

REAKCJA NIEKTÓRYCH ODMIAN FASOLI UPRAWIANYCH W POLSCE NA INOKULACJĘ WIRUSEM MOZAIKI TYTONIU (*NICOTIANA VIRUS 1* MAYER, SMITH)

Gustaw Nowak, Zbigniew Maj, Jan Bednarek

Pracownia Wirusologii Zakładu Fizjologii Roślin PAN, Kraków
Instytut Przyrodniczych Podstaw Produkcji Roślinnej AR, Kraków

Jedną z metod stosowanych do miareczkowania wirusów roślinnych jest metoda wprowadzona przez Holmesa w 1929 r. [4], podlegająca na liczeniu zmian nekrotycznych (local lesions), pojawiających się na inokulowanej mechanicznie blaszce liściowej odpowiednio dobranego gatunku rośliny. Mimo upływu tak długiego czasu metoda ta jest dalej bardzo przydatna w doświadczalnictwie i stosuje się ją powszechnie do ilościowej analizy niektórych wirusów roślinnych [8, 12].

W przypadku wirusa mozaiki tytoniu (*Nicotiana virus 1* Mayer, Smith), najczęściej do tego celu używane są liście niektórych gatunków i odmian tytoniu jak np. *Nicotiana glutinosa* L. czy *Nicotiana tabacum* L. var. Xanthi [2].

Tytoń jednakże jest rośliną delikatną, bardzo wolno rosnącą i wymaga w początkowych stadiach rozwojowych pracochłonnych zabiegów agrotechnicznych [7]. Siewki tytoniu dopiero po upływie 2 lub 3 miesięcy od chwili wysiewu osiągają stadium rozwojowe, w którym mogą być przydatne do tego rodzaju badań. Dlatego też tytoń jest często zastępowany przez znacznie łatwiejsze w uprawie niektóre odmiany fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.), które szybko rosną i są podatne na zakażenie wirusem mozaiki tytoniu. Do takich odmian należą np. Pinto, Early Golden Cluster, Scotia, Prince i in. Rośliny przydatne do doświadczeń można uzyskać już w ciągu ok. 10 dni [1, 3, 11].

Powszechnie znane i polecane odmiany fasoli, reagujące lokalnie na zakażenie wirusem mozaiki tytoniu nie są w Polsce uprawiane wskutek czego występują pewne trudności ze zdobyciem materiału siewnego.

Celem niniejszej pracy była próba znalezienia takiej odmiany fasoli spośród uprawianych aktualnie w kraju, która wykazywałaby podatność na zakażenie i dzięki temu nadawałaby się jako indykator dla wirusa mozaiki tytoniu.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono w miesiącach jesiennie-zimowych na przełomie 1971/1972 r. w szklarni o średniej temperaturze 23°C. W czasie wegetacji rośliny oświetlano dodatkowo lampami rtęciowymi przez 10-12 godzin w ciągu dnia.

Materiał siewny używany do doświadczeń został — z wyjątkiem 2 odmian — skompletowany wg Cennika Okręgowej Centrali Nasienictwa Ogrodniczego i Szkółkarstwa w Krakowie z 1971 r. Obejmował on 15 następujących odmian fasoli: Biała Wyborowa, Harwester, Krakowska, Mamut, Michigan, Rakowicka, Saxa, Saxa Nova, Siarka, Tenderlong, Wade, Wiejska, Złota Saxa, Złotka, Złoty Deszcz Kujawski.

Przed siewem nasiona zaprawiano 0,1% roztworem Ceresanu (Bayer), po czym wysiewano je do doniczek wypełnionych parowaną ziemią kompostową.

Inokulowano wyłącznie pojedyncze liście w momencie pojawienia się pierwszych liści złożonych. Przed inokulacją liście opylano karborundem o gradacji 600 mesh, a następnie pocierano ich górną powierzchnię tamponem sporządzonym z gąbki poliuretanowej nasyconej roztworem oczyszczonego metodą Knighta [6] wirusa mozaiki tytoniu typu common. Stężenie wirusa w inokulacie wynosiło 50 µg na 1 ml wody destylowanej. Po inokulacji powierzchnię liści splukiwano wyjałowioną wodą wodociągową.

Ponieważ jedna z badanych odmian zareagowała na inokulację, dlatego też autorzy przeprowadzali dodatkowe badania, mające na celu porównanie jej wrażliwości na zakażenie wirusem mozaiki tytoniu z wrażliwością fasoli odmiany Pinto [3, 14, 15] jako indykatozem tego wirusa. Badania te polegały na zakażeniu pierwszych, pojedynczych liści obu odmian stopniowo rozcieńczanym roztworem wirusa. Każdym rozcieńczeniem inokulatu zakażono po 50 liści porównywanych odmian. Aby jednak liczby powstałych nekroz były porównywalne, przeliczano je na powierzchnię 1 cm² liścia.

Przeprowadzono również pomiary średnicy uszkodzeń lokalnych występujących na liściach fasoli odmiany Pinto i Michigan; porównano charakter tych uszkodzeń a także okres inkubacji choroby.

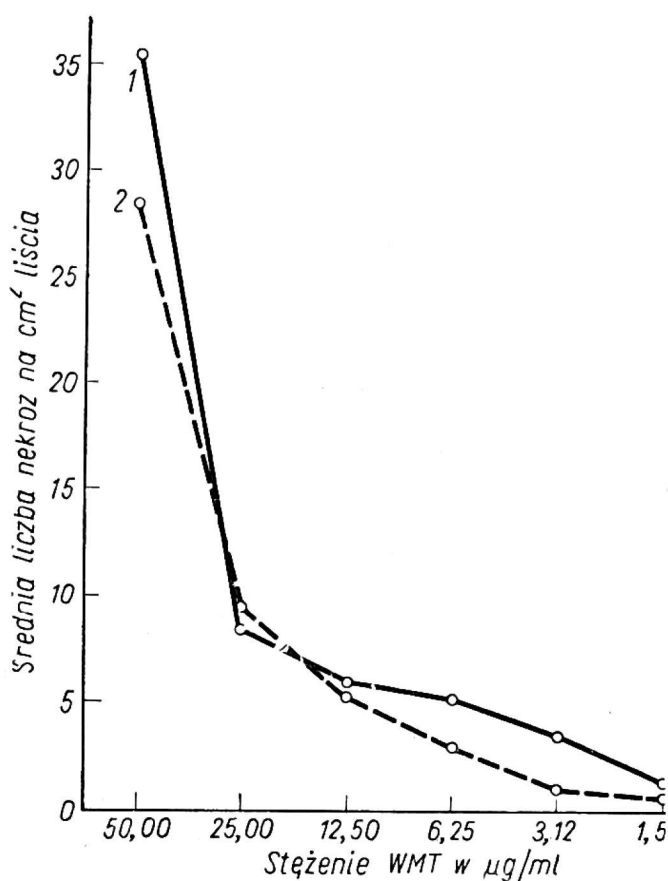
Celem wykrycia ewentualnej infekcji systemicznej, po upływie 15 dni od inokulacji, przeprowadzono biologiczną próbę na obecność wirusa w wyrastających, nie zakażonych najmłodszych liściach złożonych. Próba ta polegała na zakażeniu liści *Nicotiana tabacum* var. Xanthi homogenizatem sporządzonym z liści fasoli wszystkich badanych odmian.

WYNIKI

Spośród 15 odmian fasoli użytych w doświadczeniu, tylko jedna odmiana Michigan zareagowała pozytywnie na inokulację wymienionym

wirusem. Już po upływie 48 godzin od momentu inokulacji, pojawiły się na jej liściach liczne uszkodzenia lokalne, które w 4 dniu przybrały postać ciemnobrunatnych nekroz o zarysie okrągłym.

Porównanie wrażliwości odmiany Pinto z wrażliwością prezentowanej przez autorów odmiany Michigan wykazało, że ta ostatnia wydaje się być nieco wrażliwsza na zakażenie wirusem mozaiki tytoniu (rys. 1). Prawie przy wszystkich użytych rozcieńczeniach preparatu wirusowego, liczba uszkodzeń lokalnych była większa u odmiany Michigan.



Rys. 1. Zależność między stężeniem wirusa w inokulacji a liczbą nekroz występujących na liściach fasoli
1 — Michigan, 2 — Pinto

Stwierdzono również różnice w wielkości i charakterze uszkodzeń lokalnych powstałych na inokulowanych liściach porównywanych odmian. Średnica plamek występujących na liściach odmiany Michigan była przeciętnie o 140% większa od średnicy uszkodzeń lokalnych występujących na liściach odmiany Pinto. Ponadto uszkodzenia lokalne u odmiany Michigan były dwójakiego rodzaju: nieliczne nekrozy otoczone brunatnym pierścieniem oraz liczniejsze bezpierścieniowe nekrozy.

Nie stwierdzono natomiast wyraźnej różnicy w długości okresu inkubacji choroby u obu porównywanych odmian.

Żadna z 15 badanych odmian fasoli nie uległa porażeniu układowemu.

DYSKUSJA

Problem podatności fasoli (*Phaseolus vulgaris*) na zakażenie wirusem mozaiki tytoniu był od dawna przedmiotem badań [11, 13]. Stwierdzono, że tylko niektóre jej odmiany reagują na inokulację tym wirusem, przy czym obserwowano wyłącznie infekcje lokalne. Zasadniczym celem tych badań było znalezienie takiej odmiany, która oprócz wyrażonej podatności odznaczałaby się wytwarzaniem lokalnych uszkodzeń o możliwie dużej średnicy. Tylko w ten sposób reagujące odmiany fasoli są bowiem przydatne do ilościowych testów biologicznych. W literaturze wymieniane są jako najbardziej odpowiednie do tych celów odmiany: Pinto, Early Golden Cluster, Scotia, Prince, Kairyo Otebo [1, 3, 5, 9-12, 14, 15].

Spośród 15 odmian fasoli powszechnie uprawianych w Polsce a przebadanych przez autorów, tylko odmiana Michigan okazała się podatna na zakażenie wirusem mozaiki tytoniu.

W literaturze nie napotkano żadnych wzmianek dotyczących tej odmiany. Według naszych badań odmiana ta wydaje się nie ustępować pod względem przydatności do ilościowych testów biologicznych najczęściej obecnie stosowanej odmianie Pinto [3, 15]. Wprawdzie powierzchnia pierwszych pojedynczych liści odmiany Michigan, których używa się do testów, jest o ok. 35% mniejsza od powierzchni analogicznych liści odmiany Pinto, lecz średnica uszkodzeń lokalnych, powstałych w wyniku zakażenia ich wirusem mozaiki tytoniu jest większa, a tym samym uszkodzenia te są wygodniejsze do liczenia. Na tę cechę, jako bardzo ważną, zwracali już uwagę Silberschmidt i Kramer [13]. Autorzy ci podają, że tylko odmiany reagujące na zakażenie plamkami o dużej średnicy powinny być brane pod uwagę przy tego rodzaju testach.

Za zastąpieniem odmiany Pinto odmianą Michigan przemawia łatwość w uzyskaniu materiału siewnego, gdyż fasola ta jest w Polsce masowo uprawiana na suche ziarno.

LITERATURA

1. Bawden F. C.: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass., USA, 3 ed. 1950.
2. Bojňanský V. i in.: Virusowe choroby rastlin. Bratislava 1963.
3. Gubański M.: Metody hodowli i ilościowych oznaczeń wirusa mozaiki tytoniowej. Wiad. bot. 1961, t. 5, z. 1, s. 19-30.
4. Holmes F. O.: Inoculating methods in tobacco mosaic studies. Contrib. Boyce Thompson Inst., 1929, t. 1, nr 8, s. 504-520.
5. Kleczkowski A.: The transformation of local lesion counts for statistical analysis, The Annals of Applied Biology, 1949, t. 36, No 1, s. 139-152.
6. Knight C. A.: Chemistry of viruses. Protoplasmatologia 1963, t. 4, z. 2, s. 13-14.
7. Kwieciński W.: Agrotechnika w pracy zbiorowej: Tytoń. PWRiL Warszawa 1969.
8. Luria S. E., Darnell J. E.: Wirusologia ogólna. PWN, Warszawa 1970.

9. Nakagaki Y., Hirai T.: Effect of detached leaf treatment on tobacco mosaic virus multiplication in tobacco and bean leaves. *Phytopathology* 1971, t. 61, s. 22-27.
10. Nakagaki Y., Matsui C.: Effect of bean leaf detachment on susceptibility to tobacco mosaic virus infection. *Phytopathology* 1971, t. 61, s. 354-356.
11. Price W. C.: Local lesions on bean leaves inoculated with tobacco mosaic virus. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 1930, t. 2, nr 10, s. 549-557.
12. Roberts D. A.: Local-lesions assay at plant viruses. M. K. Corbett i H. D. Sisler: *Plant Virology*, Univ. of Florida Press. Gainesville 1964.
13. Silberschmidt K., Kramer M.: Brazilian bean varieties as plant indicators for the tobacco mosaic virus. *Phytopath.* 1941, t. 31, s. 430-439.
14. Yarwood C. E.: The phosphate effect in plant virus inoculations. *Phytopath.* 1952, t. 42, s. 137-143.
15. Yarwood C. E.: Zinc increases susceptibility of bean leaves to tobacco mosaic virus. *Phytopath.* 1954, t. 44, s. 230-233.

Густав Новак, Збигнев Май, Ян Беднарек

REAKCJA NEKOTORYCH WZDELYWAEWYCH W POLSZE SORTOW FASOLI
NA ZARAZENIE WIRUSOM MOZAIKI TABAKA
(*NICOTIANA VIRUS 1* MAYER, SMITH)

Резюме

Авторы провели исследования по восприимчивости 15-ти сортов фасоли, возделываемых в Польше, на заражение вирусами мозаики табака (*Nicotiana virus 1* Mayer, Smith). Инокулировано первые одиночные листья отдельных сортов. Установлено, что только сорт Мичиган реагировал на заражение местными повреждениями. У ни одного из сортов не обнаружено системичной реакции.

Gustaw Nowak, Zbigniew Maj, Jan Bednarek

THE REACTION OF SOME BEAN VARIETIES CULTIVATED IN POLAND
TO INOCULATION WITH TOBACCO MOSAIC VIRUS (*NICOTIANA VIRUS 1*
MAYER, SMITH)

Summary

The susceptibility of 15 bean varieties grown in Poland to infection with tobacco mosaic virus (*Nicotiana virus 1* Mayer, Smith) was investigated. The first single leaves of the particular varieties were inoculated. Only the variety Michigan was found to react to infection by local lesions. In on variety was a systemic reaction observed.