a infekcję systemiczną w przypadku grochu Łągiewnickiego, bobiku, łubinu białego, łubinu wąskolistnego i komosy amarantowej (niektóre izolaty); groch Cud Ameryki oraz tytoń nie podlegały infekcji.

Wirus mozaiki lucerny wywołał infekcję lokalną, nekrotyczną w przypadku: fasoli, bobiku; komosy amarantowej oraz łubinu białego; systemiczną w przypadku: grochu Łągiewnickiego i Cudu Ameryki, łubinu białego, łubinu wąskolistnego, komosy amarantowej oraz tytoniu.

Wirus mozaiki koniczyny białej wywołał infekcję lokalną w przypadku: łubinu białego, fasoli, bobiku oraz grochu Cud Ameryki, a infekcję systemiczną w przypadku grochu Łągiewnicki i Cud Ameryki oraz bobiku. Komosa amarantowa, tytoń oraz łubin wąskolistny nie podlegały infekcji.

Nie stwierdzono zasadniczego wpływu, powtarzania inokulacji oraz zaciemnienia roślin koniczyny czerwonej przed inokulacją na ich zakażenie przez wirus żółtej mozaiki fasoli. Jednakże, na roślinach inokulowanych w młodszym wieku (3 tygodnie) objawy chorobowe ukazywały się o 7-14 dni wcześniej niż na roślinach inokulowanych w starszym wieku (5-7 tygodni). Po upływie miesiąca od inokulacji liczba roślin zakażonych była podobna we wszystkich kombinacjach (tab. 3). Niektóre rośliny ujawniły objawy chorobowe dopiero po 2 miesiącach.

Tabela 1

Wirusy izolowane z naturalnie zakażonych roślin koniczyny czerwonej w latach 1974 i 1975

Data zbioru	Pochodzenie	pobranych prób	izolacji pozytywnych	Liczba izolatów zidentyfikowanych jako:		
				wirus żółtej mozaiki fasoli	wirus mozaiki koniczyny białej	wirus mozaiki lucerny
1974						
19 VI	Poznań	3	3	3	0	0
10 VII	Nieznanice (woj. częstochowskie)	9	8	8	0	0
11 VII	Bąków (woj. częstochowskie)	3	3	3	0	0
7 IX	Łącko (k. Nowego Sącza)	3	1	0	1	0
7 IX	Sucha Dolina (woj. Nowy Sącz)	9	1	0	1	0
1975						
13 V	Słupia Wielka	11	10	8	0	2
2 VII	Bąków	1	0	0	0	0
3 VII	Nieznanice	11	11	11	0	0
Razem		50	37	33	2	2

Tabela 2

Reakcja roślin testowych na zakażenie przez wirusy izolowane z naturalnie zakażonych roślin koniczyny czerwonej

Gatunek i odmiana rośliny testowej	Reakcja roślin testowych na wirusy							
	żółtej mozaiki fasoli				mozaiki koniczyny białej		mozaiki lucerny	
	szczep grochowy		szczep fasolowy					
	lok.	syst.	lok.	syst.	lok.	syst.	lok.	syst.
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste et Reyn.	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Nicotiana tabacum</i> L. — Turecki	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Lupinus albus</i> L. — Kali	-	+	-	+	+	-	+	+
<i>Lupinus angustifolius</i> L. — Obornicki	-	+	-	+	-	-	-	+
<i>Pisum sativum</i> L.								
— Łagiewnicki	-	+	-	+	-	+	-	+
— Cud Ameryki	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. — Saxa	+	-	+	+	+	-	+	-
<i>Vicia faba</i> ssp. <i>minor</i> Harz. — Nadwiślański	-	+	-	+	+	+	+	+

Tabela 3

Podatność roślin koniczyny czerwonej odmiany Skrzyszowicka na zakażenie przez wirus żółtej mozaiki fasoli

Wiek inokulowanych roślin w tygodniach	Procent roślin chorych po upływie dni od inokulacji				
	7	14	21	30	60
3	25	52	58	58	70
5	7	28	44	59	64
7	5	33	47	53	67

Tabela 4

Zakażenie roślin koniczyny czerwonej odmiany Skrzyszowicka przez wirus żółtej mozaiki fasoli w zależności od liczby powtórzeń inokulacji

Rośliny inokulowane	Procent roślin chorych po upływie dni od pierwszej inokulacji			
	7	14	21	30
1 raz	8	31	42	45
2 razy	5	38	48	48
3 razy	0	28	36	38

Powtarzanie dwu lub trzykrotne inokulacji nie wpłynęło na zwiększenie liczby zakażonych roślin, a nawet nieco opóźniło wystąpienie objawów choroby w pierwszym okresie po inokulacji (tab. 4). Było to spowodowane prawdopodobnie silniejszym uszkodzeniem inokulowanych liści.

Zaciemnienie roślin przed inokulacją przyniosło przeciwny od spodziewanego skutek w postaci zmniejszenia liczby zakażonych roślin. Ilustrują to następujące dane:

Rośliny	Liczba roślin chorych po upływie dni od inokulacji			
	7	14	21	30
Zaciemniane	0	6	9	10 (17%)
Niezaciemniane	8	20	29	29 (48%)

Badane izolaty wirusa żółtej mozaiki fasoli wykazały zróżnicowaną wirulencję zakażając w tych samych warunkach różną liczbę roślin koniczyny czerwonej. Na odmianie Gloria najbardziej wirulentny okazał się izolat kcz 4 — 37% zakażonych roślin, a najmniej wirulentny ksz 1 — jedna zakażona roślina na 60 inokulowanych (tab. 5). Izolat ksz 1 należał do szczepu fasolowego wirusa żółtej mozaiki fasoli na ogół nie spotykanego na koniczynie czerwonej w Polsce i był izolowany z koniczyny szwedzkiej. Na odmianie Skrzyszowicka wyższą wirulencję wykazały izolaty kcz 31 i kcz 34 (tab. 6).

Spośród 10 badanych odmian i rodów hodowlanych koniczyny czerwonej stwierdzono różną podatność na wirus żółtej mozaiki fasoli. Najbardziej podatne okazały się odmiany pochodzenia szwedzkiego — Disa i Reko. Polskie odmiany: Hruszowska, Radzikowska i Skrzyszowicka uległy zakażeniu w mniejszym stopniu. Szczególnie odporny na zakażenie

Tabela 5

Reakcja koniczyny czerwonej odmiany Gloria na zakażenie przez 5 izolatów wirusa żółtej mozaiki fasoli*

Symbol izolatu	Inokulum z	Liczba roślin wykazujących objawy chorobowe po upływie tygodni od inokulacji			
		4		8	
		mozaika	nekrozy	mozaika	nekrozy
kcz 2	grochu	1	0	7	0
	koniczyny	0	0	3	0
kcz 4	grochu	12	0	22	1
kcz 5	grochu	0	0	15	2
kcz 8	grochu	2	0	11	2
kcz 1	grochu	0	1	0	1

* Czas trwania doświadczenia 21. 11. 1974-23. 01. 1975.

Tabela 6

Reakcja koniczyny czerwonej odmiany Skrzyszowicka na zakażenie przez 5 izolatów wirusa żółtej mozaiki fasoli wyosobnionych w roku 1975*

Symbol izolatu	Liczba roślin wykazujących objawy chorobowe po upływie od inokulacji			
	3 tygodni		5 tygodni	
	mozaika	nekrozy	mozaika	nekrozy
kcz 4	8	1	11	1
kcz 29	16	0	18	0
kcz 31	14	0	27	1
kcz 34	20	1	22	1
kcz 35	7	0	8	0

* Czas trwania doświadczenia 12 08-17 09 1975.

okazał się ród Strugi R-104, ponieważ infekcji uległa tylko 1 roślina (tab. 7).

Rośliny koniczyny czerwonej zakażone przez wirus żółtej mozaiki fasoli wykazały głównie objawy mozaiki o różnym natężeniu. Część roślin (1-5%) reagowała nekrozami o charakterze systemicznym. Nie znaleziono roślin reagujących nekrozami o charakterze lokalnym. Zakażenie bezobjawowe spotykano wyjątkowo.

Spośród roślin koniczyny czerwonej odmian Hruszowska, Radzikowska i Skrzyszowicka wysadzonych do gruntu infekcji uległo 40-56%

Tabela 7

Podatność 10 odmian i rodów hodowlanych koniczyny czerwonej na zakażenie przez wirus żółtej mozaiki fasoli (izolat kcz 4)

Odmiana	Liczba roślin* wykazujących objawy po upływie od inokulacji			
	2 tygodni		4 tygodni	
	mozaika	nekrozy	mozaika	nekrozy
Hruszowska	10	3	16	3
Radzikowska	12	0	18	0
Skrzeszowicka	4	0	9	0
Ród Strugi R-104	0	0	1	0
Hermes	8	0	14	2
Merkur	20	0	22	0
Disa	28	1	37	2
Reko	27	1	36	1
Penscot	14	0	20	0
R-72 (tetraploidalna)	7	0	11	2

* Na 60 roślin inokulowanych.

roślin. Wysoką zdrowotność w warunkach polowych wykazał ród Strugi R-104 (tab. 8). Zakażeniu uległo tylko 7% roślin, co potwierdziło wyniki uzyskane w warunkach szklarniowych.

Z 22 zakażonych naturalnie roślin, co stanowiło około 25% wszystkich roślin zakażonych w polu, wykonano reizolacje na rośliny wskaźnikowe w celu identyfikacji wirusów biorących udział w naturalnej infekcji wysadzonych roślin koniczyny czerwonej. Objawy wywołane na roślinach wskaźnikowych oraz właściwości fizyczne umożliwiły zidentyfikowanie wszystkich izolatów, jako izolaty wirusa żółtej mozaiki fasoli.

Tabela 8

Naturalne zakażenie roślin koniczyny czerwonej w warunkach polowych przez wirus żółtej mozaiki fasoli

Odmiana	Termin wysadzenia do gruntu	Liczba roślin zakażonych po upływie dni od wysadzenia			
		7	14	30	60
Hruszowska	26 05 75	0/39	3/39	8/39	17/39 (44%)
Radzikowska	„	0/34	0/34	4/34	19/34 (56%)
Ród Strugi R-104	„	0/55	0/55	1/55	4/55 (7%)
Skrzeszowicka	„	0/42	0/42	5/42	17/42 (40%)
Skrzeszowicka	2 07 75	1/94	8/94	30/94 (32%)	—

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że dominującym wirusem na plantacjach koniczyny czerwonej w Polsce jest wirus żółtej mozaiki fasoli — szczep grochowy (w pracy Kowalskiej [7, 8] nazywany wirusem mozaiki grochu). Badane przez nas odmiany koniczyny czerwonej dość łatwo ulegały zakażeniu przez wirus żółtej mozaiki fasoli na drodze inokulacji mechanicznej. Po jednokrotnej inokulacji zachorowało 45% inokulowanych roślin, podczas gdy w badaniach Kowalskiej tylko 10% i dopiero w wyniku wielokrotnie powtarzanej inokulacji infekcji uległa większość inokulowanych roślin. Różnice te mogły być wynikiem stosowania do inokulacji różnych izolatów wirusa. Duża część roślin (7-56%), które nie uległy infekcji w wyniku inokulacji mechanicznej (co sprawdzono metodą reizolacji na rośliny testowe) uległa zakażeniu w czasie od 4 do 8 tygodni po wysadzeniu do gruntu. Za pomocą testu biologicznego stwierdzono, że infekcję wywołał wirus żółtej mozaiki fasoli.

Powyższe wyniki wskazują na konieczność stosowania przy ocenie podatności odmian koniczyny czerwonej na wirus żółtej mozaiki fasoli zarówno badań szklarniowych z zastosowaniem inokulacji mechanicznej, jak i polowych, kiedy to rośliny ulegają infekcji w sposób naturalny. W warunkach naturalnych bowiem rośliny mają szansę ulec zakażeniu wirusem w sposób mechaniczny oraz przez mszyce, a także zetknąć się z wieloma izolatami wirusa o różnej wirulencji.

Rośliny koniczyny czerwonej reagowały na zakażenie wirusem żółtej mozaiki fasoli objawami mozaiki lub nekrozami. Te ostatnie występowały u 1-5% inokulowanych roślin. Jest to zgodne z wynikami badań Diachuna i Hensona [2], w których na około 1000 inokulowanych roślin koniczyny czerwonej odmiany Kenland 56% wykazało objawy mozaiki a 5,5% nekrozy. Jedynie w przypadku trzech roślin nekrozy te miały charakter wyłącznie lokalny. W naszych badaniach nie znaleziono roślin o reakcji tego typu, co można tłumaczyć użyciem innych odmian koniczyny, a także mniejszą liczbą roślin użytych w badaniach. Jedynie w przypadku odmiany Skrzyszowicka inokulowano w sumie we wszystkich doświadczeniach około 1000 (980) roślin. Nie znaleziono jednak ani jednej rośliny z nekrotyczną reakcją lokalną. Należy zaznaczyć, że tego rodzaju reakcja występuje tylko w wyniku inokulacji mechanicznej. Na zakażenie przez mszyce rośliny takie są odporne.

Na szczególne podkreślenie zasługuje wysoka odporność wykazana przez ród Strugi R-104. Nie możemy jednakże powiedzieć, czy w przypadku roślin, które pozostały wolne od infekcji ma miejsce odporność typu immunii, czy też wysoka ale nie bezwzględna odporność na zakażenie.

LITERATURA

1. Błaszczak W., Kowalska Cz.: Wstępne badania nad odpornością koniczyny czerwonej (*Trifolium pratense*) na porażenie przez niektóre wirusy roślin motylkowatych. Zesz. probl. Post. Nauk. rol. 1971, z. 115, s. 139-143
2. Diachun S., Henson L.: Symptom reaction of individual red clover plants to yellow bean mosaic virus. *Phytopathology* 1956, 46, s. 150-152
3. Diachun S., Henson L.: Red clover clones as local lesion hosts for bean yellow mosaic virus. *Phytopathology* 1958, 48, s. 369-371
4. Diachun S., Henson L.: Clones of red clover resistant to four isolates of bean yellow mosaic virus. *Phytopathology* 1960, 50, s. 323-324
5. Diachun S., Henson L.: Inheritance of necrotic reaction in red clover to bean yellow mosaic virus. *Phytopathology* 1965, 55, s. 1041
6. Hanson E. W., Hagedorn D. J.: Viruses of red clover in Wisconsin. *Agron. J* 1961, 53, s. 63-67.
7. Kowalska Cz.: Występowanie i szkodliwość wirusów koniczyny czerwonej w Polsce. I. Występowanie chorób wirusowych na koniczynie w Polsce pół-zach. w latach 1965-1968. *Rocz. Nauk rol.* 1973, E-3-2, s. 117-127
8. Kowalska Cz.: Występowanie i szkodliwość wirusów koniczyny czerwonej w Polsce. II. Identyfikacja i częstotliwość występowania wirusów na koniczynie czerwonej. *Rocz. Nauk rol.* 1974, E-4-1, s. 89-122
9. Kreitlow K. W., Hunt O. J., Wilkins H. L.: The effect of virus infection on yield and chemical composition of Ladino clover. *Phytopathology* 1957, 47, s. 390-394

Зоя Федоров, Магдалена Марговска

ИЗ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО УСТОЙЧИВОСТИ КРАСНОГО КЛЕВЕРА К ВИРУСУ ЖЕЛТОЙ МОЗАИКИ ФАСОЛИ

Резюме

Исследования проводимые в 1974-1975 годах по устойчивости красного клевера к болезням вирусного происхождения подтвердили данные, что наиболее распространенным вирусом на плантациях красного клевера является вирус желтой мозаики фасоли. Полученные изоляты вируса показали дифференцированную вирулентность.

Затемнение растений и повторение инокуляции не оказали влияния на эффективность инокуляции растений красного клевера вирусом желтой мозаики фасоли. Растения красного клевера инокулированные в молодом возрасте быстрее обнаруживали симптомы вирусной инфекции чем более старшие растения.

Среди исследуемых 10 сортов и линий красного клевера наиболее устойчивой к заражению вирусом желтой мозаики фасоли оказалась линия Струги Р-104.

Zofia Fiedorow, Magdalena Margowska

STUDIES ON RESISTANCE OF RED CLOVER TO
BEAN YELLOW MOSAIC VIRUS

S u m m a r y

Studies on the resistance of red clover to virus diseases confirmed that the bean yellow mosaic virus is the most common virus in naturally infected red clover plants. The obtained virus isolates differed in virulence. The repetition of inoculations as well as keeping of red clover plants in darkness before inoculation failed to influence the effectiveness of inoculation.

Younger plants developed disease symptoms faster than the older ones. Among the ten red clover varieties and lines tested, the line Strugi R-104 appeared to be most resistant to infection with the bean yellow mosaic virus.

Wpłynęło do Komitetu Redakcyjnego 15 02 76