

IDENTYFIKACJA WIRUSA MOZAIKI LUCERNY
PORAŻAJĄCEGO *PHLOX PANICULATA* L.*Maria Kamińska*

Zakład Roślin Ozdobnych, Instytut Sadownictwa, Skierniewice

Floksy wieloletnie (*Phlox paniculata* L.) porażane są przez wirusy, z których w warunkach naturalnych stwierdzono występowanie wirusa mozaiki ogórka — CMV [1, 5, 7, 12] i wirusa czarnej plamistości pomidora — TBRV [9, 10]. O występowaniu na floksie mozaiki powodowanej przez wirus podobny do CMV donosił Smith [11], a Procenko [9] opisał nekrozę nerwów liści floksa wywołaną prawdopodobnie przez wirus nekrozy tytoniu. Ponadto objawy mozaiki na innym gatunku floksa (*Phlox drummondii* L.) wywoływać może wirus mozaiki tytoniu [2], wirus mozaiki lucerny [5, 8] i wirus aspermii pomidora [4], a mozaikę i pstrość kwiatów wirus mozaiki rzepy [13].

W związku z występowaniem na uprawianym w Polsce floksie wieloletnim dużych zmian chorobowych podjęto prace celem określenia przyczyny ich występowania i możliwości zwalczania.

MATERIAŁ I METODY

W roku 1974 rozpoczęto badania i obserwacje nad chorobami wirusowymi *Phlox paniculata*. Obserwacje prowadzono głównie na roślinach wchodzących w skład kolekcji Zakładu Roślin Ozdobnych Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach oraz Akademii Rolniczej w Poznaniu. Obserwowane odmiany floksa wykazywały różnorodne objawy chorobowe, dlatego przetestowano je na obecność chorób wirusowych za pomocą roślin różnicujących *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana tabacum* i *Nicotiana glutinosa*. Wirusy wyizolowane z floksa rozdzielano i identyfikowano. Następnie w celu zbadania wpływu pojedynczych wirusów na wzrost i wygląd roślin zakażano nimi przez potarcie siewki floksa.

Opisany w pracy wirus wyizolowano z liści floksa 'Mia Ruys' o karło-

watym wzroście, zwężonych liściach i bardzo słabym kwitnieniu. Podobny izolat otrzymano z liści floksa 'Lord Relverin' o silnie zwężonych liściach i pstrych kwiatach. Wirus został zidentyfikowany jako izolat wirusa mozaiki lucerny (AMV) na podstawie reakcji żywicielskich roślin zielnych, właściwości fizycznych oraz testów serologicznych. Badania te wykonano w szklarni wolnej od owadów zgodnie z metodami opisanymi przez Kamińską [6].

OBJAWY CHOROBEW NA FLOKSIE

Obserwacje i badania przeprowadzone na floksie wykazały, że badane rośliny były porażone chorobami wirusowymi i wykazywały różnorodne objawy chorobowe.

Najczęściej obserwowanym typem objawów chorobowych była plamistość liści. U większości odmian obserwowano brunatne, regularne plamy. Niekiedy objawom plamistości towarzyszyła deformacja liści i nekrozy łodyg, a czasem zamieranie roślin. Na liściach innych roślin floksa obserwowano drobne, delikatne wzory i pierścienie, które później ulegały nekrozie oraz chlorotyczno-żółtą mozaikę liści.

Innym bardzo powszechnym typem objawów chorobowych była chloroza i kędzierzawka oraz szorstkość liści. Były one także zwężone i zdrobniałe. Niekiedy obserwowano rośliny z liśćmi silnie zdeformowanymi i z enacjami, a nawet liście zredukowane do nitki. Chore rośliny charakteryzowały się słabym wzrostem, przedwcześnie zakwitwały, a ich kwiaty były drobne i nieliczne. U niektórych odmian kwiaty były pstre. Największe zahamowanie wzrostu i prawie całkowity brak kwiatów obserwowano u floksa 'Mia Ruys'.

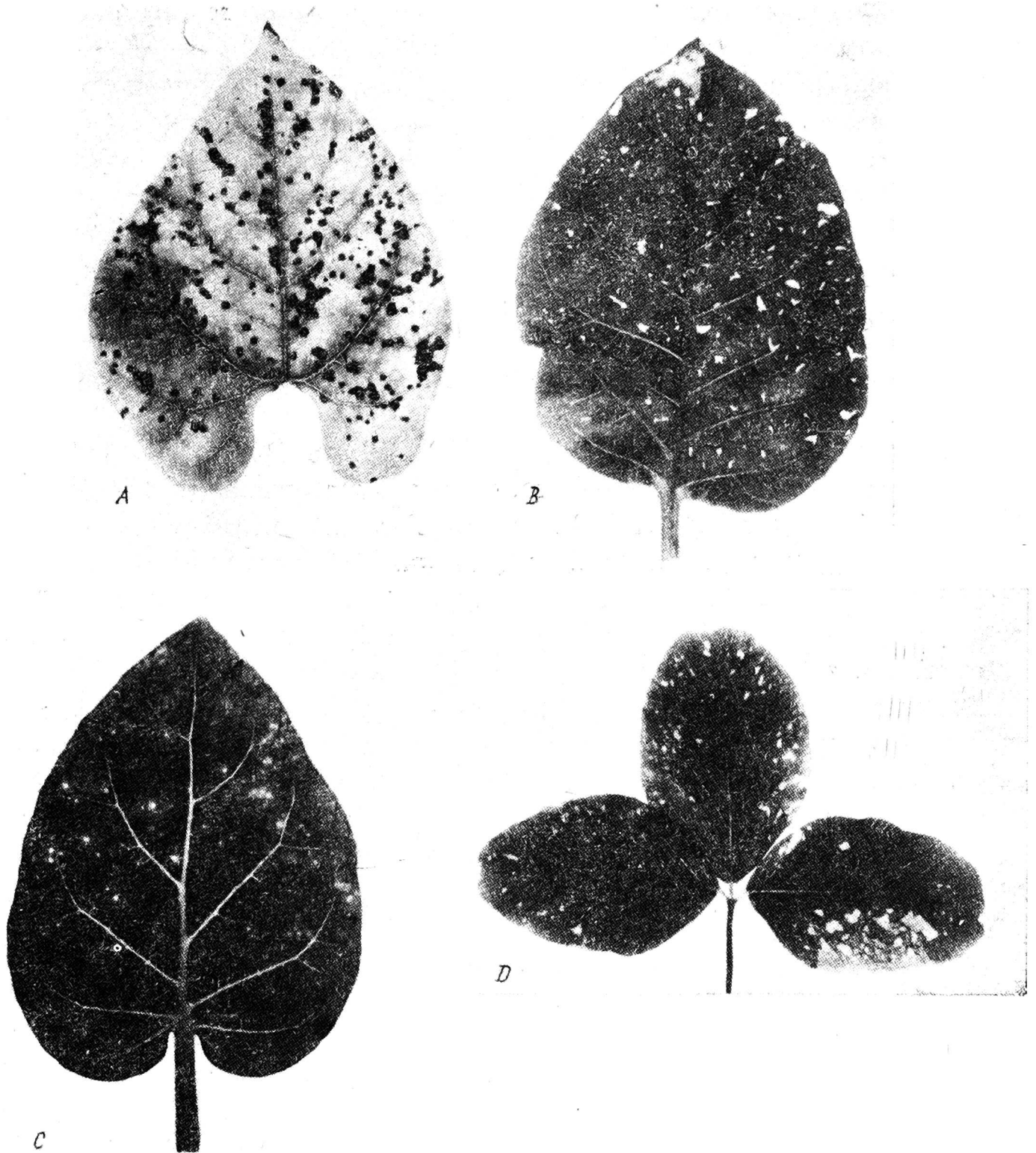
WYNIKI TESTOWANIA FLOKSA PRZY POMOCY ROŚLIN RÓŻNICUJĄCYCH

Celem sprawdzenia czy opisane objawy chorobowe na floksie spowodowane są przez wirusy, rośliny z opisanymi symptomami przebadano na obecność wirusów. Jak wykazało testowanie przy pomocy wskaźnikowych roślin zielnych *Ch. quinoa* i *N. tabacum* 'Samsun', floksy były porażone chorobami wirusowymi. Rośliny *Ch. quinoa* potarte rozcieńczonym sokiem z liści lub kwiatów floksa wykazywały lokalne chlorotyczne a później nekrotyczne plamy lub systemiczne nekrozy i deformacje liści wierzchołkowych połączone z silnym zahamowaniem wzrostu. Objawy na *N. tabacum* występowały tylko czasem i były słabo widoczne (pojedyncze drobne nekrozy).

Dalszym etapem pracy była identyfikacja wirusów wyizolowanych z floksa a w pierwszym rzędzie wirusa wywołującego objawy systemiczne na *Ch. quinoa*.

ZAKRES ROŚLIN GOSPODARZY

Przebadano podatność i reakcję na badany wirus 30 gatunków bądź odmian roślin zielnych. Na liściach *Phaseolus vulgaris*, 'Saxa' (rys. 1A), 'Michigan' i 'Pinto' obserwowano tylko lokalne, czerwono-brunatne plamki, około 1-3 mm średnicy już po 48 godz. od inokulacji. Następnie ulegały



Rys. 1. Objawy lokalne wirusa mozaiki lucerny na: A) *Phaseolus vulgaris* 'Saxa', B) *Nicotiana tabacum* 'Samsun', C) *Nicotiana glutinosa*, D) *Trifolium repens* (fot. D. Nowak)

one powiększeniu, a liście żółkły. Objawy podobne do powodowanych na fasoli obserwowano na liściach *Vigna sinensis* 'Black' i 'Blackeye'. W okresie zimowym porażone rośliny obu gatunków najczęściej zamierały.

Vicia faba major — lokalne czarne plamy obserwowano już na drugi dzień po inokulacji. Po tygodniu występowała mozaika, systemiczne brunatne plamy i pierścienie oraz nekroza łodyg. Porażone rośliny przeważnie zamierały.

Chenopodium quinoa — lokalne nekrotyczne, lekko wgłębione plamki występowały po 3-4 dniach, a systemiczne nekrozy i deformacje liści oraz zamieranie roślin obserwowano w drugim tygodniu po inokulacji. Objawy lokalne na *Ch. amaranticolor* i *Ch. ambrosoides* były podobne do objawów na *Ch. quinoa* lecz pojawiały się nieco później. Liście nieinokulowane najczęściej wykazywały rozjaśnienie nerwów i lekką deformację ale nie ulegały nekrozie i nie obumierały.

Lycopersicum esculentum 'Fireball' — porażone rośliny miały zahamowany wzrost, zwężone liście i brunatne nekrozy liści i łodyg, a czasem zamierały.

Nicotiana tabacum 'Samsun' (rys. 1B), 'White Burley' — lokalne, białe, bardzo drobne i nieregularne nekrozy obserwowano po 3-4 dniach od inokulacji. Objawy systemiczne w postaci rozjaśnionych nerwów i delikatnych chlorotycznych wzorów występowały w drugim tygodniu. Chore rośliny miały osłabiony wzrost i były chlorotyczne. Rośliny *N. glutinosa* (rys. 1C) na porażenie wirusem reagowały dużymi nekrozami lokalnymi oraz zahamowaniem wzrostu i zbieleniem liści.

Ponadto objawy lokalne i systemiczne stwierdzono na roślinach *Amaranthus paniculatus*, *A. spinosus*, *Celosia argentea*, *Cucumis sativus*, *Gomphrena globosa*, *Lupinus albus*, *Nemesia strumosa*, *Nicandra physaloides*, *Nicotiana affinis*, *N. alata*, *Petunia hybrida*, *Trifolium incarnatum*, *T. repens* (rys. 1D), *Pisum sativum* i *Datura stramonium*, a objawy lokalne na roślinach *Ch. urbicum*, *Tropaeolum majus* i *Tetragonia expansa*.

Spośród badanych roślin największe własności infekcyjne osiągał wirus w liściach bobu i tytoniu w 6-8 dni po zakażeniu. Natomiast bardzo trudno było wyizolować wirus z systemicznie porażonych liści *Ch. amaranticolor*.

WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE WIRUSA

Właściwości fizyczne badanego izolatu wirusa zależały od źródła inokulum i rośliny, na której przeprowadzano testy (tab. 1). Najniższy punkt inaktywacji termicznej oraz najkrótszą trwałość *in vitro* wykazywał wirus w soku z liścieni ogórka. Natomiast jeżeli źródłem inokulum był tytoń lub bób wartości te były wyższe. Punkt inaktywacji termicznej

Tabela

Właściwości fizyczne badanego izolatu wirusa mozaiki lucerny

Źródło inokulum	Temperatura inaktywacji w °C		Trwałość <i>in vitro</i> w godz.	
	<i>Ch. quinoa</i>	<i>Ph. vulgaris</i>	<i>Ch. quinoa</i>	<i>Ph. vulgaris</i>
<i>Phaseolus vulgaris</i>	65-70	55-60	12-24	12-24
<i>Cucumis sativus</i>	60-65	55-60	12-24	6-12
<i>Chenopodium quinoa</i>	65-70	—	72-96	48-72
<i>Nicotiana tabacum</i>	65-70	65-70	72-96	48-72
<i>Vicia faba</i>	65-70	65-70	72-96	24-48

i trwałość *in vitro* wirusa były przeważnie większe jeżeli testy wykonywano na roślinach *Ch. quinoa* aniżeli na roślinach fasoli 'Saxa'. Graniczne rozcieńczenie wirusa wynosiło 10^{-2} - 10^{-3} i 10^{-3} - 10^{-4} odpowiednio dla inokulum z fasoli i tytoniu.

WŁASNOCI SEROLOGICZNE WIRUSÓW

Testy serologiczne przeprowadzone metodą podwójnej dyfuzji w żelu agarowym wykazały, że badany izolat reagował z surowicą uczuloną na AMV otrzymaną od dr D. Z. Maat z Wageningen, natomiast nie reagował z surowicą uczuloną na AMV otrzymaną od dr M. Jankulowej z Sofii ani z surowicami przeciwko wirusowi mozaiki ogórka, wirusowi mozaiki arabis i wirusowi plamistości pierścieniowej tytoniu. Reakcja pozytywna zachodziła przy rozcieńczeniu surowicy do 1/16 a soku do 1/4. Surowica nie reagowała z sokiem roślin zdrowych. Wyraźna reakcja zachodziła również wtedy, jeżeli źródłem antygenów były liście floksa 'Lord Relverin' porażonego w warunkach naturalnych.

PRZESZCZEPIANIE AMV Z ROŚLIN ZIELNYCH NA SIEWKI
PHLOX PANICULATA

Siewki floksa 'Lord Relverin' i 'Thor' inokulowane badanym izolatem wirusa uległy porażeniu i po 8-10 dniach wykazywały objawy lokalne. Były to najpierw chlorotyczne, a później nekrotyczne plamy. Spośród 50 zakażanych siewek 20 roślin obumarło w ciągu pierwszego miesiąca po zakażeniu, a pozostałe miały skrócone międzywęzła. W odróżnieniu od roślin zdrowych, w pierwszym roku wegetacji porażone rośliny floksa nie kwitły.

DYSKUSJA

Na uprawianych w Polsce floksach obserwowano zmiany chorobowe podobne do objawów opisanych w literaturze, takie jak mozaikę liści

[2, 7, 11], nitkowatość [11, 12], plamistość pierścieniową i karłowatość [9, 10]. Obserwowano również inne typy objawów jak plamistość wzorzystą lub pstrość kwiatów. Testowanie przy pomocy roślin różnicujących pozwoliło stwierdzić, że badane floksy były porażone przez wirusy, które z łatwością przeszczepiano na rośliny zielne. Dokładniejsze badania najczęściej izolowanego wirusa powodującego objawy systemiczne na *Ch. quinoa* wykazały, że był to szczep AMV. Wskazuje na to zakres roślin gospodarzy typowy dla tego wirusa [14], a zwłaszcza reakcje roślin z rodzajów *Phaseolus*, *Chenopodium*, *Nicotiana* i *Lycopersicum* [3] różne niż dla CMV i TobRSV. Również własności fizyczne badanego wirusa są charakterystyczne dla AMV [3, 14]. Ostateczna identyfikacja wirusa oparta została na testach serologicznych, które potwierdziły przypuszczenie, że badany wirus jest faktycznie szczepem AMV, gdyż reagował z surowicą uczuloną na ten wirus. Reakcja ze wspomnianą surowicą zachodziła nie tylko wtedy gdy źródłem antygenów były liście *Ch. quinoa* lub *N. tabacum*, ale także w przypadku liści floksa.

Wyizolowany szczep AMV na siewkach floksa powodował lokalne nekrozy oraz skrócenie międzywęzli i brak kwitnienia. Objawy te były jednak łagodniejsze od symptomów obserwowanych na roślinach porażonych AMV w warunkach naturalnych. Nasuwa się wniosek, że objawy jakie obserwowano na floksach, z których izolowano AMV mogły być spowodowane nie tylko przez AMV, ale także przez inne czynniki.

*Serdecznie dziękuję za przysłanie surowic dr M. Z. Maat, dr M. Jan-
kulowej, dr M. Hollings i dr R. W. Fulton.*

LITERATURA

1. Faan Hwei Chung, Johnson J.: The overwintering of the cucumber mosaic virus. *Phytopathology* 1951, t. 41, s. 1001-1010
2. Grant T. J.: The host range and behavior of the ordinary tobacco-mosaic virus. *Phytopathology* 1934, t. 24, s. 311-336
3. Hagedorn D. J., Hanson E. W.: A strain of alfalfa mosaic virus severe on *Trifolium pratense* and *Melilotus alba*. *Phytopathology* 1963, t. 53, s. 188-192
4. Hollings M.: Investigations of *chrysanthemum* viruses. I. Aspermy flower distortion. *Ann appl. Biol.* 1955, t. 43, s. 86-102
5. Jensen A., Hejndorf F.: Plant diseases and pests in Denmark. *Forsg. Tidsskr. Planteavl.* 1962, t. 66, s. 545-608
6. Kamińska M.: Wirus mozaiki ogórka na mieczyku (*Gladiolus hybr.* Hort.). *Zesz. probl. Post. Nauk rol.* 1976, z. 182, s. 157-164
7. Khatri H. L., Chenulu V. V.: Studies on a mosaic disease of phlox, *Plant Dis. Repr.* 1967, t. 51, s. 768-771
8. Price W. C.: Comparative host ranges of six plant viruses. *Am. J. Bot.* 1940, t. 27, s. 530-541

9. Procenko A. E., Procenko E. P.: Some new virus diseases of ornamental plants. *Plant Virology* 1964. Proc. 5th Conf. Czechoslovak Plant Virologists, Prague 1962, s. 241-245
10. Ryden K.: Phlox-ringfläck-en svar virussjukdom orsakad av tomatsvattring-virus. *Växtskydds-Notiser*. 1965, t. 29, s. 77-81
11. Smith K. M.: Some new virus diseases of ornamental plants. *J. Roy. Hort. Soc.* 1950, t. 75, s. 350-353
12. Smith K. M.: Some garden plants susceptible to infection with the cucumber mosaic virus. *J. Roy. Hort. Soc.* 1952, t. 77, s. 19-21
13. Weil B.: Virusbedingte Blütenfarbbrechung bei einjährigen Sommerblumen. *Phytopath. Z.* 1962, t. 44, s. 33-50
14. Zaumeyer W. J.: Two new strains of alfalfa mosaic virus systemically infectious to bean. *Phytopathology* 1963, t. 53, s. 444-449

— Мария Каминьска

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСА МОЗАИКИ ЛЮЦЕРНЫ ПОРАЖАЮЩЕГО *PHLOX PANICULATA* L.

Резюме

Из многолетних растений флокса, проявляющих разнородные болезненные признаки изолирован вирус мозаики люцерны, который в отношении диапазона растений-хозяев и физических свойств был подобный другим изолятам этого вируса.

В зависимости от источника инокулюм и растения на котором проводятся тесты вирус поддавался инаktivации при температуре 60-70°C, при разбавлении 10^{-3} - 10^{-4} . Стойкость вируса „инвитро” при температуре 20-25°C составляла от 1 до 3 дней. Исследуемый изолят вируса реагировал с сывороткой сенсibiliзируванной на вирус мозаики люцерны. Сеянцы флокса инокулированные этим вирусом проявляли локальные некрозы и укороченные междоузлия. В первом году вегетации пораженные растения флокса не цвели.

Maria Kamińska

IDENTIFICATION OF ALFALFA MOSAIC VIRUS INFECTING *PHLOX PANICULATA* L.

Summary

During a survey of the viruses of *Phlox paniculata* a strain of alfalfa mosaic virus was isolated. The virus resembled other strains of the alfalfa mosaic virus with respect to the host range and physical properties. Depending on the source plant and the test plants used, the virus became inactivated between 60-67°C, at dilution 10^{-2} - 10^{-3} . It lost infectivity after storage at 20-25°C for 1-3 days. The virus reacted with the antiserum of the type strain of AMV. After transmission to phlox seedlings it induced local necroses, shortening of the internodes and lack of flowers.