

GEELNERVIGHEID, EEN VIRUSZIEKTE VAN LUZERNE¹

With a summary:

Vein yellowing, a virus disease of lucerne

DOOR

J. P. H. VAN DER WANT² en L. BOS

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

In het voorjaar van 1950 werden van de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen enige luzerneplanten (*Medicago sativa* L.), die op de bladeren een briljante, gele nerftekening vertoonden, ontvangen, met het verzoek na te gaan of hier van een virusziekte sprake kon zijn. Ondanks herhaalde pogingen om met sap uit de betrokken planten een virus op luzerne, klaversoorten, erwt en tuinboon over te dragen, werden hierbij geen resultaten geboekt.

In hetzelfde jaar nam de eerste schrijver in luzernepercelen op Zuid-Beveland verschijnselen waar overeenkomend met die van de planten, welke van de Plantenziektenkundige Dienst waren ontvangen. In latere jaren werden deze symptomen in verscheidene luzernepercelen waargenomen.

Op grond van in dit artikel te beschrijven kasproeven en waarnemingen in het veld kon worden vastgesteld, dat de onderhavige gele nerftekening op de bladeren van luzerne het gevolg is van infectie der desbetreffende planten met het topvergelingsvirus van de erwt.

SYMPTOMEN

Het verschijnsel is gekenmerkt door een regelmatige, scherp begrensde verkleuring van de nerven en het daaraangrenzende bladmoes (fig. 1). De verkleuring kan variëren van lichtgroen, waarbij de breedte van de verkleurde delen smal is, tot intens geel als de verkleuring zich over een groter oppervlak van de bladschijf uitstrekt. Soms blijft slecht weinig bladmoes met een normale groene kleur over. Deze bladeren wijken doorgaans in vorm en grootte niet af van de bladeren van een gezonde plant. Aangezien het patroon van de nervatuur door de vergeling zo sprekend wordt en zeer regelmatig is, stellen wij voor het verschijnsel „geelnervigheid” te noemen.

Merkwaardig is, dat het ziektebeeld veelal in het voorjaar in luzernevelden kan worden waargenomen, doch dat het doorgaans in de loop van de zomer verdwijnt om in het najaar weer te voorschijn te komen. Ook planten met geelnervigheid, die in de kas groeien, vertonen de tendens in de zomer normaal groene bladeren te vormen. Het is niet zeker, waar dit aan geweten moet worden. Vermoedelijk is de hoeveelheid licht, die de planten ontvangen, bepalend voor het al of niet optreden van de verschijnselen van geelnervigheid (zie ook blz. 76).

¹ Aangenomen voor publikatie 20 februari 1959.

² Thans Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse.

In juli 1956 werden – naast enige erwteplanten ras Unica – een drietal luzerneplanten, van het in Nederland het meest geteelde ras Du Puits, bezet met verscheidene exemplaren van de erwtebladluis (*Acyrtosiphon pisum* HARRIS), welke geruime tijd hadden gezogen op vergelingszieke erwten, die Ir. N. HUBBELING in een kas op het I.P.O. in observatie had. Twee dagen nadat de luizen op de planten waren geplaatst, werden zij met een insecticideoplossing (TEPP) gedood. De erwteplanten vertoonden na enkele weken symptomen van topvergelingsziekte, maar aan de luzerneplanten konden maandenlang geen bijzondere verschijnselen worden waargenomen. In september werd bij één plant een lichtgroene verkleuring van de nervatuur waargenomen. Pas in december 1956 vertoonde deze en een tweede van de drie geïnoculeerde luzerneplanten verschijnselen, die geheel geleken op de hierboven beschreven symptomen van geelnervigheid.

In september 1956 werden virusvrije erwtebladluizen geplaatst op bovengenoemde luzerneplant met zwakke nervverkleuring. Vervolgens werden zij overgebracht op jonge, gezonde erwteplanten van het ras Unica (vier tot tien luizen per plant). Van de vijf in deze proef gebruikte erwteplanten, waren er na enige weken twee vergelingsziek.

Van een der geelnervige luzerneplanten werden verscheidene stekken genomen, die tot beworteling werden gebracht. Aldus kon het materiaal op eenvoudige wijze voor verder onderzoek in stand worden gehouden.

In mei 1957 werd opnieuw getracht het topvergelingsvirus met erwtebladluizen uit de geelnervige luzerneklon op erwteplanten (ras Unica) over te brengen. Ook thans werd een positief resultaat verkregen: van de 20 planten werden er 11 ziek.

Een derde proef werd genomen in augustus 1957. De erwtebladluizen zogen enige dagen op de geelnervige luzerne en werden vervolgens op vier erwteplanten overgebracht. Deze planten reageerden alle met topvergelingsziekte.

Uit deze proeven kan worden geconcludeerd, dat het topvergelingsvirus met behulp van *Acyrtosiphon pisum* van erwte op luzerne kan worden overgebracht en vandaar weer op erwte. Aangezien bij geen van de in de loop der jaren in de kas uit zaad opgekweekte luzerneplanten ooit verschijnselen van geelnervigheid werden waargenomen, behalve bij de met topvergelingsvirus besmette planten, kan worden aangenomen, dat geelnervigheid een gevolg is van infectie met topvergelingsvirus.

Om dit nader aan te tonen werden in het voorjaar van 1957 op Zuid-Beveland en in West-Brabant een zestal monsters luzerneplanten verzameld en op aanwezigheid van het topvergelingsvirus onderzocht. Vijf der betrokken monsters vertoonden geelnervigheid; het zesde had deze verschijnselen niet. Op alle monsters werden virusvrije erwtebladluizen gezet en deze werden enige dagen later overgebracht op gezonde Unica-erwten. Aldus kon uit vier van de vijf monsters met geelnervigheid het topvergelingsvirus worden geïsoleerd. Uit het monster luzerne zonder geelnervigheid brachten de bladluizen geen topvergelingsvirus over.

Hierbij moet worden opgemerkt, dat deze proeven werden bemoeilijkt, doordat de gebruikte stam van de erwtebladluis in de kas op luzerne vaak slechts met moeite tot zuigen kon worden gebracht.

Verder verkregen wij, ook bij het gebruik van bladluizen, die geruime tijd (48 uur of langer) op een topvergelingszieke erwteplant hadden gezogen, bij proefplanten die met 5 tot 10 bladluizen waren bezet, slechts vrij zelden 100 % infectie.

VERSPREIDING VAN GEELNERVIGHEID IN HET VELD

Om te onderzoeken in welke mate het verschijnsel van de geelnervigheid zich in het veld uitbreidt, werd te Wageningen een veldproef genomen (fig. 2). In 1957 waren in drie dubbele rijen luzerne (in fig. 2 gearceerd) planten van de geelnervige luzernekleon geplant en in de loop van het jaar verbreedde de geelnervigheid zich in belangrijke mate van hieruit over de drie rijen. In het voorjaar van 1958 werd de oppervlakte tussen de rijen met luzerne volgezaaid. Bovendien werd ten noorden van de luzernerijen en hierbij aansluitend in regels loodrecht hierop luzerne gezaaid op een oppervlakte van 10×21 m. Op drie tijdstippen met tussenperioden van ongeveer $2\frac{1}{2}$ maand, nl. op 7 juni, 26 augustus en 3 november, werden de planten met geelnervigheid in kaart gebracht (fig. 2). Aldus werd een goed beeld verkregen van de verspreiding van het topvergelingsvirus, uitgaande van de besmette rijen.

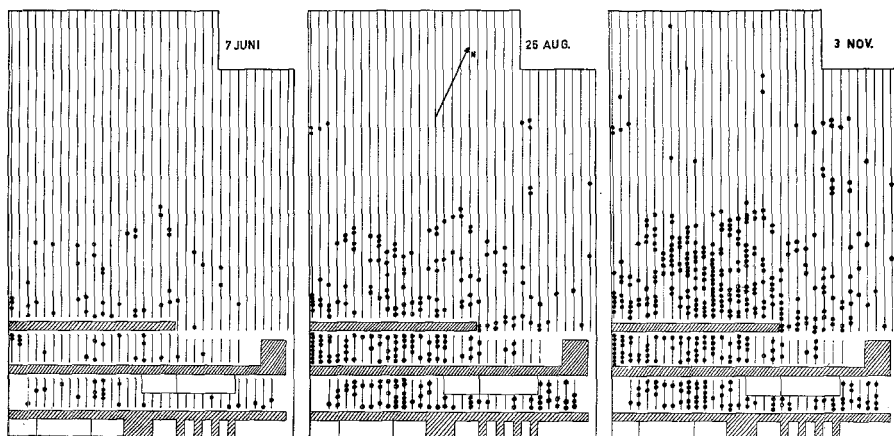


FIG. 2. Natuurlijke verspreiding van geelnervigheid in een luzerneveldje ($28\frac{1}{2} \times 10$ m), uitgaande van kunstmatig geïnfecteerde besmettingsstroken (gearceerd). Besmettingsstroken gezaaid en geïnfecteerd in 1957, overige luzerne gezaaid voorjaar 1958. Waarnemingen verricht op 7 juni, 28 augustus en 3 november 1958. (N.B. het veldje is in verhouding 2 $\times$ te breed afgebeeld).

Natural spread of vein yellowing in a field of lucerne ($28\frac{1}{2} \times 10$ m) from artificially infected rows (shaded). These rows sown and infected in 1957, remaining part of the field sown in spring 1958. Observations 7 June, 28 August, and 3 November, 1958. (N.B. the scale for the length is half that for the width).

Een tweede perceeltje met luzerne van vrijwel gelijke grootte was op ongeveer 100 m ten zuiden van het zojuist beschrevene gelegen, maar had geen besmettingsstroken met topvergelingsvirus. In dit tweede perceeltje werd op 3 november slechts bij één plant geelnervigheid waargenomen.

Aangaande het voorkomen van het geelnervigheidssymptoom in het eerste

proefveld kan worden opgemerkt, dat dit gedurende de zomermaanden steeds duidelijk zichtbaar was. In september 1958, toen veel dagen met zonneschijn en een hoge temperatuur voorkwamen, vormden de zieke planten echter weer normaal groene bladeren. Bij de laatste kartering, eind november, waren de besmette planten weer duidelijk aan de gele nerftekening op de bladeren te herkennen.

BESPREKING

Door QUANTZ & VÖLK (1954) en DE FLUITER & HUBBELING (1955) is de mening geuit, dat luzerne een waardplant van het topvergelingsvirus van de erwt is. De Duitse auteurs grondde dit op het voorkomen in luzernepercelen van planten, „die durch gestauchten Wuchs und chlorotische Aufhellung der etwas versteiften, starren Blättchen auffielen”. Het gelukte hen niet, met sap van dergelijke planten een virus over te brengen. Wel vonden zij in de betrokken luzerneplanten een necrose van het floëm, een symptoom, dat zij ook in vergelingszieke erwten hadden waargenomen.

DE FLUITER & HUBBELING concludeerden tot het voorkomen van het topvergelingsvirus in luzerne uit het feit, dat met erwtebladluizen in voorjaar en voorzomer in luzernevelden in het zuidwesten des lands gevangen, gemakkelijk infectie van erwten met topvergelingsvirus tot stand kon worden gebracht. Deze auteurs vermeldde, dat zij in de desbetreffende velden geen duidelijk zieke luzerneplanten waarnamen.

Uit het in dit artikel beschreven onderzoek is gebleken, dat het topvergelingsvirus van de erwt inderdaad luzerne kan aantasten. Dit onderzoek en de verrichte veldwaarnemingen bevestigen de mening van DE FLUITER & HUBBELING, dat luzernevelden in ons land van betekenis zijn als reservoir van het topvergelingsvirus van de erwt. Onder de in Nederland voorkomende omstandigheden verwekt het in luzerne, althans in het ras Du Puits, geen symptomen, die ook maar enigermate op de ziekteverschijnselen in erwt gelijken. Integendeel, een belangrijk deel van het groeiseizoen kunnen de besmette planten er volkomen normaal uitzien. En zelfs in voor- en najaar, als de symptomen van geelnervigheid te voorschijn komen, hebben de besmette planten een normale habitus.

Naar aanleiding van de besproken proeven met de erwtebladluis moet, zoals reeds werd vermeld, worden opgemerkt, dat deze vaak met moeite in de kas op luzerne tot zuigen kan worden gebracht. Het nemen van proeven wordt hierdoor zeer bemoeilijkt. Volgens EVANS & GYRISCO (1956) zou men deze moeilijkheden kunnen verklaren doordat van deze bladluissoort de winterwaardplanten verschillen van de zomerwaardplanten. De migranten verhuizen in het voorjaar van de winterwaardplanten, zoals luzerne, naar de éénjarige zomerwaardplanten, zoals erwten. De zomergeneraties van het insect zijn volgens deze auteurs ook in de kas doorgaans niet op luzerne te kweken, doordat luzerne dan minder aantrekkelijk voor ze is.

In werkelijkheid is het probleem echter gecompliceerder daar van *Acyrtosiphon pisum* verschillende vormen bestaan, die tot dusver morfologisch niet te onderscheiden zijn, maar b.v. wel verschillen in smaakpreferenties (HILLE RIS LAMBERS, 1947). De gecompliceerdheid blijkt ook uit het feit, dat de geelnervigheid in ons proefveld gedurende de zomer snel werd verspreid (fig. 2) en dat in dit proefveld toen grote aantallen erwtebladluizen konden worden waar-

genomen. Het is evenwel niet uitgesloten, dat ook andere bladluisoorten in de verspreiding een rol hebben gespeeld.

SAMENVATTING

Door middel van de erwtebladluis (*Acyrtosiphon pisum* HARRIS) werd het topvergelingsvirus van de erwt op luzerne (*Medicago sativa* L.) overgebracht. De besmette planten vertoonden na verloop van tijd het verschijnsel van geelnervigheid, te weten een regelmatige, lichtgroene tot gele nerftekening op de bladeren. Dit verschijnsel blijkt veelvuldig in luzernepercelen in het zuidwesten van het land (het gebied waar topvergelings in erwt algemeen voorkomt) op te treden. Het gelukte uit vier van vijf van verschillende plaatsen van West-Brabant en Zuid-Beveland afkomstige monsters geelnervige luzerne het topvergelingsvirus te isoleren.

Uit waarnemingen bij planten, groeiende in het veld en in de kas, is gebleken, dat de omstandigheden een grote invloed hebben op het te voorschijn komen van het ziektebeeld. In het voor- en najaar treedt de geelnervigheid doorgaans zeer duidelijk op; in de zomermaanden verdwijnt dit verschijnsel veelal tijdelijk bij de besmette planten en onderscheiden deze zich niet van virusvrije luzerne.

In een veldproef bleek het topvergelingsvirus, gezien het voorkomen van geelnervigheid in de loop van het seizoen, vrij snel in luzerne verspreid te worden.

SUMMARY

Tip yellows (leaf roll) virus of pea was transmitted to lucerne (*Medicago sativa* L.) by means of the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum* HARRIS). After some months the infected lucerne plants showed a regular lightgreen to yellow discoloration of the veins and the adjacent tissue (fig. 1). No differences in growth and in shape of the leaves between infected and healthy plants were found to exist.

This disease – for which we have chosen the name of „vein yellowing of lucerne” – is very prevalent in lucerne fields in the southwestern part of The Netherlands where tip yellows is often found in peas. We succeeded in isolating tip yellows virus from four out of five samples of lucerne showing vein yellowing collected in western Brabant and Zuid-Beveland.

In carrying out transmission tests, it was found that the pea aphid often hardly sucks on lucerne in the greenhouse. Although it generally is present in large numbers in lucerne fields, it refuses to feed on lucerne after having been reared on peas for a prolonged period. This behaviour of the vector impedes the experiments. It may be due to the fact that the different generations of the insect differ in host plant requirements (EVANS & GYRISCO, 1956) but also to the fact that morphologically indistinguishable forms of the insect exist, which may differ in host plant preferences (HILLE RIS LAMBERS, 1947).

Furthermore, in our experiments seldom a 100 % infection of pea plants was obtained, even when using pea aphids which fed on a tip yellows diseased pea plant for a period of 48 hours or longer, and using five to ten aphids per test plant.

Observations on infected plants growing in the field and in the greenhouse indicate that the environment has great influence on the appearance of the vein yellowing symptom. Generally, vein yellowing occurs very strikingly during the spring-time and the late autumn but disappears in the summer months.

According to observations on the rate of occurrence of vein yellowing at different times of the year in a field experiment at Wageningen (fig. 2), it appears that tip yellows virus is capable of spreading fast in a lucerne field.

The experiments and observations described in the present paper confirm the idea expressed by DE FLUITER & HUBBELING (1955) that lucerne fields are important as a reservoir of the tip yellows virus of pea in The Netherlands.

DANKBETUIGING

Schrijvers willen hier gaarne hun dank uitbrengen aan mejuffrouw H. H. M. STEEGMANS voor het kweken van de bladluizen en aan de heer D. HILLE RIS LAMBERS voor zijn adviezen en de getoonde belangstelling.

LITERATUUR

- EVANS, W. G. & G. G. GYRISCO, - 1956. Notes on the biology of the pea aphid. *J. econ. Entom.* 49: 878-879.
- FLUITER, H. J. DE & N. HUBBELING, - 1955. Waarnemingen over topvergelting bij erwten. *T. Pl.ziekten.* 61: 165-175.
- HILLE RIS LAMBERS, D., - 1947. *Acyrtosiphon* in: Contributions to a monograph of the Aphididae of Europe III. *Temminckia* 7: 211-264.
- QUANTZ, L. & J. VÖLK, - 1954. Die Blattrollkrankheit der Ackerbohne und Erbse, eine neue Viruskrankeheit bei Leguminosen. *Nachr.-Bl. deutsch. Pfl.-Sch.-D. (Braunschweig)* 6: 177-182.

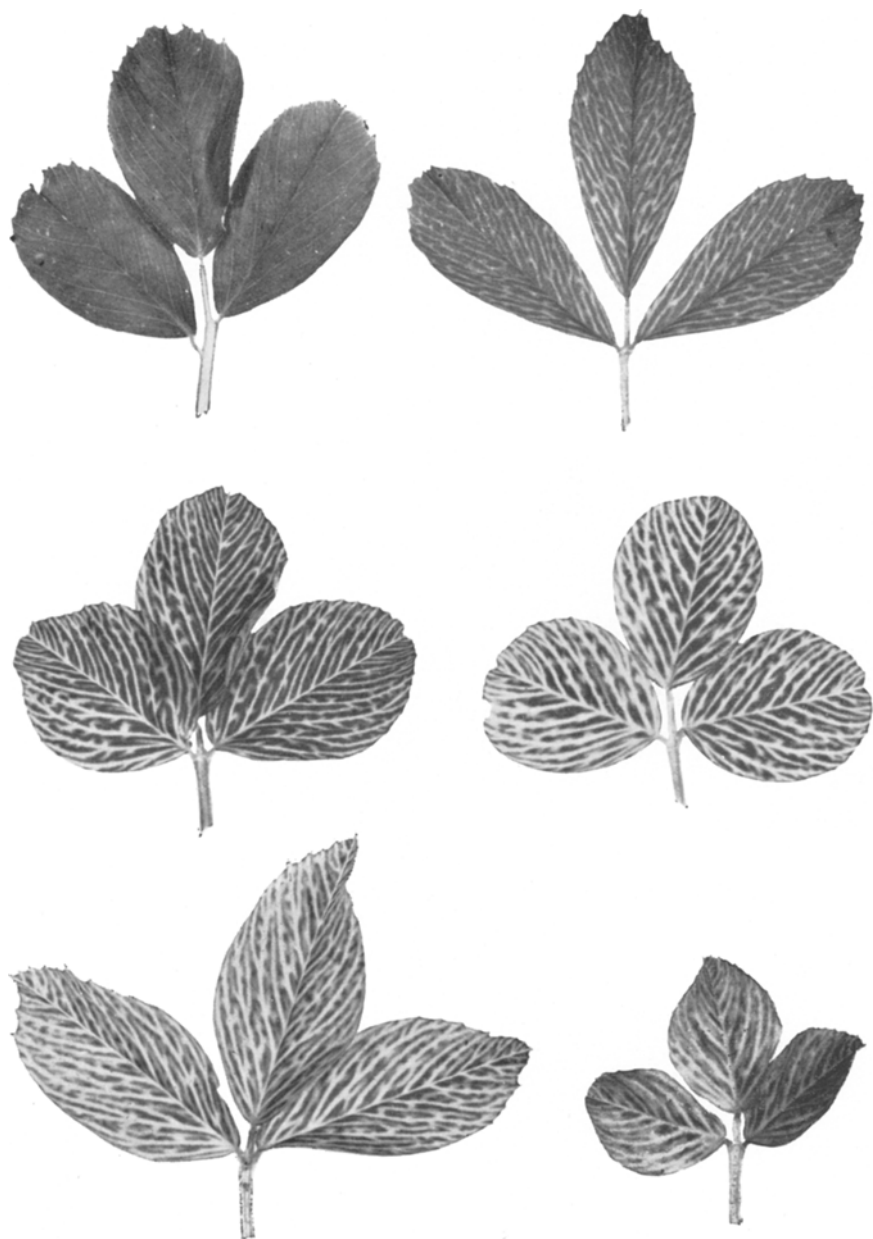


FIG. 1. Bladeren van luzerne (ras Du Puits) met geelnervigheid veroorzaakt door het topvergelingsvirus van de erwt. Links boven, gezond blad.

Leaves of lucerne (variety Du Puits) showing vein yellowing caused by the tip yellows virus of pea. Upper left, healthy leaf.



Aanplant van *Mundulea sericea* in de Cultuurtuin te Bogor, Java, 15 maanden oud en ongeveer 2 meter hoog (1949) (Cliché bruikleen Uitgeverij W. VAN HOEVE, 's-Gravenhage).

Plat of Mundulea sericea in the Experimental garden of the Agricultural Institute at Bogor, Java, 15 months old and about 2 m high (1949).