

## WYKRYWALNOŚĆ WIRUSA A ZIEMNIAKA NA NIEKTÓRYCH ROŚLINACH TESTOWYCH

Urszula Kaczmarek, Katarzyna Zaklukiewicz

Instytut Ziemniaka, Bonin

### WSTĘP

Występowanie wirusa A ziemniaka (potato virus A = PVA) było notowane na terenie Polski [1, 22, 23], w Czechosłowacji [15, 16] oraz w krajach Europy zachodniej [14, 18, 19]. Wirus A ziemniaka ma właściwości antygenowe, jednak ze względu na dość niską koncentrację cząsteczek wirusa w roślinach ziemniaka wykrywanie go przy pomocy surowicy nie daje wyników [13, 18]. Aby wykryć obecność PVA należy mieć odpowiednie rośliny testowe.

Literatura podaje kilka gatunków roślin testowych do wykrywania i rozpoznania PVA. Lachlan i in. [12], McLeod [13], Horváth [7] podają, że rośliny *Lycopersicum pimpinellifolium* (Jusl) Mill. i *Nicandra physaloides* Gaertn. są dobrymi roślinami rozpoznawczymi dla PVA. Roślina *Lycopersicum pimpinellifolium* reaguje na PVA systemicznymi objawami w postaci nekrotycznych plamek i epinastii liści. McLeod dodaje równocześnie, że roślina ta służy do identyfikacji wirusa A zwłaszcza wtedy, gdy znajduje się w kompleksie z wirusami X i Y. *Nicandra physaloides* według tych autorów reaguje na zakażenie PVA w 8 dni po inokulacji rozjaśnieniem nerwów, mozaiką, deformacją liści lub ostrymi nekrozami w zależności od szczepu wirusa. Obecnie do wykrywania PVA w badaniach masowych są używane odcięte liście następujących gatunków roślin: hybryd A6, *Solanum demissum* A Cock. i *Solanum demissum* A 7/10 [2, 4, 6, 10, 11, 16, 20, 21]. Najlepsze wyniki w wykrywaniu wirusa A na odciętych liściach A6 otrzymano przy zastosowaniu inokulacji „cygarem” [4, 14]. De Bokx [5] badając wpływ temperatur na rozwój nekrotycznych plam na liściach A6 po inokulacji wirusem A stwierdził, że przy temperaturze 15-18° pojawiły się drobne nekrotyczne plamy, natomiast duże plamy rozwijały się przy temperaturze 20-25°, a przy

28° — plamy się nie pojawiły. Największa liczba nekrotycznych plam wystąpiła na liściach A6 podczas inkubacji w temperaturze 15-20°C. Nohejl, Dedić [15] porównując wykrywalność wirusa A na listkach hybrydu A6 i *Solanum demissum* A 7/10 stwierdzili więcej pozytywnych reakcji na *S. demissum* A 7/10.

W Instytucie Ziemniaka w Boninie podjęto badania w celu wybrania dla naszych warunków dobrej rośliny wskaźnikowej i odpowiedniej metody inokulacji do wykrywania PVA w roślinach ziemniaka oraz wyjaśnienia pewnych dyskusyjnych danych z literatury, dotyczących wykrywania tego wirusa przy pomocy roślin testowych.

#### MATERIAŁ I METODA

Materiałem do badań były następujące izolaty wirusa A wyosobnione z odmian ziemniaka: Allerfrüheste Gelbe (AFG), Julinier (Jul), Lichte Industrie (LI), Saucisse Rouge (SR), które otrzymano w odmianie Eigenheimer od de Bokxa z Holandii oraz izolat z odmiany Sabina. Do badań użyto również kompleksy wirusów ziemniaka w następujących kombinacjach: A+X+Y, A+X, A+Y. W skład kompleksów wirusowych wchodziły dwa izolaty PVA — SR i AFG — tworząc oddzielne kompleksy z wirusami X i Y. Izolat wyosobniono z odmiany Lenino a izolat PVY — z odmiany Wyszoborskie. Kontrolą dla tych badań były czyste izolaty PVX i PVY. Wszystkie materiały źródłowe wirusów przebadano pod względem czystości izolatów danych wirusów: biologicznie na A6 i serologicznie na obecność wirusów ziemniaka X, S, M i Y.

Następnie izolaty PVA, PVX, PVY i kompleksy tych wirusów pasażowano przez rośliny tytoniu *Nicotiana tabacum* v. Samsun, z których pobierano sok do zakażeń roślin testowych: *L. pimpinellifolium*, *L. chilense* Dun. i *Nicandra physaloides*. Badania wykonano w 3 powtórzeniach po 15 roślin *L. pimpinellifolium* i *N. tabacum* v. Samsun oraz po 4 rośliny *L. Chilense* i *N. physaloides*. Do badań użyto również liści odciętych roślin: hybryd A6, *S. demissum* A Cock. i *S. demissum* A 7/10 (nasiona ostatniego gatunku rośliny otrzymaliśmy z Havičkovego Brodu z Czechosłowacji). Liście (odcięte) tych roślin zostały zakażone tylko izolatami PVA.

Użyto roślin testowych w stadium 3-5 liści, które inokulowano sokiem chorych roślin tytoniu przez potarcie palcem. Wszystkie badane rośliny przed inokulacją opylano karborundem, a po inokulacji splukiwano wodą wodociągową. Kontrolę reakcji wszystkich roślin testowych na badane izolaty wirusów ziemniaka były rośliny „inokulowane” czystą wodą. Z roślin testowych, które w 21 dni po inokulacji izolatami PVA nie dały żadnych objawów chorobowych wykonywano reizolacje na liście odcięte A6 i *S. demissum* A 7/10.

Badania przeprowadzono w warunkach szklarniowych w Boninie w

okresie wiosna — jesień 1973/74, przy zastosowaniu sztucznego doświetlenia o sile światła 4 tys. luks. Temperatura w szklarni wahała się w ciągu dnia w granicy 18-24°, w nocy 13-16°, a wilgotność powietrza wynosiła około 75% wilgotności względnej.

W badaniu reakcji liści odciętych na pięć izolatów wirusa A zastosowano trzy sposoby inokulacji:

- 1) surowym wyciśniętym sokiem — przy użyciu łopatkki szklanej,
- 2) sokiem zmieszonym z buforem fosforanowym pH 7,6 i M 0,01 w stosunku 1 : 1; przy użyciu łopatkki szklanej.
- 3) inokulacja sucha — przy użyciu liści zwiniętych w cygaro.

Inkubacja testów liściowych odbywała się w temperaturze 20°, przy oświetleniu ciągłym około 1 500 luks i 100% wilgotności względnej. Testy liściowe wykonano w dwóch powtórzeniach, po 10 prób każde. W opracowaniu statystycznym zastosowano metodę analizy wariancji. Dane, tj. liczby plam nekrotycznych transformowano stosując przekształcenia podane przez Kleczkowskiego [8]. W tabelach podano liczby retransformowane.

#### WYNIKI

Zestawienie wyników badań wykrywalności PVA na roślinach testowych zamieszczono w tabeli 1, posługując się międzynarodowym kodem symboli wg Klinkowskiego [9] i Horvátha [7] w modyfikacji CORESTA\* [3].

Na roślinach *L. pimpinellifolium*, *L. chilense* i *N. physaloides*, zakażonych wszystkimi izolatami wirusa A we wszystkich trzech powtórzeniach nawet po 21 dniach od inokulacji nie zaobserwowano żadnych objawów chorobowych. Natomiast na roślinach *N. tabacum* Samsun zaobserwowano objawy rozjaśnienia nerwów blaszek liściowych. Rośliny *L. pimpinellifolium* (rys. 1), *L. chilense* (rys. 2) i *N. physaloides* (rys. 3) na zakażenie kompleksami wirusów A+X+Y, A+X, A+Y zareagowały mozaiką, systemicznymi objawami nekrotycznych plamek i deformacji liści o różnym stopniu intensywności.

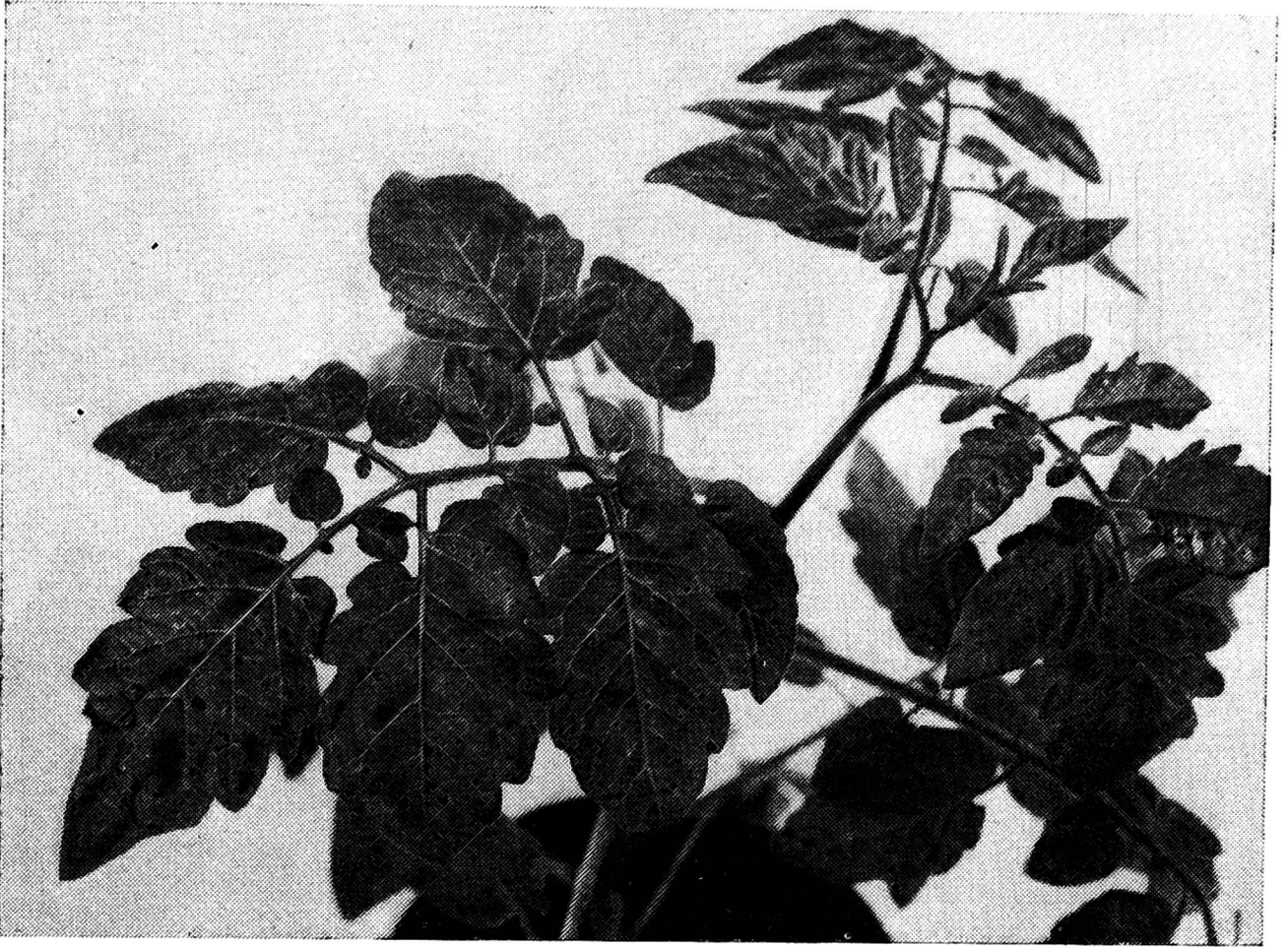
Rośliny tytoniu inokulowano kompleksami wirusów A+X+Y i A+Y dały intensywne objawy rozjaśnienia nerwów i nekrozy nerwów, a kompleks A+X wywołał samo rozjaśnienie nerwów.

Na podstawie obserwacji roślin *L. pimpinellifolium* zakażonych wirusami ziemniaka X i Y stwierdzono, że wirusy te wywołują objawy mozaiki i sporadyczne występowanie drobnych nekroz. Rośliny *L. chilense* pod wpływem zakażenia PVX i PVY dały objawy mozaiki. Rośliny *N. physaloides* na zakażenie PVX zareagowały objawami mozaiki a przy zakażeniu PVY nie zaobserwowano żadnych objawów chorobowych (tab. 1).

Rośliny tytoniu zakażone PVX objawami mozaiki, a przy zakażeniu

\* Centre de Cooperation pour les Recherches Scientifiques Relatives au Tabac.

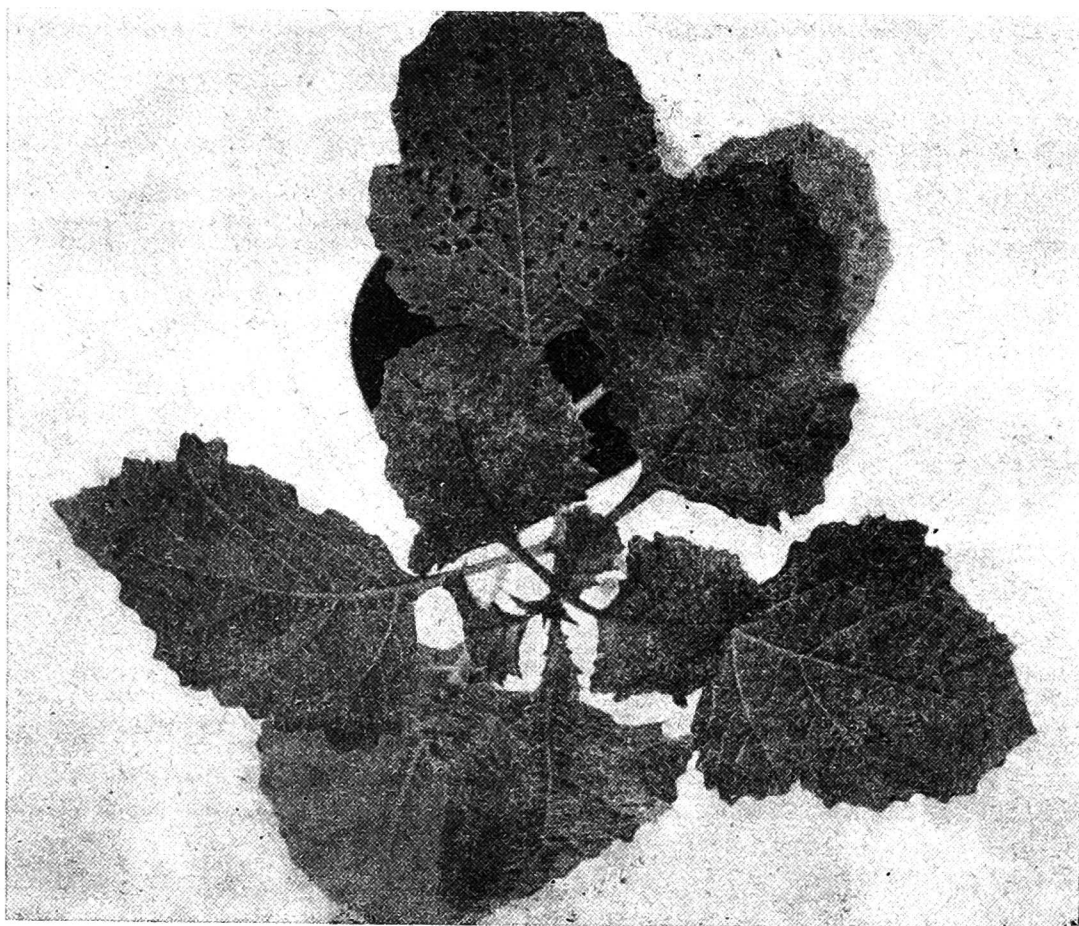




Rys. 1. *Lycopersicum pimpinellifolium* — systemiczne nekrozy wywołane kompleksem wirusów A, X i Y w 13 dni po inokulacji (fot. K. Dąbrowski)



Rys. 2. *Lycopersicum chilense* — systemiczne nekrozy i deformacje liści wywołane kompleksem wirusów A, X i Y w 12 dni po inokulacji (fot. K. Dąbrowski)



Rys. 3. *Nicandra physaloides* — systemiczne nekrozy, przejaśnienia nerwów i deformacje liści wywołane kompleksem wirusów A, X i Y w 9 dni po inokulacji (fot. K. Dąbrowski)

PVY — objawy systemicznego rozjaśnienia nerwów. Rośliny testowe w kontroli „inokulowane” wodą nie wykazały objawów chorobowych.

W wyniku przeprowadzonej reizolacji z roślin *L. pimpinellifolium*, *L. chilense* i *N. physaloides*, które nie zareagowały żadnymi objawami chorobowymi pod wpływem zakażenia izolatami PVA, stwierdzono obecność tego wirusa we wszystkich tych roślinach.

Badając wykrywalność pięciu izolatów wirusa A na liściach odciętych stwierdzono, że dobrze reagującą rośliną testową dla PVA jest *Solanum demissum* A 7/10 a także hybryd A6 (tab. 2). Roślina *S. demissum* A Cock. okazała się najmniej przydatną rośliną do wykrywania PVA (rys. 4). Liczba plam na *S. demissum* A Cock. była istotnie mniejsza niż na pozostałych roślinach testowych. Jeśli chodzi o zastosowane sposoby inokulacji, to zgodnie z literaturą metoda suchej inokulacji okazała się najlepszą do wykrywania PVA na liściach odciętych użytych roślin testowych. Nie stwierdzono istotnych różnic w przypadku użycia różnych izolatów wirusa A. Ponadto nie wykazano żadnego współdziałania między metodami zakażenia, izolatami wirusa i roślinami testowanymi (tab. 2).

#### DYSKUSJA

Roślina *L. pimpinellifolium* uważana była przez niektórych autorów [7, 12] za dobrą rośliną wskaźnikową dla PVA, ponieważ nie stwierdzono



Rys. 4. Porównanie reakcji liści odciętych roślin hybrydu A6 (a), *Solanum demissum* Y+A Lindl. (b) *Solanum demissum* A Cock. (c) i *Solanum demissum* A 7/10 (d) na wirusy A (I) i Y (II) ziemniaka fot. K. Dąbrowski)

Tabela 2

Średnia liczba nekrotycznych plam na odciętych liściach roślin testowych: *Solanum demissum* A Cock., *Solanum demissum* A 7/10 i hybrydy A6 inokulowanych 5-cioma izolatami wirusa PVA.

Metody	<i>Solanum demissum</i> A Cock.	<i>Solanum demissum</i> A 7/10	Hybryd A6	Średnie
Sucha inokulacja	11,0	25,0	24,0	19,0
Sok	2,0	8,0	3,8	4,0
Sok+bufor	1,2	7,0	4,5	3,6
Średnie	3,6	11,5	8,2	

występowania na niej jakichkolwiek objawów chorobowych wywołanych przez wirus X czy Y. Jest to niezgodne z wynikami naszych doświadczeń jednocześnie należy nadmienić, że McLeod [13] uzyskał objawy chorobowe dla PVA na tej roślinie w obecności wirusów ziemniaka X i Y.

Przydatność *Nicandra physaloides* uważanej również za dobrą roślinę testową dla PVA, a zwłaszcza dla rozróżniania jego szczepów [7, 12, 13]

nie została potwierdzona w naszych badaniach. Horváth [7] podaje również, że roślina ta reaguje na pewne szczepy wirusa Y objawami mozaiki i nekrozami. Reakcja roślin *L. chilense* na zakażenie PVX i PVY w postaci mozaiki jest zgodna z literaturą [17].

Wyniki naszych obserwacji dotyczących wykrywania PVA na liściach odciętych roślin *Solanum demissum* A Cock., *Solanum demissum* A 7/10 i hybrydu A6 oraz zastosowanych sposobów inokulacji nie odbiegają od danych z literatury [4, 6, 14-16, 18, 20].

#### WNIOSKI

1. Rośliny *L. pimpinellifolium*, *L. chilense* i *Nicandra physaloides* nie są odpowiednimi roślinami testowymi do wykrywania PVA przede wszystkim dlatego, że po zakażeniu czystymi izolatami wirusa A nie zaobserwowaliśmy żadnych objawów chorobowych na tych roślinach.

2. Wymienione gatunki roślin dopiero po zakażeniu kompleksami wirusów ziemniaka A, X i Y zareagowały objawami chorobowymi w postaci mozaik, nekroz i deformacji liści, które zostały opisane w literaturze jako objawy wirusa A [7, 12, 13] [rys. 1, 2, 3].

3. Jako rośliny rozpoznawcze odpowiednie do wykrywania wirusa A należy wymienić *Solanum demissum* A 7/10 i hybryd A6, który jak wiadomo charakteryzuje się dużym przyrostem masy liściowej i długim okresem eksploatacji (rys. 5).



Rys. 5. Rośliny A6 rosnące na podłożu torfowym na parapecie (lato-jesień) — fot. K. Dąbrowski



4. Najlepszą wykrywalność wirusa A na liściach odciętych badanych roślin testowych uzyskano przy ich zakażeniu metodą suchej inokulacji, niezależnie od użytych izolatów wirusa.

*Autorzy składają podziękowania dr J. A. De Bokx za przesłane izolaty PVA oraz pani M. Szulc za dużą pomoc w pracach laboratoryjnych.*

## LITERATURA

1. Balul W.: Wirus A na ziemniakach. Praca magisterska wykonana w Zakładzie Fitopatologii SGGW, Post. Nauk rol., 1959, z. 3 (57), s. 39-51
2. Bartels R.: Symptomausbildung von Viren der Kartoffel — Y — Gruppe auf A6 — Blättern. Potato Res. 1970, z. 13, s. 119-128
3. Berger P: Coresta: Ergebnisse des 4 internationalen Gemeinschaftsversuches über Virosen des Tabaks. Sonderdr. Ber. Inst. Tab. Forsch., 1969, t. 16, s. 34
4. Bokx J. A. de, Ghaffari H.: Detection of potato viruses X, Y and A by rubbing infectious foliage onto A6 — test leaves. Proc. 6-th Conf. Czech, Pl. Virol. 1967, s. 303-308
5. Bokx J. A. de.: Effect of temperature on the development of local lesions on „A6” leaves inoculation with potato virus A. Potato Res. 1970, z. 13, s. 167-171
6. Cockerham G.: Experimental breeding in relation to virus resistance. Proc. Int. Conf. Pot. Vir. Dis. 1958, s. 199-203
7. Horváth J.: Ergebnisse der Identifizierung von mechanisch übertragbaren Kartoffelviren an Testpflanzen, mit besonderer Rücksicht auf Vergleichsuntersuchungen. Acta agron. Acad. Scient. Hung., 1964, t. 13, z. 1-2, s. 101-138
8. Kleczkowski A.: The statistical analysis of plant virus assays: a transformation to include lesion numbers with small means. J. gen. Microbiol. 1955 z. 13, s. 91-98
9. Klinkowski M.: Choroby wirusowe roślin, Warszawa 1964
10. Köhler E.: *Solanum demissum* Lindl. als mögliche Testpflanze des A — Virus der Kartoffel. Nachrbl. dt. Pfl. -Schutzdienst., 1942, t. 22, s. 77-78
11. Köhler E., Pauksens J.: *Solanum demissum* Lindl. als Testpflanze verschiedener Mosaikviren. Züchter, 1944, t. 16, z. 1/3, s. 8-11
12. Lachlan D. S., Larson R. H., Walker J. C.: Strain interrelationships in potato virus A. Research Bull. 180. Science, Univ, Wisc., 1953
13. Leod D. Mac.: Mosaic and streak virus of the potato. Res. Branch Can. Dep. Agric., 1962, Publ. 1150, s. 1-80
14. Münster J., Cornu P.: Amélioration des procédés de transmission sur plantes — épreuves pour testage des virus A, X et Y chez la pomme de terre Agric. rom., 1966, z. 79/9, s. 90-92
15. Nohejl J., Dědič P.: The suitability of different procedures employed in the diagnosis of the A virus of potatoes. Ochr. Rost., 1973, t. 9, z. 1, s. 37-44
16. Nohejl J.: Možnosti urychlení seriové diagnózy viru bramboru A a Y na hybridu A6. Véd. Pr. 1973, z. 5, s. 41-50
17. Ross H.: *Lycopersicon chilense* Dun., eine Testpflanze für beiden Kartoffelviren M und S. Eur. Potato J. 1968, t. 11, z. 4, s. 213-300
18. Simnema A.: Potato virus A in field inspection and A6 — Test Ref. na Konf. EAPR w Norwich 1972

19. Sommereyns G.: Des méthodes de transmission et d'identification du virus A de la pomme de terre. Rev. appl. Mycol., 1960, z. 39(6), s. 337
20. Spire D., Quemener J., Bertrand J.: Essais de détection des virus Y et A de la pomme de terre par indexage sur *Solanum demissum* A6. La pomme de terre, 1968, z. 325, s. 18-25
21. Webb R. E., Buck R. W.: A diagnostic host for potato virus A. Am. Potato J., 1955, t. 32, z. 7, s. 248-252
22. Zaklukiewicz K., Obuchowska-Duś B.: Wstępne badania nad występowaniem wirusa A w niektórych odmianach ziemniaka. Z Prac Inst. Ziemn., 1970, z. 1, s. 10-14
23. Zaklukiewicz K., Kaczmarek U.: Z badań nad występowaniem wirusa A w odmianach ziemniaka. Z Prac Inst. Ziemn., 1974 z. 6, s. 8-12

Уршуля Качмарек, Катажина Заклюкевич

## ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ А ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ НА НЕКОТОРЫХ ТЕСТИРОВАННЫХ РАСТЕНИЯХ

### Резюме

Исследования проводились в Институте картофелеводства, в период весны — осени 1973-1974 г. Это были лабораторно-тепличные исследования. В качестве тест-растений использовано: *Lycopersicum pimpinellifolium* (Jusl.) Mill., *L. chilense* Dun., *Nicandra physaloides* Gaertn., *Nicotiana tabacum* Samsun L., листья срезанных растений *Solanum demissum* A 7/10, *Solanum demissum* A Cock. и гибрида А6. Эти растения заражались пятью изолятами PVA и комплексами PVA, PVX и PVY. Применялись методы инокуляции соком из больных растений табака, соком смешанным с фосфатным буфером pH 7,6. М 0,01 и сухая инокуляция — листья скрученные в сигару. Пригодность растений *L. pimpinellifolium* и *N. physaloides* признаваемых до сего времени хорошими индикаторными растениями для обнаружения А вируса картофеля не была подтверждена в наших исследованиях. Эти растения реагируют симптомами мозаики некроза и деформации листьев только тогда, когда PVA в комплексе с X или Y вирусами картофеля. Заражение самим PVA вызывает на этих растениях бессимптомное заражение. Подобной реакцией к PVA, PVX и PVY характеризуется растение *L. chilense*.

Хорошими индикаторными растениями по PVA являются растения *S. demissum* A 7/10 и гибрид А6. Самая лучшая выявляемость PVA на листьях срезанных растений *S. demissum* 7/10 и гибрида А6 получена при заражении по методу сухой инокуляции.

Urszula Kaczmarek, Katarzyna Zaklukiewicz

## POTATO VIRUS A DETECTABILITY ON SOME TEST PLANTS

### Summary

The investigations were performed in the Potato Research Institute in Bonin in the spring-autumn periods 1973 and 1974. Laboratory and glasshouse experiments were performed. As test plants served: *Lycopersicum pimpinellifolium* (Jusl.) Mill., *L. chilense* Dun., *Nicandra physaloides* Gaertn., *Nicotiana tabacum* Samsun I., detached leaves of *Solanum demissum* A 7/10, *Solanum demissum* A Cock and the hybrid A6. The plants were infected with 5 PVA isolates and the complexes PVA, PVX and PVY. The plants were inoculated with juice from infected tobacco plants, the same juice with phosphate buffer pH 7.6, 0.01 M and by the method of dry inoculation (leaves rolled up into a cigar). The suitability of *L. pimpinellifolium* and *N. physaloides*, considered so far as good indicator plants for potato virus A detection was not confirmed in the present study. These plants reacted by mosaic symptoms, necroses and leaf deformation only when PVA was applied as a complex with potato viruses X or Y. Infection with PVA alone causes in these plants symptomless infection. *L. chilense* gives a similar reaction to PVA, PVX and PVY.

Good indicator plants for PVA are *S. demissum* A 7/10 and the hybrid A6. Detectability was highest in the case of PVA on detached *S. demissum* A 7/10 and hybrid A6 leaves in the method of dry inoculation infection.