Studia nad chorobami wirusowymi łubinów: wąskolistnością, brunatnieniem i mozaiką. III.

III. Z doświadczeń nad mozaiką łubinu trwałego

Studies on virus diseases of lupines: narrow-leavedness,
browning and mosaic. III.

III. Some experiments on the mosaic of perennial lupine

DANUTA KSIĄŻEK

I. WSTĘP

Na temat mozaiki łubinu trwałego wiadomości są bardzo skąpe, aczkolwiek choroba ta jest pospolita na tym gatunku. Pierwszą notatkę o możliwości porażenia łubinu trwałego wirusem mozaiki ogórka podaje Chamberlain (1939) w Nowej Zelandii, udowadniając to doświadczalnie. W wyniku inokulacji łubinu trwałego wystąpiły na inokulowanych liściach ciemnobrunatne plamy. Następnie Ainsworth (1940) i Smith (1952) z Anglii donoszą o występowaniu wirusa mozaiki ogórka na łubinie trwałym, lecz przypuszczenia swoje opierają tylko na podstawie objawów chorobowych.

Poza tym Smith (1947, 1957) i Chamberlain (1954) podają łubin trwały jako roślinę-żywiciela dla wirusa brązowej plamistości pomidorów — *Lycopersicum virus 3* Smith.

Łubin trwały porażony mozaiką wykazuje przede wszystkim znaczne skarlówacenie oraz pewne objawy chlorozy, występującej szczególnie na wierzchołku rośliny. Prócz tego liście wierzchołkowe poza objawami chlorozy wykazują wyraźne, jasnożółte przejaśnienie nerwów oraz plamistość mozaikową o nieregularnych zarysach (Ryc. 1). Porażone rośliny zawiązują strąki, które są tak słabo osadzone na osi kwiatostanu, że przy lekkim dotyku odpadają, pozostawiając gołe osie kwiatostanów (Ryc. 2), które ponadto niekiedy ulegają pewnym deformacjom.

Ryc. 1. Mozaika na łubinie trwałym
Mosaic on *Lupinus polyphyllus*

Ryc. 2. Łubin trwały porażony wirusem mozaiki
Lupinus polyphyllus infected with mosaic virus

II. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Celem doświadczeń szklarniowych była identyfikacja wirusa mozaiki łubinu trwałego, polegająca na zbadaniu zakresu żywicieli tego wirusa, symptomów chorobowych, sposobu przenoszenia się na rośliny zdrowe oraz na zbadaniu niektórych własności fizycznych wirusa mozaiki.

Metodyka

Doświadczenia wykonano w szklarni Zakładu Fitopatologii SGGW w Warszawie w 1960 roku.

W celu zbadania zakresu żywicieli wirusa mozaiki zastosowano następujące rośliny należące do 8 rodzin:

- Chenopodiaceae* — *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn., *Spinacia oleracea* L.
Amaranthaceae — *Amaranthus caudatus* L., *A. retroflexus* L., *Celosia argentea* L., *Gomphrena globosa* L.
Ficoidaceae — *Tetragonia expansa* Murr.
Phytolaccaceae — *Phytolacca decandra* L.
Papilionaceae — *Lathyrus odoratus* L., *Lupinus albus* L., *L. angustifolius* L., *L. luteus* L., *L. mutabilis* Sweet., *L. polyphyllus* Ldl., *Lotus corniculatus* L., *Medicago sativa* L., *Ornithopus sativus* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum arvense* L., *P. sativum* L., *Trifolium pratense* L., *T. repens* L., *Vicia faba* L., *V. sativa* L., *Vigna sinensis* (L.) Endl.
Solanaceae — *Datura stramonium* L., *Nicotiana Clevelandii* Gray., *N. tabacum* L.
Apocynaceae — *Vinca rosea* L.,
Cucurbitaceae — *Cucumis sativus* L., *Cucurbita pepo* L., *C. maxima* Duch.

Rośliny inokulowano przez pocieranie liści posypanych uprzednio proszkiem karborundowym.

1. ZAKRES ŻYWICIELI WIRUSA MOZAIKI ŁUBINU TRWAŁEGO

W celu zidentyfikowania choroby mozaiki łubinu trwałego przeprowadzono doświadczenie inokulacyjne na różnych gatunkach roślin. Materiał inokulacyjny pochodził z porażonego łubinu trwałego z Ogrodu Botanicznego w Warszawie. Inokulum przygotowano z najmłodszych liści i zaszczepiono tytoń, łubin biały, ł. zmienny i komosę. Dopiero z tych roślin przeniesiono wirusa na rośliny zestawione w tabeli 1.

Tabela — Table 1

Zestawienie roślin inokulowanych i ich reakcji na wirus mozaiki łubinu trwałego z różnych źródeł infekcji

Summarized data of inoculated plants and plant reactions to mosaic virus of *Lupinus polyphyllus* from different sources of infection

Rośliny inokulowane Plants inoculated	Źródło soku wirusowego Source of virus sap			
	<i>Lupinus albus</i>	<i>Lupinus mutabilis</i>	<i>Chenopodium amarantico- lor</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>
1. <i>Lathyrus odoratus</i>	—	—	10/0	5/0
2. <i>Lotus corniculatus</i>	—	—	10/0	10/0
3. <i>Lupinus albus</i> v. Przebędowski	—	—	—	10/5
„—„ v. Drobnonasienny	—	6/6	—	—
4. <i>L. angustifolius</i> v. Szybkopędny	8/4	8/4	—	10/5
5. <i>L. luteus</i> v. Popularny	—	8/4	—	10/5
6. <i>L. mutabilis</i>	—	6/3	—	5/3
7. <i>L. polyphyllus</i>	5/2	5/2	—	10/3
8. <i>Medicago sativa</i> v. Miechowska	—	—	10/0	10/0
9. <i>Ornithopus sativus</i> v. Szybkoro- snący	—	—	—	10/0
10. <i>Phaseolus vulgaris</i> v. Biała wy- borowa	—	—	—	5/5
„—„ v. Saxa Freege	5/5	6/6	—	—
11. <i>Pisum arvense</i> v. Nieznanicka	—	—	10/0	—
12. <i>P. sativum</i> v. Extra early	8/8	—	—	—
„—„ v. sześciotygodniowy	—	—	—	10/0
13. <i>Trifolium pratense</i> v. Hruszows- ska	—	—	10/0	10/0
14. <i>T. repens</i>	—	—	10/0	—
15. <i>Vicia faba</i> v. Major	—	6/0	—	10/0
16. <i>V. sativa</i> v. Czyżowskich	—	—	10/0	—
17. <i>Vigna sinensis</i>	—	—	—	5/5
18. <i>Chenopodium amaranticolor</i>	5/4	—	—	5/4
19. <i>Spinacia oleracea</i>	—	—	—	5/2
20. <i>Amaranthus caudatus</i>	—	—	—	5/5
21. <i>A. retroflexus</i>	5/3	—	—	—
22. <i>Celosia argentea</i>	—	—	—	5/0
23. <i>Gomphrena globosa</i>	—	—	—	5/5
24. <i>Tetragonia expansa</i>	—	—	—	5/2
25. <i>Phytolacca decandra</i>	—	—	—	5/0
26. <i>Datura stramonium</i>	—	3/3	—	5/4
27. <i>Nicotiana Clevelandii</i>	—	—	—	5/4
28. <i>N. tabacum</i> v. Samsun	5/3	3/2	—	5/4
29. <i>Vinca rosea</i>	—	—	—	5/0
30. <i>Cucumis sativus</i> v. Monastyr- skie	5/0	5/0	5/0	5/0
„—„ v. Delikates	—	—	—	5/0
31. <i>Cucurbita maxima</i>	—	—	—	5/0
32. <i>C. pepo</i>	—	—	—	5/0

Cyfry podane w poszczególnych rubrykach oznaczają ilości roślin inokulowanych i porażonych
Numbers given in the columns show numbers of inoculated and infected plants.

Na roślinach, które uległy na skutek inokulacji porażeniu wystąpiły następujące objawy chorobowe:

Lupinus albus

Liście wierzchołkowe chlorotyczne i niekiedy z plamistością mozaikową o różnych odcieniach zieleni. Liście uległy zwężeniu, zmniejszeniu się ich powierzchni i wyginaniu się ku dołowi. Dolne liście przedwcześnie odpadały. Rośliny porażone były zahamowane we wzroście. Na łodygach i ogonkach liściowych wystąpiły brunatne, nekrotyczne, krótkie smugi, które później zlewały się nadając łodygom ciemnobrunatny kolor. Rośliny wkrótce zamierały.

Lupinus angustifolius

Reakcja tego gatunku łubinu była różna. Na jednych roślinach wystąpiła silna chloroza bez plam mozaikowych oraz silnie skarlówacenie. Na kilku roślinach zaobserwowano poza skarlówaceniem i chlorozą wyrastanie z kątów pędów licznych bocznych liści nadających roślinie zmieniony pokrój. Inne rośliny wykazały po raz pierwszy ciemnozieloną plamistość mozaikową, niekiedy formującą się w regularne pierścionki. Na ogół jednak plamistość mozaikowa była nieregularna. Na łodygach i ogonkach liści pojawiły się brunatne, nekrotyczne, krótkie smugi z czasem zlewające się i tworzące ogólne zbrunatnienie łodyg. Na skutek porażenia ogonków liściowych liście zasychały, tworząc liściozvisy (Ryc. 3).

Lupinus luteus

Reakcja łubinu była bardzo wyraźna. Rośliny były silnie skarlówaciale i chlorotyczne. Liście wierzchołkowe zdrobniałe, wąskie, pokarbowane i zwijające się w różne strony (Ryc. 4). Dolne liście zasychały tworząc liściozvisy. Niekiedy zamierał wierzchołek wzrostu. Na łodygach pojawiały się czerwone smugi, ciągnące się od dołu ku górze.

Lupinus mutabilis

Poza skarlówaceniem wystąpiła lekka chloroza oraz wyraźne plamy mozaikowe kontrastujące silnie ze zdrowymi partiami liści. Liście uległy zwężeniu i pokarbowaniu.

Lupinus polyphyllus

Na tym gatunku łubinu otrzymanie objawów chorobowych w wyniku inokulacji należało do trudności. Pierwszym objawem chorobowym było przejaśnienie nerwów liści wierzchołkowych, chloroza, delikatna mozaikowatość oraz pewne pofalowanie liści. Reinokulacje wykazały, że łubin trwały nie wykazujący objawów chorobowych nie był również bezobjawowym nosicielem wirusa.

Phaseolus vulgaris

Objawy chorobowe wystąpiły tylko na liściach inokulowanych. Pierwsze objawy wystąpiły już po 5 dniach od czasu inokulacji w postaci brunatnych, nekrotycznych smug ciągnących się wzdłuż nerwu głównego i bocznych, a widocznych przede wszystkim po spodniej stronie liścia. W wyniku porażenia nerwów liście kędzierzawiły się i wyginały ku dołowi. Brunatne smugi przechodziły niekiedy na ogonki liściowe i na łodygę, przebiegając na nich jednostronnie. Ponadto na liściach wystąpiły niekiedy duże, kanciaste, białe plamy z brunatną obwódką, otoczoną jasnozielonymi przebarwieniami.

Pisum sativum

Groch wykazał objawy chorobowe dopiero w wyniku inokulacji wirusem z łubinu białego. Liście inokulowane zaschły. Na liściach najmłodszych, poza objawami chlorozy i żółtym przejaśnieniem nerwów, pojawiła się żółta plamistość mozaikowa wyraźnie odcinająca się od zieleni liścia. Niekiedy liście uległy całkowitemu zbieleniu i przedwcześnie zaschły.

Vigna sinensis

Reakcja tej rośliny była bardzo silna. Wystąpiło porażenie systemiczne. Na liściach poza chlorozą wystąpiła plamistość mozaikowa formująca się niekiedy w białawe pierścionki. Liście uległy silnym zniekształceniom wyrażającym się kędzierzawieniem, zwężeniem i wyboistością.

Chenopodium amaranticolor

Komosa reagowała na infekcje lokalnie. Na liściach inokulowanych wystąpiły jasnozielone, okrągłe plamy o 2 mm średnicy otoczone czerwoną obwódką.

Ryc. 3. Łubin wąskolistny po inokulacji wirusem mozaiki
łubinu trwałego

Lupinus angustifolius after inoculation with mosaic virus of
Lupinus polyphyllus

Spinacia oleracea

Na liściach wierzchołkowych zaobserwowano poza lekkimi objawami chlorozy wyraźną, żółtą plamistość mozaikową.

Amaranthus caudatus

A. retroflexus

Infekcja wystąpiła tylko na liściach inokulowanych w postaci jasnozielonych, okrągławych do 5 mm średnicy plam. Niekiedy plamy przybierały kolor czerwony.

Gomphrena globosa

Infekcja wystąpiła na liściach inokulowanych w postaci okrągławych o 2 mm średnicy, białawych, nekrotycznych, otoczonych czerwoną obwódką plam.

Tetragonia expansa

Objawy chorobowe wystąpiły tylko na liściach inokulowanych w postaci drobnych, okrągławych, jasnozielonych plam.

Ryc. 4. Łubin żółty po inokulacji wirusem mozaiki łubinu trwałego
Lupinus luteus after inoculation with mosaic virus of *Lupinus polyphyllus*

Ryc. 5. Bielunię dziedzierzawa po inokulacji wirusem mozaiki z łubinu trwałego
Datura stramonium after inoculation with mosaic virus from *Lupinus polyphyllus*

Ryc. 6. Objawy chorobowe na tytoniu po inokulacji wirusem mozaiki z łubinu trwałego

Symptoms of disease on *Nicotiana tabacum* after inoculation with mosaic virus from *Lupinus polyphyllus*

Datura stramonium

Objawy chorobowe wystąpiły najpierw na liściach najmłodszych. Pojawiła się na nich nieregularna, ciemnozielona plamistość mozaikowa oraz wyraźne pofalowanie liści i powstawanie tzw. bąblowości. W dalszym rozwoju choroby liście ulegały coraz silniejszym deformacjom, charakterystycznym dla wirusa mozaiki łubinu trwałego. Marszczyły się, wyginały i w końcu stawały się nienormalnie wąskie i długie, odbiegając zupełnie od zdrowych liści bielunia (Ryc. 5).

Nicotiana Clevelandii

Na liściach górnych poza przejaśnieniem nerwów i lekkim skędzierzawieniem się liści wystąpiła jasnozielona do żółtej mozaika o nieregularnych, rozlewnych zarysach. Takie same objawy mozaiki wystąpiły na działkach kielicha. Roślina uległa silnemu skarlłowaceni. W miarę upływu czasu zaobserwowano silne zniekształcenie liści polegające na ich zwężeniu, zdrobnieniu i kędzierzawieniu. Niekiedy liście uległy redukcji do 4/5 swoich powierzchni.

Nicotiana tabacum

Reakcja tytoniu była wyraźna. Wystąpiło tu porażenie systemiczne. Na liściach najmłodszych poza objawami chlorozy zanotowano silne, żółte, szeroko otaśmione nerwy (Ryc. 6) oraz pofalowanie powierzchni liści.

Z przeprowadzonej analizy na roślinach inokulowanych wynika, że wirus mozaiki łubinu trwałego wywołał porażenie 17 gatunków roślin należących do 5 różnych rodzin. Objawy chorobowe na w.w. gatunkach roślin były jednakowe niezależnie od źródła infekcji, z którego przygotowano inokulum. Z każdego źródła infekcji wirus porażał różne gatunki roślin w sposób dla niego charakterystyczny. Na uwagę zasługuje fakt, że nie uzyskano porażenia ogórków niezależnie od źródła infekcji wirusa. Ogórki inokulowano wirusem przygotowanym z łubinu białego, ł. zmiennego, komosy i tytoniu. Przeprowadzone reinkulacje wykazały, że ogórki nie były również bezobjawowymi nosicielami wi-

rusa. Ponieważ bieluń dziedzierzawa reaguje na inokulacje w sposób charakterystyczny, dlatego można ją uważać jako roślinę testową dla wirusa mozaiki łubinu trwałego.

2. NIEKTÓRE WŁASNOŚCI FIZYCZNE WIRUSA MOZAIKI ŁUBINU TRWAŁEGO

W badaniach nad niektórymi własnościami fizycznymi wirusa mozaiki łubinu trwałego używano komosy jako rośliny-żywiciela. Materiał inokulacyjny pochodził z systemicznie chorego od 4 tygodni tytoniu. Inokulowano po 10 roślin dla stwierdzenia granicznego punktu rozcieńczenia i termicznego punktu inaktywacji i po 5 roślin dla zbadania inaktywacji wirusa *in vitro* w temperaturze pokojowej.

Wynik doświadczenia nad granicznym punktem rozcieńczeń przedstawia się następująco: nie rozcieńczone 10/8; 10^{-3} — 10/4; 3×10^{-3} — 10/2; 6×10^{-3} — 10/1; 8×10^{-3} — 10/1; 10^{-4} — 10/1; 10^{-5} — 10/0.

Graniczny punkt rozcieńczeń leży między 1 : 10 000 a 1 : 100 000.

Wynik doświadczenia nad termicznym punktem inaktywacji: kontrolne — nie podgrzewane 10/10; 50 °C — 10/10; 55 °C — 10/7; 60 °C — 10/5; 65 °C — 10/3; 70 °C — 10/4; 75 °C — 10/8; 80 °C — 10/0.

Graniczny punkt inaktywacji termicznej wirusa mozaiki leży między 75 a 80 °C.

Wynik doświadczenia nad inaktywacją wirusa *in vitro* w temperaturze pokojowej po dniach: 1 — 5/5; 3 — 5/5; 5 — 5/5; 10 — 5/3; 15 — 5/5; 20 — 5/5; 30 — 5/4; 40 — 5/3; 50 — 5/2; 60 — 5/1; 70 — 5/0.

Inaktywacja wirusa nastąpiła po 60 dniach przechowywania *in vitro* w temperaturze pokojowej.

Tabela — Table 2

Zestawienie własności fizycznych niektórych wirusów porażających szeroki zakres roślin-żywcicieli (wg Smitha 1957)

Summarized data of physical properties of viruses infecting wide host-range (by Smith 1957)

Wirus Virus	Termiczny punkt inaktywacji Thermal inactivation point	Graniczny punkt rozcieńczeń Dilution end point	Inaktywacja <i>in vitro</i> Resistance to ageing
<i>Cucumis virus</i> 1	60—70°C	1 : 10 000	3—4 dni
<i>Medicago virus</i> 2	62—70°C	1 : 2000	7—9 dni
<i>Lycopersicum virus</i> 3	42°C	1 : 100 000	5 godzin
<i>Nicotiana virus</i> 1	93°C	1 : 1 000 000	kilka lat
<i>Nicotiana virus</i> 12	60—70°C	1 : 10 000	22 miesiące
<i>Nicotiana virus</i> 8	53°C	1 : 20—30	1—1,5 dnia
<i>Mozaika łubinu trwałego</i>	75—80°C	1 : 10 000	60 dni

Z uzyskanych własności fizycznych wirusa mozaiki łubinu trwałego wynika, że wirus ten różnił się znacznie pod tym względem od wirusów: „wąskolistności” i „brunatnienia”, których własności te odbiegają również od własności fizycznych wirusów porażających szeroki zakres roślin-żywcicieli. Bliższe dane przedstawiono w tabeli 2.

Jak wynika z tabeli własności fizyczne wirusa mozaiki łubinu trwałego nie znajdują odpowiednika w żadnym z przytoczonych i powszechnie występujących wirusów. W warunkach moich doświadczeń sprawcą choroby mozaiki nie był ani wirus mozaiki ogórka, ani wirus brązowej plamistości pomidorów, ani też wirus bliżej znany i opisany w dostępnej mi literaturze.

3. PRZENOSZENIE WIRUSA MOZAIKI ŁUBINU TRWAŁEGO PRZEZ KANIANKĘ

Kanianka — *Cuscuta campestris* pasożytowała na łubinie żółtym, ł. białym, ł. wąskolistnym, tytoniu i komosie nie wywołując na tych roślinach objawów chorobowych. Wynik tego doświadczenia był negatywny.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

W roku 1960 przeprowadzono obserwacje i doświadczenia w celu zidentyfikowania wirusa powodującego mozaikę powszechnie występującą na łubinie trwałym. Doświadczenia przeprowadzono w szklarni Zakładu Fitopatologii SGGW w Warszawie. W tym celu zakażano 32 gatunki roślin z 8 różnych rodzin. Pozytywna reakcja wystąpiła na 17 gatunkach roślin, w tym na 5 gatunkach łubinu, fasoli i grochu oraz na pozostałych 10 gatunkach roślin należących do 5 różnych rodzin. Wirus mozaiki wywołał charakterystyczne objawy chorobowe na 5 gatunkach łubinu, fasoli, tytoniu i bieluniu. Niezależnie od źródła infekcji, z którego przygotowano inokulum nie otrzymano reakcji na ogórkach.

W wyniku badania własności fizycznych uzyskano: graniczny punkt rozcieńczeń między 10^{-4} a 10^{-5} , termiczny punkt inaktywacji w granicach $75-80^{\circ}\text{C}$, inaktywacja wirusa *in vitro* w temperaturze pokojowej po 60 dniach.

Doświadczenia z przenoszeniem wirusa przy pomocy kianianki — *Cuscuta campestris* nie przyniosły pozytywnego rezultatu.

Na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań nad mozaiką łubinu trwałego należy przypuszczać, że jest to osobny, dotychczas nie opisany wirus.

(Wpłynęło: dn. 30.11.1961 r.)

SUMMARY

The observations and experiments made in 1960 were intended to identify the virus causing the mosaic very common in perennial lupine. The experiments were made in the greenhouse belonging to the Department of Phytopathology of the Main School of Farming in Warsaw. In the experimental plants of 32 species from 8 different families were infected. The reaction was positive in the case of 17 plant species including 5 species of lupine, one species each of bean and pea, and 10 species belonging to 5 families. The characteristic symptoms of the disease were caused by the virus in the 5 species of lupine, in bean, in tobacco, and in jimson. Independently of the source of infection from which the inoculum was prepared no response was obtained in cucumber.

The following physical properties were determined: the dilution end point between 10^{-4} and 10^{-5} , thermal inactivation point within limits $75-80^{\circ}\text{C}$, resistance to ageing at room temperature after 60 days.

Experiments aimed at transferring the virus by dodder, *Cuscuta campestris*, as the agent of infection did not give positive results.

The results of the investigations on the mosaic in perennial lupine seem to indicate that the disease is caused by an unknown separate virus, which so far has not been described.

LITERATURA

1. Ainsworth G. C., 1940, The identification of certain viruses found infecting leguminous plants in Great Britain, Ann. App. Biol. 27 (2) : 218—226.
2. Chamberlain E. E., 1939, Cucumber mosaic, N. Z. J. Sci. Tech. A. 21 (2) : 74—90.
3. Chamberlain E. E., 1954, Plant virus diseases in New Zealand, Bull. 108. N. Z. Dep. Sci. Ind. Res. 1—255.
4. Smith K. M., 1947, Virus diseases of farm and garden crops, Cambridge.
5. Smith K. M., 1952, Some garden plants susceptible to infection with the cucumber mosaic virus, Journ. hort. roy. soc. 77 : 19—21.
6. Smith K. M., 1957, A textbook of plant virus diseases, London.