

AGNIESZKA KALICIAK

JERZY SYLLER

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział Młochów

## Przenoszenie różnych genetycznie izolatów wirusa Y ziemniaka przez mszyce i podatność chwastów na infekcję wirusem\*

### Aphid transmissibility of genetically different isolates of *Potato virus Y* and susceptibility of weeds to virus infection

Wirus Y ziemniaka (PVY) jest ważnym gospodarczo patogenem atakującym uprawy ziemniaka, tytoniu i papryki. Wirus przenoszony jest w sposób nietrwały przez mszyce, głównie przez *Myzus persicae*. Do efektywnego przeniesienia wirusa z rośliny chorej na zdrową wystarcza krótki (< 1 min.) czas żerowania owada na roślinie. Od ponad 20 lat stwierdza się szybkie rozprzestrzenianie nowych, bardziej infekcyjnych wariantów PVY, najczęściej klasyfikowanych w podgrupach PVY<sup>NTN</sup> i PVY<sup>NW</sup> szczepu PVY<sup>N</sup>. Dynamiczne szerzenie się nowych wariantów genetycznych PVY może wskazywać, że efektywnie współdziałają one z wektorami wirusa. W prowadzonych w Młochowie badaniach nad przenoszeniem przez *M. persicae* 12 izolatów PVY na rośliny *Nicotiana tabacum*, *Physalis floridana* i *Solanum nigrum* zastosowano krótki i długi czas żeru nabycia wirusa na roślinach stanowiących źródła wirusa. Wykazano, że izolaty PVY<sup>NTN</sup> i PVY<sup>NW</sup> były przenoszone istotnie efektywniej, niż znane od dawna, standardowe izolaty PVY<sup>N</sup> i PVY<sup>0</sup>. Stwierdzono ponadto, że mszyce nadspodziewanie efektywnie przenosiły niektóre izolaty po długotrwałym (3 dni) żerowaniu na roślinach źródłowych. Stopień porażenia inokulowanych roślin zależał także od ich gatunku. Zróżnicowanie genetyczne w obrębie populacji PVY nie może pozostawać bez wpływu na zdolność współdziałania wirusa z roślinami-gospodarzami, a w konsekwencji na zakres gospodarzy wirusa. Gospodarzami PVY, oprócz roślin uprawnych, są niektóre gatunki roślin dziko żyjących. Porażone chwasty mogą pełnić rolę naturalnego rezerwuaru wirusa i stanowić źródło infekcji pierwotnej. Zidentyfikowano trzech nowych, naturalnych gospodarzy PVY wśród chwastów powszechnie występujących w Polsce. Są to: bodziszek drobny i iglica pospolita (Bodziszkowate) oraz jasnota purpurowa (Jasnotowate). Potwierdzono ponadto wcześniejsze doniesienie z Grecji, że gospodarzem PVY jest sałata kompasowa (Astrowate), chwast popularny również w warunkach naszego kraju.

**Słowa kluczowe:** chwasty, ELISA, efektywność przenoszenia, IC-RT-PCR, izolaty, *Myzus persicae*, PVY

*Potato Virus Y* (PVY) is one of the most economically important pathogens attacking solanaceous crops. PVY is non-persistently transmitted by aphids, and its principal vector is *Myzus persicae*. Aphids

\* Praca finansowana przez MNiSW, grant nr N310 014 32/1114, ze środków na naukę w latach 2007–2010

efficiently acquire the virus during short (< 1 min) feeding probes made by aphids in the epidermal leaf tissue. In the last 20 years, the increasing spread of new, more infective PVY variants has been reported. Novel virus variants have been classified into subgroups PVY<sup>NTN</sup> and PVY<sup>NW</sup> within the standard PVY<sup>N</sup> strain. The dynamic spread of novel genetic variants of PVY may indicate that they have evolved active forms of interaction with aphid vectors. The studies carried out in Młochów on aphid transmissibility of 12 PVY isolates included timed acquisition experiments in which apterous aphids were placed on PVY-infected leaves for a short (10-min.) or long (72-h) acquisition access period (AAP). *Nicotiana tabacum* var. Samsun, *Physalis floridana* and *Solanum nigrum* were applied as assay plants. Transmissibility by *M. persicae* of PVY<sup>NTN</sup> and PVY<sup>NW</sup> isolates was found to be evidently higher than that of the isolates representing the standard PVY<sup>N</sup> and PVY<sup>0</sup> strains. Surprisingly high transmission rates of some isolates acquired by aphids during a 3-day AAP were recorded. Aphid transmissibility of PVY was also shown to depend on the species of an assay plant. The genetic variability within PVY population must affect the interactions of the virus with its host plant and, in consequence, modify virus host range. The natural host range of PVY includes crop plants as well as solanaceous and non-solanaceous arable weeds. PVY-infected weeds can play a role as the natural reservoir of virus and the source of primary infection. Three new natural hosts of PVY have been found among arable weeds, commonly occurring in Poland: *Geranium pusillum* and *Erodium cicutarium* (Geraniaceae each), and *Lamium purpureum* (Lamiaceae). A recent report from Greece that *Lactuca serriola* (Asteraceae) is a natural host for PVY, has also been confirmed.

**Key words:** ELISA, IC-RT-PCR, isolates, *Myzus persicae*, PVY, transmission efficiency, weeds.

#### WSTĘP

Od ponad 20 lat obserwowane są dynamiczne zmiany w populacji wirusa Y ziemniaka (*Potato virus Y*; PVY) w wielu rejonach świata, także w Polsce. Efektem dużej genetycznej zmienności PVY jest narastający problem zagrożenia wirusem upraw ziemniaka, papryki, tytoniu i pomidora. Zmiany w obrębie populacji PVY mają związek z pojawianiem się nowych, bardziej infekcyjnych izolatów wirusa, niekiedy w odległych od siebie rejonach geograficznych. Nowo wyodrębnione warianty różnią się od dotychczas opisywanych szczepów PVY<sup>C</sup>, PVY<sup>O</sup> i PVY<sup>N</sup> nie tylko stopniem patogeniczności, ale także właściwościami molekularnymi, a niekiedy także serologicznymi (Chrzanowska, 1994; Chrzanowska i in., 2002; Glais i in., 2002; Kerlan i in., 1999). Izolaty typu PVY<sup>NW</sup> łączą pod względem serologicznym właściwości PVY<sup>O</sup> i PVY<sup>N</sup> (Chrzanowska, 1991; McDonald i Singh, 1996). Inną grupę stanowią izolaty PVY<sup>NTN</sup>, które od czasu odkrycia w Europie 25 lat temu (Beczner i in., 1984) szeroko rozprzestrzeniają się na całym świecie, wywołując chorobę charakteryzującą się nekrotycznymi zmianami bulw ziemniaka (potato tuber necrotic ringspot disease, PTNRD) (Le Romancer i in., 1994). Izolaty PVY<sup>NTN</sup> prawdopodobnie wyewoluowały ze szczepu PVY<sup>N</sup>, do którego zresztą są zaliczane (Nie i in., 2001). Jednakże pojawianie się licznych rekombinantów różnych szczepów utrudnia jednoznaczną klasyfikację.

Charakterystyczne dla nowych form PVY szybkie rozprzestrzenianie świadczyć może o potencjalnie korzystniejszym współdziałaniu wirusa z wektorem, a także z roślinami-gospodarzami. PVY jest wprawdzie łatwo przenoszony mechanicznie, ale w warunkach naturalnych za jego rozprzestrzenianie odpowiedzialne są niemal wyłącznie mszyce. Wirus przenoszony jest przez ponad 50 gatunków mszyc (Sigvald, 1984; Radcliffe i Ragsdale, 2002), wśród których najefektywniejszym wektorem jest *Myzus persicae* (Sulz.). Mszyce

przenoszą PVY w sposób określany jako nietrwały i niekrążeniowy (Ng i Falk, 2006). Cząstki wirusa mogą być przeniesione z rośliny na roślinę w czasie bardzo krótkim, od kilkunastu sekund do kilku minut. Utrwalony jest pogląd, że efektywność przenoszenia PVY obniża się wraz z wydłużaniem się czasu nabywania wirusa przez mszyce (Bradley, 1954; Kanavaki i in., 2006). W ostatnich latach niewiele było doniesień literaturowych na temat interakcji rekombinantów PVY z wektorami wirusa oraz z różnymi genotypami roślin. Poczynione ostatnio w Młochowie obserwacje sugerują, że relacje między PVY a *M. persicae* mogły ulec poszerzeniu, stwierdziliśmy bowiem m.in. efektywne przenoszenie wirusa po długotrwałym (kilka dni) żerowaniu mszyc na roślinach stanowiących źródło wirusa. Co więcej, wyniki z ostatnich lat wskazują na zmiany w obrębie interakcji wirus – roślina, o czym świadczy pozyskiwanie przez PVY nowych gospodarzy, np. wśród gatunków roślin dziko żyjących (Chatzivassiliou i in., 2004; Fletcher, 2001; Kazinczi i in., 2004). Chwasty mogą pełnić rolę alternatywnych gospodarzy wirusa, stając się (zwłaszcza chwasty wieloletnie) naturalnym jego rezerwuarem i źródłem infekcji pierwotnej (Alvarez i in., 2007). Dotychczasowa wiedza w tym zakresie wydaje się niewystarczająca.

Celem niniejszej pracy było porównanie zdolności przenoszenia przez *M. persicae* geograficznie różnych izolatów PVY na trzy gatunki roślin z rodziny Solanaceae, z uwzględnieniem zróżnicowanego czasu przebywania mszyc na źródle wirusa. Ponadto, oceniono podatność na infekcję PVY niektórych gatunków chwastów towarzyszących uprawom ziemniaka.

## MATERIAŁ I METODY

### **Materiał doświadczalny**

W badaniach przeprowadzonych w Młochowie w latach 2007-2008 porównano przenoszenie przez mszyce siedmiu zidentyfikowanych stosunkowo niedawno wariantów PVY: PVY<sup>NTN</sup>NZ, PVY<sup>NTN</sup>Fr-Orl, PVY<sup>NTN</sup>47/96, PVY<sup>NTN</sup>Cou 8/03, PVY<sup>N</sup>W-Wi, PVY<sup>N</sup>W-FrKV2 i PVY<sup>N</sup>605 z przenoszeniem pięciu izolatów użytych jako standardowe: PVY<sup>N</sup>Bo, PVY<sup>O</sup>LW, PVY<sup>O</sup>Epo, PVY<sup>O</sup>Li i PVY<sup>O</sup>Wy. Izolaty pochodziły z kolekcji IHAR Oddział Młochów, zgromadzonej i utrzymywanej przez prof. M. Chrzanowską. Źródłem inokulum PVY były rośliny ziemniaka odmiany Irga, natomiast testowy materiał roślinny obejmował trzy gatunki roślin, znanych jako podatni gospodarze PVY: *Nicotiana tabacum* L. odm. Samsun, *Physalis floridana* Rydb. i *Solanum nigrum* L. Ponadto, inokulacji PVY w szklarni poddano rośliny 21 gatunków dziko żyjących, uzyskane z nasion zebranych w warunkach naturalnych.

### **Inokulacja roślin testowych i chwastów**

Wektorem PVY były nieuskrzydłone mszyce gatunku *Myzus persicae* Sulz., pochodzące z klonu rozmnażanego na roślinach *Brassica pekinensis* Rupr.

W badaniach nad efektywnością przenoszenia 12 izolatów PVY zastosowano zróżnicowany czas przebywania mszyc na roślinach źródłowych: 10 min. lub 72 godz. Następnie mszyce przenoszono za pomocą pędzelka na zdrowe siewki roślin testowych (10 mszyc na roślinę). Czas żeru inokulacyjnego wynosił, odpowiednio, 24 i 72 godziny. Dla ochrony roślin przed niepożądaną infekcją stosowano izolatory siatkowe. Istotność różnic

w efektywności przenoszenia izolatów PVY przez *M. persicae* analizowano przy użyciu testu  $\chi^2$ .

Ocenę podatności 21 gatunków roślin dziko żyjących na infekcję PVY przeprowadzono w latach 2007 i 2008, inokulując siewki roślin wybranymi izolatami PVY (PVY<sup>N</sup>Bo, PVY<sup>O</sup>LW, PVY<sup>NTN</sup>NZ, PVY<sup>NTN</sup>Fr-Orl, PVY<sup>N</sup>W-Wi) przy użyciu *M. persicae*. W celu pobrania wirusa, mszyce nakładano na rośliny źródłowe na 10 min., a następnie przenoszono na rośliny inokulowane na okres 24 godzin. Oddzielną grupę stanowiły rośliny każdego gatunku inokulowane mechanicznie, sokiem pochodzącym z tych samych źródeł inokulum. Zebrano ponadto w sąsiedztwie upraw ziemniaka próby 23 gatunków roślin dziko żyjących dla oceny naturalnej infekcji PVY. W każdym doświadczeniu stosowano kontrolę negatywną (rośliny nieinokulowane), oraz pozytywną w postaci roślin *N. tabacum* odm. Samsun inokulowanych sokiem z roślin stanowiących źródła wirusa (3 rośliny/izolat).

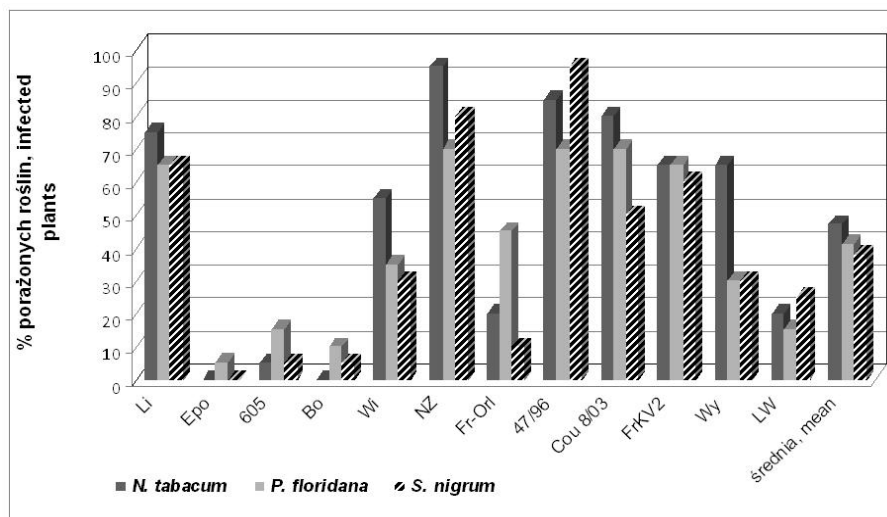
#### **Metody wykrywania wirusa w roślinach**

Wszystkie inokulowane rośliny były oceniane wizualnie pod kątem występowania objawów porażenia PVY. Po 4-5 tygodniach od inokulacji rośliny testowano na obecność PVY immunoenzymatycznym testem DAS-ELISA. Płytki titracyjne Nunc opłaszczano mieszaniną przeciwciał monoklonalnych (1  $\mu$ g/ml PVY-mono-cock, Bioreba AG). Sok do badań ekstrahowano z tkanki liściowej i rozcieńczono w stosunku 1:2 (v/v) buforem ekstrakcyjnym PBS-Tween (ph 7.4, 20 g/l PVP-40). Koniugat rozcieńczano 1:1000 (v/v). W ostatniej fazie testu, roztwór substratu inkubowano w temperaturze pokojowej, a pomiary wartości  $A_{405}$  wykonywano aparatem Dynex MRX II po 1 i 2 godz. inkubacji.

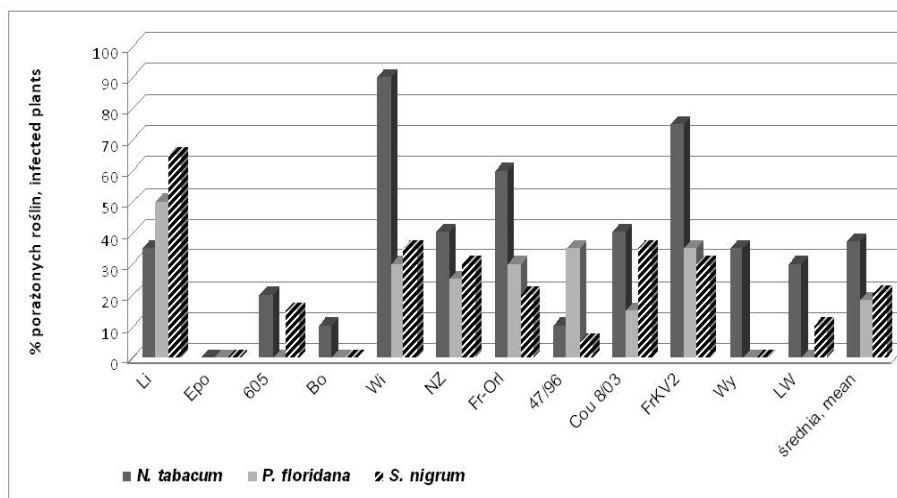
W badaniach nad podatnością chwastów na PVY zastosowano test DAS-ELISA, testy biologiczne oraz technikę IC-RT-PCR w oparciu o procedurę opisaną przez Weidemanna i współautorów (1996). Probówki 0,2 ml do PCR opłaszczano przeciwciałami na PVY, zgodnie z ogólną procedurą testu ELISA. Do próbek przenoszono sok roślinny zhomogenizowany z buforem PBS-T i inkubowano przez noc w 4°C. Po wypłukaniu i wysuszeniu próbek przeprowadzano reakcję odwrotnej transkrypcji z użyciem enzymu transkryptazy M-MLV RT (Invitrogen), według zaleceń producenta. Reakcję przygotowano w objętości 20  $\mu$ l mieszaniny o składzie: 1x bufor reakcyjny, 0,5 mM każdego z DTP, 5  $\mu$ M oligo(dT)<sub>20</sub>, 0,01 M DTT, 40U inhibitora RNazy (Fermentas), 200U M-MLV RT i woda dejonizowana. Następnie przeprowadzano reakcję łańcuchowej polimerazy. Do reakcji amplifikacji PCR pobierano 3  $\mu$ l cDNA do mieszaniny o pojemności 50  $\mu$ l i o składzie: 1x bufor reakcyjny, 0,3 mM każdego z DTP, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4  $\mu$ M każdego z użytych starterów, 1,25 U *Taq* polimerazy (Fermentas) i woda. Produkty PCR rozdzielano w 1,4% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydy (0,5mg/ml). Wykorzystane w amplifikacji startery PVY5-420F i PVY3-1200R (Schubert i in. 2007) były specyficzne dla wszystkich szczepów PVY, a ich położenie w sekwencji genomu wirusa odpowiada regionom genów P1 i HC-Pro.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Badania wykazały znaczne zróżnicowanie efektywności przenoszenia izolatów PVY przez *M. persicae* (rys. 1–2).



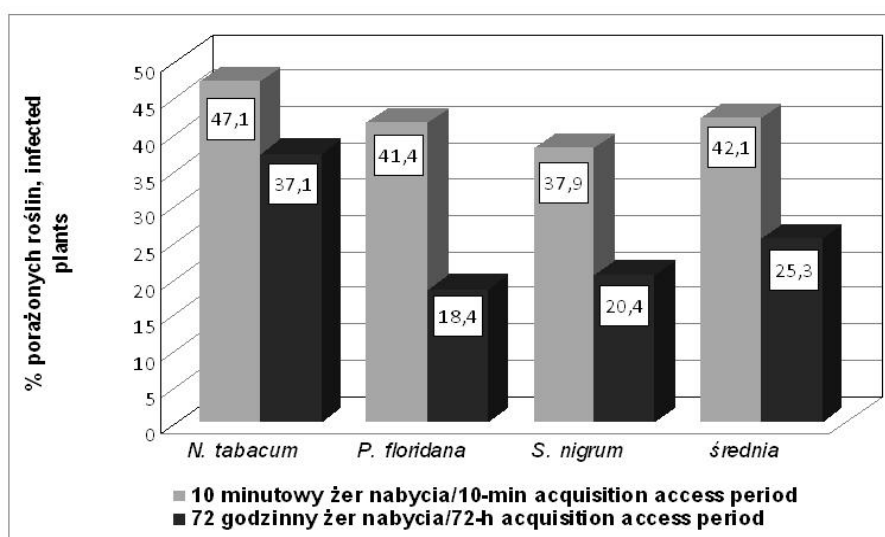
Rys. 1. Efektywność przenoszenia 12 izolatów PVY przez mszyce na *Nicotiana tabacum*, *Physalis floridana* i *Solanum nigrum* po 10 minutowym czasie żeru nabycia  
 Fig. 1. Efficiency of transmission to *Nicotiana tabacum*, *Physalis floridana* and *Solanum nigrum* of 12 PVY isolates acquired by aphids during 10 min acquisition access period



Rys.2. Efektywność przenoszenia 12 izolatów PVY przez mszyce na *Nicotiana tabacum*, *Physalis floridana* i *Solanum nigrum* po 72 godzinnym czasie żeru nabycia  
 Fig. 2. Efficiency of transmission to *Nicotiana tabacum*, *Physalis floridana* and *Solanum nigrum* of 12 PVY isolates acquired by aphids during 72-h acquisition access period

Różnice pomiędzy niektórymi izolatami były wysoce istotne statystycznie ( $P < 0,001$  lub  $P < 0,01$ ). Średnia dla trzech gatunków roślin efektywność przenoszenia przez mszyce izolatów zaklasyfikowanych do podgrup PVY<sup>NTN</sup> i PVY<sup>NW</sup> (odpowiednio, 46,4% i 50,1%) była istotnie wyższa ( $p < 0,001$ ), niż średnia efektywność przenoszenia izolatów standardowych reprezentujących szczepy PVY<sup>N</sup> (7%) i PVY<sup>O</sup> (25,4%).

Efektywność przenoszenia izolatów PVY przez *M. persicae* zależała od gatunku roślin testowych i od czasu trwania żeru nabycia wirusa (10 min. vs. 72 godz.) (rys. 3). Mszyce nabywające wirus podczas 10-minutowego dostępu do liści stanowiących źródło inokulum wirusa najefektywniej przenosiły izolaty PVY<sup>NTN</sup>47/96 (średnio 83,3%) i PVY<sup>NTN</sup>NZ (81,7%) oraz standardowy izolat PVY<sup>O</sup>Li (68,3%). Izolat PVY<sup>NTN</sup>47/96 przenoszony był z najwyższą efektywnością na *S. nigrum* (95%), a ze stosunkowo najniższą efektywnością — na *P. floridana* (70%). Natomiast izolat PVY<sup>NTN</sup>NZ mszyce najlepiej przenosiły na *N. tabacum* odm. Samsun (95%), a względnie najslabiej — znowu na *P. floridana* (70%). Z kolei najwyższa średnia efektywność przenoszenia wirusa nabywanego przez *M. persicae* podczas 72-godzinnej żeru nabycia cechowała izolaty PVY<sup>NW</sup>-Wi (51,7%), PVY<sup>NW</sup>-FrKV2 (46,7%) i PVY<sup>NTN</sup>Fr-Orl (36,7%), oraz — ponownie — izolat standardowy PVY<sup>O</sup>Li (50%) (rys. 2). Zaznaczył się bardzo istotny wpływ gatunku rośliny inokulowanej na efektywność przenoszenia wirusa. Na przykład, izolat PVY<sup>NW</sup>-Wi przenoszony był przez mszyce na *N. tabacum* z efektywnością 90%, natomiast na *P. floridana* i *S. nigrum* z efektywnością nie przekraczającą 35%.



Rys. 3. Średnia efektywność przenoszenia PVY przez mszyce na rośliny testowe po 10 minutowym i 72 godzinnym czasie żeru nabycia

Fig. 3. Mean efficiency of transmission to assay plants of PVY acquired by aphids during 10-min. vs. 72-h acquisition access period

Izolat PVY<sup>N605</sup> pochodzący ze Szwajcarii był bardzo słabo przenoszony przez *M. persicae* na rośliny wszystkich trzech gatunków roślin testowych, bez względu na czas trwania żeru nabycia wirusa (rys. 1–2). Izolat ten wykazywał w naszych badaniach bardzo zróżnicowaną zdolność przenoszenia przez *M. persicae*. W innym doświadczeniu (wyniki nie są prezentowane), PVY<sup>N605</sup> przenoszony był przez mszyce bardzo efektywnie. Natomiast wyniki przedstawione na rys. 1–2 są zgodne z wynikami uzyskanymi we Francji przez Rouzé-Jouan i wsp. (2004). W cytowanych badaniach słabo przenoszony przez *M. persicae* był również izolat PVY pochodzący z Nowej Zelandii. Być może, był to ten sam izolat (PVY<sup>NTN</sup>NZ), który w naszych badaniach charakteryzował się stabilną wysoką efektywnością przenoszenia przez mszyce nabywające wirus podczas krótkiego żeru nabycia (rys. 1). Różnica w efektywności przenoszenia izolatów PVY<sup>N605</sup> i PVY<sup>NTN</sup>NZ byłaby o tyle interesująca, że izolaty te cechuje znaczne podobieństwo genetyczne, na poziomie 99,3%, które mogłoby stanowić argument za zaklasyfikowaniem izolatu PVY<sup>N605</sup> do podgrupy PVY<sup>NTN</sup> (Glais i in., 2004). Duże podobieństwo w sekwencji nukleotydowej nie musi, jak widać, oznaczać podobnych właściwości biologicznych izolatów w obrębie jednej grupy/podgrupy PVY.

Izolat PVY<sup>NBo</sup>, użyty w badaniach jako izolat standardowy, przenoszony był przez *M. persicae* z niską efektywnością (rys. 1–2). Inny standardowy izolat, PVY<sup>O</sup>Epo, praktycznie w ogóle nie był przenoszony przez mszyce w zastosowanych warunkach doświadczalnych (jedna porażona roślina na 120 inokulowanych). Przedstawione wyniki wskazują na istotne zróżnicowanie efektywności przenoszenia przez *M. persicae* izolatów reprezentujących szczerp PVY<sup>O</sup> (np. PVY<sup>O</sup>Li vs. PVY<sup>O</sup>Epo). Nie można wykluczyć, że zdolność przenoszenia izolatów PVY przez mszyce mogła ulec osłabieniu na skutek wieloletniego utrzymywania ich w kolekcji z zastosowaniem pasażu wirusa z rośliny na roślinę wyłącznie metodą inokulacji mechanicznej. Trudno stwierdzić bez pogłębionych badań, czy wzmiankowane zjawisko może mieć odniesienie do izolatów użytych w badaniach, bowiem zarówno efektywnie przenoszony przez *M. persicae* izolat PVY<sup>O</sup>Li jak i słabo bądź w ogóle nie przenoszone izolaty PVY<sup>O</sup>Epo, PVY<sup>O</sup>LW i PVY<sup>O</sup>Wy zostały włączone do kolekcji wiele lat temu, przed 1974 r. (Chrzanowska, 1991).

Ogólnie wysoka zdolność *M. persicae*, potencjalnego wektora PVY, do przenoszenia wariantów PVY<sup>NTN</sup> i PVY<sup>NW</sup> nie stanowi zaskoczenia, jeśli uwzględni się fakt dynamicznego rozprzestrzeniania się tych wariantów, w szczególności PVY<sup>NTN</sup>, w uprawach ziemniaka. Wzrastający niemal z roku na rok poziom infekcji wariantów PVY<sup>NTN</sup> i PVY<sup>NW</sup> odnotowano m. in. w Holandii (Van der Vlugt i in., 2007), Czechach i Słowacji (Dedic i in., 2007), w Niemczech (Lindner, 2007), Kanadzie (Xu, 2007) i Brazylii (Souza-Dias i in., 2007).

Zaznaczył się wyraźny wpływ gatunku roślin testowych na zakres porażenia przez PVY. Analiza średniej dla wszystkich izolatów efektywności przenoszenia wirusa wykazała, że w doświadczeniu z 10-minutowym żerem nabycia rośliny *N. tabacum* uległy porażeniu w większym zakresie (47,1%), niż *P. floridana* (41,4%) i *S. nigrum* (37,9%). Różnice okazały się jednak statystycznie nieistotne. Również w doświadczeniu z długim okresem żeru nabycia (72 godz.), PVY poraził więcej roślin *N. tabacum* (37,1%), niż roślin *P. floridana* (18,4%) lub *S. nigrum* (20,4%), a różnice były wysoce istotne ( $p < 0,001$ ).

W badaniach nad podatnością na infekcję PVY roślin dziko żyjących, w tym powszechnie spotykanych chwastów, inokulowano łącznie przy użyciu *M. persicae* 3712 roślin, a mechanicznie 802 rośliny 21 gatunków (tab. 1).

Tabela 1

**Porażenie przez PVY roślin gatunków dziko żyjących po inokulacji przy użyciu mszyc w warunkach eksperymentalnych i w wyniku infekcji naturalnej**

**Experimental and natural infection with PVY of wild living plant species**

Nazwa gatunkowa Plant species		Cykl życiowy* Life cycle*	Podatność na PVY** Infecti- bility by PVY*	Inokulacja w warunkach eksperymentalnych Inoculation under experimental conditions		Infekcja naturalna Natural infection	
łacińska scientific name	polska polish name			mszyce aphids	sok sap	testowane tested	porażone infected
<i>Amaranthus retroflexus</i>	szarłat szorstki	jednoroczne	-	0/140 (1)***	0/27 (1)***		
<i>Achillea millefolium</i>	krwawnik pospolity	wieloletnie	?	0/75 (1)	0/25 (1)		
<i>Artemisia vulgaris</i>	bylica pospolita	wieloletnie	-	0/110 (2)	0/25 (1)		
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	tasznik pospolity	jednoroczne	+	0/145 (2)	0/45 (2)		
<i>Chenopodium album</i>	komosa biała	jednoroczne	+	12/215 (2)	4/25 (1)	16	1
<i>Cichorium intybus</i>	cykoria podróżnik	wieloletnie	+	0/75 (1)	0/25 (1)		
<i>Conyza canadensis</i>	przymiotno kanadyjskie	jednoroczne	+	0/75 (1)	0/10 (1)		
<i>Erodium cicutarium</i>	iglica pospolita	jedno/wieloletnie	-	79/542 (8)	2/111 (3)	110	2
<i>Galinsoga parviflora</i>	żółtlica drobnokwiatowa	jednoroczne	?	0/150 (1)	0/25 (1)		
<i>Galium aparine</i>	przytulia czepna	jednoroczne	-	0/75 (1)	0/12 (1)		
<i>Geranium pusillum</i>	bodziszek drobny	jedno/dwuletnie	-	30/318 (5)	4/35 (1)	98	3
<i>Lactuca serriola</i>	sałata kompasowa	jedno/dwuletnie	+	59/235 (4)	5/45 (2)	16	2
<i>Lamium purpureum</i>	jasnota purpurowa	jednoroczne	-	205/445 (7)	19/115 (3)	46	4
<i>Melandrium album</i>	bniec biały	jedno/dwu/wieloletnie	-	0/40 (1)	0/10 (1)		
<i>Plantago lanceolata</i>	babka lancetowata	wieloletnie	+	0/25 (1)	0/10 (1)		
<i>Plantago major</i>	babka zwyczajna	wieloletnie	-	0/110 (2)	0/25 (1)		
<i>Solanum dulcamara</i>	psianka słodkogórz	wieloletnie	+	0/124 (2)	0/62 (2)		
<i>Solanum nigrum</i>	psianka czarna	jednoroczne	+	196/553 (2)	133/140 (1)		
<i>Solidago canadensis</i>	nawłoc kanadyjska	wieloletnie	?	0/75 (1)	0/10 (1)		
<i>Taraxacum officinale</i>	mniszek pospolity	wieloletnie	+	0/75 (1)	0/10 (1)		
<i>Tripleurospermum inodorum</i>	maruna bezwonna	jednoroczne	?	0/110 (2)	0/10 (1)		

\*Jednoroczne — Annual; Dwuletnie — Biennial; Wieloletnie — Perennial

\*\*Na podstawie danych literaturowych; symbole oznaczają: „+” stwierdzona podatność na infekcję PVY, „-” stwierdzony brak podatności na infekcję PVY, „?” brak informacji na temat podatności na PVY. Based on the compiled reported data; symbols mean as follows: „+” plant species reported as infectible by PVY, „-” species reported as not infectible by PVY, „?” no information on susceptibility to PVY

\*\*\*Rośliny porażone/inokulowane : w nawiasie podana jest liczba prób doświadczalnych; Plants infected/inoculated; number of transmission tests is given in parentheses

Nie uzyskano wyników pozwalających potwierdzić podatność na PVY gatunków *Capsella bursa-pastoris* (Fletcher, 2001), *Cichorium intybus* (Chatzivassiliou i in., 2004) i *S. dulcamara* (Kerlan, 2006). Pozytywne wyniki testu ELISA, wskazujące na obecność PVY w badanych próbach, odnotowano natomiast w przypadku sześciu innych gatunków: *Chenopodium album*, *Solanum nigrum*, *Lactuca serriola* (= *L. scariola*), *Geranium*



*pusillum*, *Erodium cicutarium* i *Lamium purpureum*. Rośliny *C. album* i *S. nigrum* rozwinęły wyraźne objawy infekcji PVY. Zarówno *C. album* jak i *S. nigrum* są od dawna znanymi gospodarzami PVY (Shukla, 1994), a *L. serriola* została niedawno zidentyfikowana jako naturalny gospodarz PVY w Grecji (Chatzivassiliou i in., 2004). Nie stwierdzono widocznych objawów porażenia PVY na roślinach *L. serriola*, *G. pusillum*, *E. cicutarium* i *L. purpureum*, z których próby dały pozytywne wyniki w teście ELISA. Obecność PVY w roślinach wymienionych czterech gatunków chwastów została potwierdzona wynikami testów biologicznych z użyciem roślin *N. tabacum* odm. Samsun.

Dla dalszego potwierdzenia obecności wirusa w próbkach roślin *L. serriola*, *G. pusillum*, *E. cicutarium* i *L. purpureum* zastosowano diagnostykę molekularną z wykorzystaniem techniki IC-RT-PCR. Oczekiwany wynikiem testu był produkt amplifikacji o wielkości ok. 820pz. Spośród próbek zebranych bezpośrednio z roślin wspomnianych czterech gatunków, tylko w przypadku *L. serriola* i *E. cicutarium* uzyskano produkt dowodzący obecności PVY. Natomiast obecność PVY w roślinach *G. pusillum* i *L. purpureum* potwierdzono metodą pośrednią, w której IC-RT-PCR wykonano na próbach z roślin *N. tabacum* zakażonych sokiem z podejrzanych o infekcję PVY roślin *L. purpureum* i *G. pusillum* (test biologiczny).

Ponadto, przy użyciu testu DAS-ELISA i testu biologicznego poddano ocenie na obecność PVY łącznie 286 roślin *E. cicutarium*, *G. pusillum*, *L. purpureum*, *L. serriola* i *C. album*, rosnących w sąsiedztwie pól ziemniaka w Młochowie. Obecność PVY stwierdzono łącznie w 12 roślinach (tab. 1).

Gatunki *G. pusillum*, *E. cicutarium* i *L. purpureum* nie były dotychczas znane ani jako naturalni, ani jako eksperymentalni gospodarze PVY, co zostało stwierdzone na podstawie analizy dostępnych danych literaturowych (Brunt i in., 1996; Chatzivassiliou i in., 2004; Edwardson i Christie, 1997; Fletcher, 2001; Kazinczi i in., 2004; Kerlan, 2006; Shukla i in., 1994; Zitter, 2001).

#### WNIOSKI

1. Stwierdzono, że efektywność przenoszenia PVY przez *M. persicae* może w istotny sposób zależeć od izolatu wirusa oraz gatunku rośliny-gospodarza.
2. Izolaty reprezentujące podgrupy PVY<sup>NTN</sup> i PVY<sup>NW</sup> były przenoszone przez *M. persicae* efektywniej niż standardowe izolaty PVY<sup>N</sup> i PVY<sup>O</sup>.
3. Tytoń odm. Samsun okazał się podatniejszy niż *Physalis floridana* i użyta w badaniach linia *Solanum nigrum* na porażenie PVY przenoszonym przez *M. persicae*.
4. PVY może być efektywnie przenoszony przez *M. persicae* nawet po kilkudniowym okresie żerowania mszyc na roślinach źródłowych.
5. Zidentyfikowano wśród roślin dziko żyjących trzech nowych, naturalnych gospodarzy PVY. Są to: bodzisek drobny i iglica pospolita (Bodziskowate) oraz jasnota purpurowa (Jasnotowate). Potwierdzono ponadto doniesienie z Grecji (Chatzivassiliou et al., 2004), że sałata kompasowa (Astrowate) jest naturalnym gospodarzem PVY.

## LITERATURA

- Alvarez J. M., Srinivasan R., Cervantes F., Eigenbrode S., Bosque-Perez N., Hutchinson P., Pantoja A. 2007. Importance of alternative plant hosts in the epidemiology of PLRV and PVY. Abstracts from the 13<sup>th</sup> EAPR Virology Section Meeting, Scotland, 18–21 June, 42.
- Beczner L., Horváth J., Romhányi I., Förster H. 1984. Studies on the etiology of tuber necrotic ringspot disease in potato. *Potato Res.* 27: 339 — 352.
- Bradley R. H. E. 1954. Studies on the mechanism of transmission of potato virus Y by the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulz.) (*Homoptera: Aphididae*). *Can. J. Entomol.* 32: 64 — 73.
- Brunt A. A., Crabtree K., Dallwitz M. J., Gibbs A. J., Watson L., Zurcher E. J. 1996. 20 August. Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Retrieved from <http://image.fs.uidaho.edu/viderefs.htm>
- Chatzivassiliou E.K., Efthimiou K., Drossos E., Papadopoulou A., Poimenidis G., Katis N. I. 2004. A survey of tobacco viruses in tobacco crops and native flora in Greece. *Eur. J. Plant Pathol.* 110: 1011 — 1023.
- Chrzanowska M. 1991. New isolates of the necrotic strain of potato virus Y (PVY<sup>N</sup>) found recently in Poland. *Potato Res.* 34: 179 — 182.
- Chrzanowska M. 1994. Differentiation of potato virus Y (PVY) isolates. *Phytopath. Polonica* 8: 15 — 20.
- Chrzanowska M., Doroszevska T., Zagórska H. 2002. Zróżnicowanie izolatów wirusa Y ziemniaka w zależności od kryterium oceny. *Acta Agrobot.* 55: 59 — 67.
- Dedic P., Ptacek J., Cerovska N. 2007. A shift of PVY strain spectrum on potatoes in CR in the course of past years. Abstracts from the 13<sup>th</sup> EAPR Virology Section Meeting, Scotland, 18 — 21 June, 59.
- Edwardson J. R., Christie R. G. 1997. Viruses infecting peppers and other *Solanaceous* crops. (Monograph 18 — I and II). FL: University of Florida Press, Gainesville.
- Fletcher J. D. 2001. New hosts of *Alfalfa mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Potato virus Y*, *Soybean dwarf virus*, and *Tomato spotted wilt virus* in New Zealand. *New Zealand J. Crop Hortic. Sci.* 29: 213 — 217.
- Glais L., Tribodet M., Kerlan C. 2002. Genomic variability in Potato potyvirus Y (PVY): evidence that PVY<sup>NW</sup> and PVY<sup>NTN</sup> variants are single to multiple recombinants between PVY<sup>O</sup> and PVY<sup>N</sup> isolates. *Arch. Virol.* 147: 363 — 378.
- Glais L., Colombel A.S., Tribodet M., Kerlan C. 2004. PVY<sup>N</sup> 605, the reference PVY<sup>N</sup> isolate, displays a PVY<sup>NTN</sup> non-recombinant genome. Abstracts from the 12<sup>th</sup> EAPR Virology Section Meeting, Rennes, France, 13-19 June, 50.
- Kanavaki O. M., Margaritopoulos J. T., Katis N.I., Skouras P., Tsitsipis J. A. 2006. Transmission of potato virus Y in tobacco plants by *Myzus persicae nicotianae* and *M. persicae*. *Plant Dis.* 90: 777 — 782.
- Kazinczi G., Horvath J., Takacs A.P., Gaborjanyi R., Beres I. 2004. Experimental and natural weed host-virus relations. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 69: 53 — 60.
- Kerlan C., Tribodet M., Glais L., Guillet M. 1999. Variability of potato virus Y in potato crops in France. *J. Phytopathol.* 147: 643 — 651.
- Kerlan C. 2006. October. *Potato virus Y*. Descriptions of Plant Viruses, no. 414. Retrieved from <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=414>
- Le Romancer M., Kerlan C., Nedellec M. 1994. Biological characterization of various geographical isolates of potato virus Y inducing superficial necrosis on potato tubers. *Plant Pathol.* 43: 138 — 144.
- Lindner K. 2007. PVY strains in Germany — the period between 1984 and 2006. Abstracts from the 13<sup>th</sup> EAPR Virology Section Meeting, Scotland, 18–21 June, 65.
- McDonald J. G., Singh R.P. 1996. Host range, symptomology and serology of isolates of potato virus Y (PVY) that share properties with both the PVY<sup>N</sup> and PVY<sup>O</sup> strain groups. *Am. Potato J.* 73: 309 — 315.
- Ng J. C. K., Falk B. W. 2006. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44: 183 — 212.
- Nie X., Singh R. P. 2001. Possible evolution of tuber ringspot necrosis strains (PVY<sup>NTN</sup>) from the regional tobacco vein necrosis (PVY<sup>N</sup>) strains. Abstracts from the 11<sup>th</sup> EAPR Virology Section Meeting, Havlíčkův Brod-Trest, Czech Republic: 4 — 6.
- Radcliffe E. B., Ragsdale D. W. 2002. Aphid-transmitted potato viruses: the importance of understanding vector biology. *Amer. J. Potato Res.* 79: 353 — 386.

- Rouze-Jouan J., Glais L., Crocq G., Gauthier J. P., Kerlan C. 2004. Study of aphid transmissibility of a set of isolates of *Potato virus Y* strain PVY<sup>C</sup>. Abstracts from the 12<sup>th</sup> EAPR Virology Section Meeting, Rennes, France, 13–19 June, 22.
- Schubert J., Fomitcheva V., Sztangret-Wiśniewska J. 2007. Differentiation of *Potato virus Y* strains using improved sets of diagnostic PCR-primers. *J. Virol. Methods*, 140: 66 — 74.
- Shukla D. D., Ward C.W., Brunt A. A. 1994. *The Potyviridae*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sigvald R. 1984. The relative efficiency of some aphid species as vectors of potato virus Y. *Potato Res.* 27: 285 — 290.
- Souza-Dias J. A. C de., Sawazaki H. E., Miranda Filho H. S. 2007. PVYNTN in Brazil: Occurrence, impact and characterization. Abstracts from the 13<sup>th</sup> EAPR Virology Section Meeting, Scotland, 18–21 June, 32.
- Weidemann H. L., Maiss E. 1996. Detection of the potato tuber necrotic ringspot strain of potato virus Y (PVY<sup>NTN</sup>) by reverse transcription and immunocapture polymerase chain reaction. *J. Plant Dis. Prot.*, 103: 337 — 345.
- Xu H. 2007. Status of potato viruses in Canada. Abstracts from the 13<sup>th</sup> EAPR Virology Section Meeting, Scotland, 18–21 June: 74.
- Zitter T. A. 2001. Vegetable MD Online. Vegetable Crops: A checklist of major weeds and crops as natural hosts for plant viruses in the Northeast. Version: November. 2001. <http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/Tables/WeedHostTable.html>.