

WPŁYW AZADYRACHTYNY NA RETENCJĘ WIRUSA Y^N ZIEMNIAKA W MSZYCY BRZOSKWINIOWEJ *Myzus persicae* (Sulz.)

Michał Kostiw

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie, Zakład Nasiennictwa i Ochrony Ziemniaka w Boninie

Streszczenie. W badaniach laboratoryjnych nie stwierdzono pozytywnego efektu azadyrachtyny na retencję PVY^N w mszycach *Myzus persicae* (Sulz.), głodzonych po nabyciu patogena, a następnie odbywających żer inokulacyjny na roślinach testowych *Physalis floridana*. Owady żerujące na roślinach chronionych zachowywały aktywny wirus przez 64 minuty, a więc nawet dłużej niż mszyce żerujące na roślinach bez ochrony (16 min.). Pozytywny efekt azadyrachtyny stwierdzono u owadów żerujących bezpośrednio po nabyciu wirusa. Jedynie w dwóch seriach badań (z 12 wykonanych) nastąpiło porażenie roślin dalszych (trzeciej i czwartej) z 10 kolejno inokulowanych w serii. We wszystkich pozostałych seriach infekcji uległy wyłącznie rośliny pierwsze. W niektórych seriach bez ochrony poraziły się także rośliny jeszcze dalsze (piąta, szósta), a nawet ósma z 10 inokulowanych. Również ogólne porażenie roślin w kombinacji bez ochrony było wyższe (15%) niż z ochroną (5%).

Słowa kluczowe: *Myzus persicae*, retencja PVY^N, azadyrachtyna

WSTĘP

Mimo stosowania w ochronie roślin przed agrofagami środków coraz bezpieczniejszych nie słabnie zainteresowanie naturalnymi preparatami wytwarzanymi przez wiele gatunków roślin. Jednym z nich jest miodla indyjska *Azadirachta indica* (A. Juss.), drzewo z rodziny *Meliaceae*. Wyciągi z młodych gałązek, kory pnia i korzenia oraz owoców i nasion tego drzewa mają różnorakie działanie przeciwko wielu organizmom, m.in. nicieniom, owadom, grzybom i bakteriom. Niektóre substancje aktywne wyciągów wykazują właściwości antywirusowe. Stwierdzono, że działają np. przeciwko wirusowi X ziemniaka (Potato Virus X – PVX). Szerokie spektrum działania tych wyciągów związane jest z zawartością licznych substancji czynnych, charakteryzujących się

różnorodną aktywnością biologiczną. W stosunku do owadów substancje te, szczególnie w wyższych stężeniach, mogą działać m.in. jako antyfidanty, wywołujące wstręt do żerowania i powodujące zahamowanie składania jaj. Mają też właściwości repelentne, działając odpędzająco lub odstraszaająco na szkodniki oraz opóźniając ich rozwój. Niektóre substancje mogą hamować fizjologiczne procesy życiowe owadów, wpływając na przykład na ograniczenie ich aktywności życiowej.

W Polsce dość obszerne opracowanie na temat biologicznie aktywnych wyciągów roślin z rodziny *Meliaceae* i mechanizmu ich działania oraz form użytkowych i preparatów handlowych, a także możliwości stosowania insektycydów z miodli indyjskiej w ochronie lasu przygotował na podstawie literatury przedmiotu Malinowski [1997].

Poszukiwanie skutecznych i bezpiecznych dla środowiska substancji ma szczególne znaczenie w ochronie ziemniaka przed infekcją powodowaną przez wirusy nietrwałe. Zdecydowanie największe znaczenie gospodarcze, tj. negatywny wpływ na wysokość plonów, ma wirus Y ziemniaka (Potato Virus Y – PVY), wywołujący chorobę smugowatości, powszechnie występującą we wszystkich rejonach uprawy tej rośliny na świecie. Ocenia się, że na 1 procent roślin porażonych tym patogenem, przypada 0,5-procentowy spadek plonu bulw [Gabriel 1988]. Nieco mniej negatywne oddziaływanie mają popularne w ziemniaku wirusy S i M (Potato Virus S, M – PVS, PVM), które nie powodują tak dużych strat w plonie bulw [Chrzanowska 1977, Gładysiak i Więckowski 1977, Górski i Szwichtenberg 1978].

Głównymi wektorami wirusów są mszyce. Powszechnie wiadomo, że ze względu na mechanizm przenoszenia wirusy nietrwałe mogą być efektywnie rozprzestrzeniane przez te owady już podczas bardzo krótkiego czasu ich żerowania (liczonego w sekundach). W tej sytuacji stosowanie nawet wysoce skutecznych środków chemicznych niszczących wektory na ogół nie chroni roślin przed infekcją w stopniu zadowalającym.

W literaturze przedmiotu przybiera publikacji na temat hamującego działania wyciągów z miodli indyjskiej na rozwój mszyc oraz ograniczania przenoszenia przez nie wirusów. Należy przy tym podkreślić, że wyciągi z tego drzewa są dopuszczone do stosowania w rolnictwie ekologicznym [Ustawa o rolnictwie ekologicznym 2001]. Środki oparte na ekstraktach z miodli indyjskiej są obecnie wytwarzane przez wiele firm na świecie (m.in. w Indiach, Kanadzie, USA, Niemczech). Ocenia się, że w samych tylko Indiach w obrocie handlowym znajduje się ponad 30 takich preparatów [Malinowski 1997].

West i Mordue [1992] stwierdzili mniejsze zasiedlanie roślin jęczmienia przez osobniki mszyce czeremchowo-zbożowej (*Rhopalosiphum padi* L.) i mszyce zbożowej (*Sitobion avenae* (F.)) traktowanych azadyrachtyną (najważniejsza substancja aktywna, aż w około 90% decydująca o działaniu wyciągów z miodli indyjskiej na wiele gatunków owadów) w porównaniu z roślinami nietraktowanymi. Podobne działanie zaobserwował Grothe [1992] w odniesieniu do mszyce brzoskwińowej (*Myzus persicae* (Sulz.)).

Nisbet i in. [1993] stwierdzili zmniejszoną efektywność przenoszenia wirusa liściozwoju ziemniaka (Potato Leafroll Virus – PLRV) przez *M. persicae*, gdy żer nabycia mszyce odbywały na porażonych tym wirusem siewkach *Nicotiana clevelandii* (Gay), których korzenie zanurzone były uprzednio przez 84 godziny w roztworze z azadyrachtyną. W badaniach Heuvela i in. [1998] wykazano 100% śmiertelność jednodniowych larw mszyc *M. persicae*, żerujących przez 4 dni na sztucznej pożywce z dodatkiem ekstraktu z zarodków nasion miodli oraz azadyrachtyny, gdy skład pożywki zawierał dawkę środka wyższą niż 2560 ppm. Przy dawkach pośrednich, między 320 a 2560 ppm, dynamika wzrostu larw oraz ich śmiertelność była uzależniona od ilości preparatu. Autorzy ci stwierdzili ponadto, że przenoszenie PLRV było ograniczone średnio na poziomie 55-

90% przy dawkach w zakresie od 320 do 2560 ppm, a po zastosowaniu dawek najwyższych (2560 ppm) redukcja przenoszenia osiągnęła 90% dla azadyrachtyny i aż 95% dla ekstraktu z zarodków nasion miodli. Co ciekawe, dawki o zawartości 160 ppm i niższe ograniczały jeszcze przenoszenie wirusa odpowiednio o 40-60 i 40-70%.

Pozytywny efekt preparatu z miodli na porażenie roślin *Physalis floridana* (Rydb.) przez PVY^N stwierdzili Kostiw i Robak [2002]. Zarówno po jedno-, jak i dwukrotnym opryskiwaniu roślin (w odstępie tygodniowym) infekcji uległa jednakowa liczba roślin – po 5 na 50 inokulowanych. Natomiast w kombinacji kontrolnej (bez ochrony) porażonych zostało 12 roślin na 50 inokulowanych. W innych badaniach tych autorów (dane niepublikowane) średnie porażenie roślin *P. floridana* w kombinacji bez ochrony wyniosło 60,5% i było istotnie wyższe (na poziomie $\alpha = 0,01$) w porównaniu z poziomem infekcji z kombinacji chronionej (21,2%).

W epidemiologii wirusów nietrwających duże znaczenie ma znajomość retencji wirusa, a więc czasu utrzymywania aktywnego patogenu na kłujce mszycy. Z dotychczasowych badań wiadomo, że owad po nabyciu wirusa pozostaje aktywnym wektorem około 2 godzin [Bradley 1959, Kostiw 1987]. Kostiw [1987] stwierdził, że sporadycznie retencja PVY w niektórych uskrzydłonych osobnikach mszycy szakłakowo-ziemniaczanej *Aphis nasturtii* Kalt. trwała jeszcze nieco ponad 17 godzin. Wyniki te dotyczą mszyc głodzonych po nabyciu wirusa z rośliny nim porażonej. Analizując zagadnienie z uwagi na epidemiologię chorób wirusowych, długa retencja oznacza w praktyce, że uskrzydłona mszyca jest w stanie przenieść wirus na dalekie odległości oraz że jeden osobnik może zakazić kilka roślin.

Celem przedstawionej pracy było zbadanie, czy azadyrachtyna wpływa na retencję PVY^N w mszycy brzoskwiowej *M. persicae*, która jest wektorem tego wirusa.

MATERIAŁ I METODY

Źródłem PVY (stosowano szczep nekrotyczny PVY^N) były rośliny ziemniaka odmiany Balbina, w wieku około 4-5 tygodni, wtórnie porażone tym patogenem (rośliny wyrosłe z porażonych bulw). Wysadzano je w wazonach Mitcherlicha, a następnie przetrzymywano w szklarni w zmiennej temperaturze 10-27°C. Jako roślin testowych użyto siewek *Physalis floridana*. Po przepikowaniu rośliny rosły w szklarni w doniczkach o średnicy 8 cm, na podłożu sporządzonym z mieszaniny ziemi parowanej, torfu i piasku w proporcji 1,5 : 1 : 0,5, z dodatkiem węgla wapnia, saletry amonowej, superfosfatu oraz polifoski. Inokulowano je w fazie 2 liści właściwych. *P. floridana* należy do roślin bardzo podatnych na infekcję PVY, daje wyraźne symptomy porażenia i dlatego jest powszechnie stosowana w badaniach nad przenoszeniem PVY przez mszyce.

W badaniach testowano azadyrachtynę o stężeniu 0,5%, otrzymaną z Uniwersytetu w Delhi. Zabiegi opryskiwania roślin wykonano za pomocą opryskiwacza ręcznego o pojemności 2 dm³.

Wektorami wirusa były uskrzydłone morfy *M. persicae*. Owady hodowano na wolnej od wirusów kapuście pekińskiej, w klatkach entomologicznych umieszczonych w specjalnie do tego celu przeznaczonym pomieszczeniu, w którym stosowano sztuczne oświetlenie o natężeniu około 3000 luksów; długość dnia i nocy wynosiła odpowiednio 16 i 8 godzin. Temperatura w pomieszczeniu wahała się na poziomie 18-28°C. Przed realizacją badań mszyce były przez około 2 godziny głodzone i przetrzymywane w probówkach o długości 6 cm i średnicy 2 cm, zabezpieczonych gazą młynarską.

W badaniach nad retencją wirusa w mszycach głodzonych po nabyciu patogena (nie ma to związku ze wstępnym dwugodzinnym głodzeniem) owady po 2-minutowym żerowaniu na źródle wirusa, opryskanym 2 godziny wcześniej preparatem, były ponownie głodzone. Okresy głodzenia były następujące: 1 min. (mszyce po żerowaniu nabywczym na źródle PVY^N przenoszono bezpośrednio na rośliny testowe), 4, 8, 16, 64, 256 i 1024 min. Następnie przenoszono je na rośliny testowe (*P. floridana*), podobnie traktowane azadyrachtyną, na których odbywały również 2-minutowy żer inokulacyjny. Do inokulacji brano po 1 mszyce na roślinę. Dla każdego okresu głodzenia inokulowano po 20 roślin *P. floridana* chronionych i po 20 roślin bez ochrony, stanowiących kontrolę.

W badaniach nad retencją PVY^N w mszycach żerujących po nabyciu wirusa owady po 2-minutowym żerowaniu na źródle wirusa przenoszono na rośliny testowe w ten sposób, że jedna mszyca inokulowała kolejno 10 roślin. Każdorazowo czas żeru inokulacyjnego wynosił 2 minuty. Ogółem w ten sposób inokulowano 120 roślin testowych w 12 seriach (po 10 roślin w serii). Każdorazowo podczas żerowania obserwowano klujkę mszyce przez lupę o pięciokrotnym powiększeniu. Za początek żerowania przyjęto wzajemny kontakt końcowej części klujki (rastrum) mszyce z powierzchnią liścia rośliny. Po zakończeniu inokulacji mszyce usuwano z rośliny i niszczone, a rośliny testowe umieszczano w kamerze szklarniowej na parapecie wyścielonym cienką warstwą torfu. Przetrzymano je tam około 3 tygodni, tzn. do czasu oceny wyników porażenia. W tym czasie temperatura w pomieszczeniu wahała się na poziomie 15-30°C, a wilgotność względna powietrza wynosiła od 40 do 90%.

Wyniki porażenia roślin określano wizualnie w okresie między 2. a 3. tygodniem od inokulacji roślin. Był to wystarczająco długi czas na ujawnienie się symptomów infekcji. Przejasnienia nerwów i mozaika oraz charakterystyczne pomarszczenie liści, połączone z wyraźnym zahamowaniem wzrostu rośliny, to typowe objawy systemiczne, wywoływane przez PVY^N na *P. floridana*.

WYNIKI I Dyskusja

Nie stwierdzono pozytywnego wpływu testowanego preparatu na retencję PVY^N w mszycach głodzonych po nabyciu wirusa, a następnie odbywających żer inokulacyjny na roślinach testowych. Wyniki badań zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wpływ azadyrachtyny na retencję PVY^N w *Myzus persicae* głodzonych po nabyciu wirusa

Table 1. Effect of azadirachtin on PVY^N retention in *Myzus persicae* starved after contracting the virus

Czas głodzenia mszyc po nabyciu wirusa Aphids starvation time after contracting the virus min.	Rośliny chronione Protected plants	Rośliny bez ochrony Non-protected plants
	porażenie – infection, %	
1	25	25
4	25	20
16	15	20
64	10	0
256	0	0
1024	0	0

Wykazały one, że owady żerujące na roślinach chronionych (dotyczy to zarówno źródła wirusa, jak i roślin testowych) zachowywały aktywny wirus przez 64 min. (stwierdzono jeszcze 10% roślin porażonych), a więc retencja patogenu trwała nawet dłużej niż u mszyc żerujących na roślinach bez ochrony (kontrolnych), u których aktywny wirus utrzymywał się tylko do 16-minutowego czasu ich głodzenia (20% roślin porażonych).

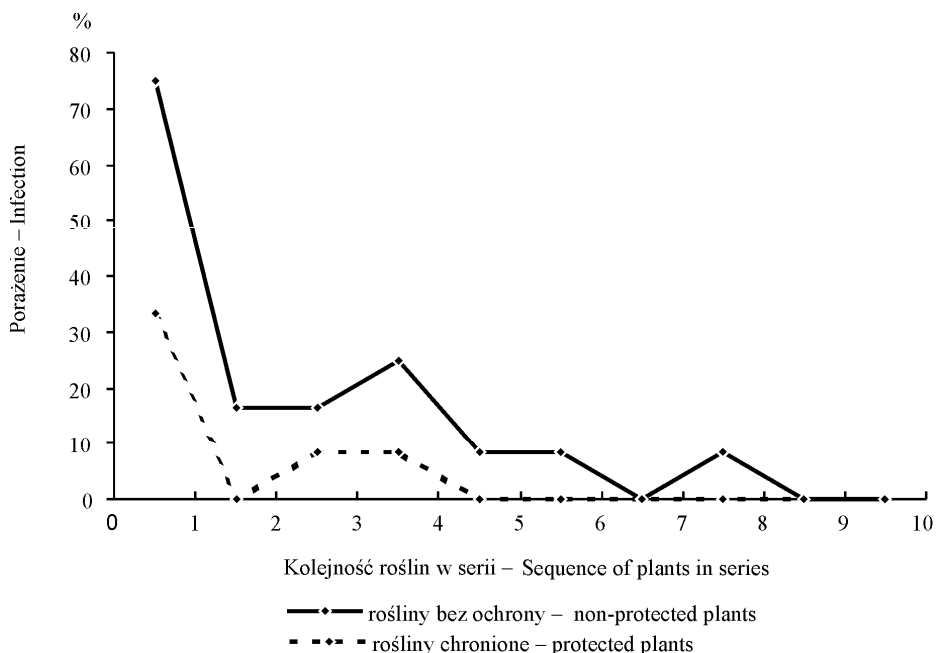
Retencja wirusa w mszycach, które bezpośrednio po jego nabyciu odbywały każdorazowo dwuminutowy żer inokulacyjny na kolejnych z dziesięciu inokulowanych roślin *P. floridana*, utrzymywała się dłużej u owadów żerujących na roślinach bez ochrony (kontrolnych). Na ogólną liczbę 12 wykonanych serii, aż w 10 stwierdzono przynajmniej po jednej zainfekowanej roślinie. Były też serie, w których poszczególnym mszycom udało się przenieść wirus na więcej niż jedną roślinę w serii (tab. 2).

Tabela 2. Retencja PVY^N w *Myzus persicae* żerujących po nabyciu wirusa kolejno na 10 roślinach *Physalis floridana*

Table 2. PVY^N retention in *Myzus persicae* feeding on successive 10 *Physalis floridana* plants after contracting the virus

Nr serii Series no	Rośliny porażone – kolejność roślin w serii Infected plants – sequence of plants in series										Liczba roślin porażonych Number of infected plants %	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Kontrola – Control												
1	x	x		x				x				4
2				x								1
3	x		x			x						3
4												0
5												0
6												0
7	x											1
8	x											1
9	x											1
10	x	x	x	x	x							5
11	x											1
12	x											1
Ogółem Total	8	2	2	3	1	1	0	1	0	0		18 (15,0)
Rośliny chronione – Protected plants												
1	x											1
2				x								1
3			x									1
4												0
5												0
6	x											1
7	x											1
8												0
9												0
10												0
11												1
12												0
Ogółem Total	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0		6 (5,0)

Najczęściej porażały się rośliny inokulowane jako pierwsze z 10 kolejno zakażanych w poszczególnych seriach (aż w 9 seriach na 12 wykonanych), a drugie, trzecie i czwarte – tylko odpowiednio: w dwóch, w dwóch i trzech seriach. Dalsze rośliny poraziły się jedynie w pojedynczych seriach. W trzech seriach w ogóle nie stwierdzono infekcji, co potwierdza znany już fakt, że nie każda mszyca ma zdolność przeniesienia wirusa. Również ogólny poziom porażenia roślin był znacznie wyższy w kombinacji kontrolnej (15% porażenie) niż w chronionej (infekcji uległo tylko 5% roślin inokulowanych). W sposób bardziej wyraźny opisaną zależność przedstawia rysunek 1. Natomiast w odniesieniu do roślin chronionych porażenie stwierdzono tylko w 6 z 12 wykonanych serii, przy czym na ogół były porażone również tylko pierwsze rośliny w serii. Jedynie w 2 przypadkach były to rośliny dalsze, odpowiednio trzecia (dotyczy to trzeciej serii) i czwarta roślina (ten wynik uzyskano w drugiej serii badań).



Rys. 1. Retencja PVY^N w *Myzus persicae* żerujących po nabyciu wirusa kolejno na 10 roślinach *Physalis floridana*

Fig. 1. PVY^N retention in *Myzus persicae* feeding on successive 10 *Physalis floridana* plants after contracting the virus

Pozytywny efekt azadyrachtyny, wyrażający się krótszą retencją PVY^N w *M. persicae*, oznacza w praktyce, że pojedyncza mszyca żerująca na roślinach chronionych tym preparatem jest zdolna przenieść wirus na mniejszą liczbę roślin niż mszyca żerująca na roślinach bez ochrony. Wektory tracące w krótkim czasie zdolność przenoszenia patogena, mają więc ograniczone możliwości jego rozprzestrzeniania w warunkach naturalnych.

PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki nie upoważniają jeszcze do formułowania zaleceń co do zasadności stosowania azadirachtyny w ochronie ziemniaka przed infekcją powodowaną przez PVY w warunkach naturalnych, głównie z tego powodu, iż obiektem badań nie były ziemniaki, ale rośliny testowe (*P. floridana*). Zebrane informacje wydają się jednak uzasadniać potrzebę kontynuowania dalszych prac na ten temat, ukierunkowanych na poznanie testowanego preparatu w ochronie ziemniaka przed porażeniem przez PVY. Ich pozytywny wynik miałby znaczenie praktyczne, szczególnie w rejonach, gdzie niewielkie powierzchniowo plantacje nasiennej tej rośliny przeplatają się z uprawami produkcyjnymi o dużym na ogół ładunku źródeł wirusa, łatwo dostępnych dla wektorów.

PIŚMIENNICTWO

- Bradley R.H.E., 1959. Loss of Virus from the Stylets of Aphids. *Virology* 8, 308-318.
- Chrzanowska M., 1977. Zależność plonu bulw i jego struktury od nasilenia objawów chorobowych powodowanych przez wirus M. na odmianie Uran. *Biul. Inst. Ziemn.* 19, 27-33.
- Gabriel W., 1988. Propozycja modelu szacowania plonu bulw odmian ziemniaka z uwzględnieniem porażenia wirusami. *Biul. Oceny Odmian XIII* (19), 51-56.
- Gładysiak S., Więckowski A., 1977. Wpływ porażenia wtórnego wirusem S na plon dwóch odmian ziemniaków. *Rocz. AR w Poznaniu, Rolnictwo* 19, 89-94.
- Górski D., Szwichtenberg Z., 1978. Badania nad wpływem porażenia wirusem S lub M na plon bulw ziemniaka. *Biul. Inst. Ziemn.* 21, 25-35.
- Grothe H., 1992. Untersuchungen über verhaltensändernde Wirkungen des neuen synthetischen Wirkstoffes Imidacloprid (Confidor) auf verschiedene Blattläuse (Homoptera: *Aphididae*) im Vergleich mit anderen Insektiziden. *Dipl. Thesis, Univ. Of Giessen Germany.*
- Heuvel J.F.J.M., Hogenhout S.A., Verbeek M., Wilk F., 1998. Azadirachta indica metabolites interfere with the host-endosymbiont relationship and inhibit the transmission of potato leafroll virus by *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl.* 86, 253-260.
- Kostiwny M., 1987. Przenoszenie ważniejszych wirusów ziemniaka przez mszyce. *Inst. Ziemn. Bonin*, 105.
- Kostiwny M., Robak B., 2002. Naturalny insektycyd z miodli indyjskiej w ochronie roślin przed porażeniem przez wirus Y ziemniaka. *Mat. Konf. Ochrona ziemniaka*, 34.
- Malinowski H., 1997. Naturalne insektycydy z miodli indyjskiej (*Azadirachta indica* A. Juss.) w ochronie lasu. *Zakład Ochrony Lasu (Pracownia Odporności) Instytutu Badawczego Leśnictwa w Warszawie, SYLWAN CXLI* (7), 45-55.
- Nisbet A.J., Woodford J.A., Strang R.H.C., Conndly J.D., 1993. Systemic antifeedant effects of azadirachtin on the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl.* 68, 87-98.
- Ustawa o rolnictwie ekologicznym, 2001. *Dz. U.* nr 38 z dnia 2 maja 2001 r., poz. 452 (wraz ze zmianami: *Dz. U.* nr 100 z dnia 18 września 2001 r., poz. 1085).
- West A.J., Mordue A.J., 1992. The influence of azadirachtin on the feeding behaviour of cereal aphids and slugs. *Entomol. Exp. Appl.* 62, 75-79.

EFFECT OF AZADIRACHTIN ON POTATO VIRUS Y^N RETENTION IN GREEN PEACH APHID *Myzus persicae* (Sulz.)

Abstract. In laboratory studies there was observed no positive effect of azadirachtin on PVY^N retention in *Myzus persicae* (Sulz.) which, having contracted the pathogen, were

starved and next they were feeding on *Physalis floridana* test plants. Aphids feeding on protected plants retained active virus for 64 minutes, which was even longer than aphids feeding on unprotected test plants (16 min.). A positive effect of azadirachtin was found in aphids feeding directly after contracting the virus. In two study series only, out of a total of 12, further (the third and fourth) plants were infected out of 10 successively inoculated in the series. In all the other series only the first plants were infected. In some non-protected series also even further plants were infected (the fifth, sixth and even eighth out of 10 inoculated plants). Similarly the total plant infection in the non-protected combination was higher (15%) than in the protected one (5%).

Key words: *Myzus persicae*, PVY^N retention, azadirachtin

Otrzymano – Received: 03.09.2003

Zaakceptowano – Accepted: 21.12.2003