

**Teresa Doroszevska**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

## CHARAKTERYSTYKA I WYSTĘPOWANIE WIRUSA Y ZIEMNIAKA (PVY) SPRAWCY BRUNATNEJ NEKROZY NERWÓW TYTONIU\*

### Wstęp

Wirus Y ziemniaka, *Potato virus Y* (PVY), a zwłaszcza jego nekrotyczne szczepy, powodują brunatną nekrozę nerwów liści tytoniu. Nekroza nerwów hamuje transport wody i soli mineralnych do tkanek liści, zaś nekroza blaszki liściowej ogranicza powierzchnię i zdolność asymilacyjną oraz wymianę gazową, a tym samym wzrost roślin (52). Obniża to jakość wysuszonego surowca, co w połączeniu z małym plonem przynosi ogromne straty producentom tytoniu. Obecność wirusa Y wpływa niekorzystnie na szlaki metaboliczne, prowadząc do wzrostu zawartości azotanów w liściach (45).

Poza tytoniem PVY infekuje wiele roślin uprawnych z rodziny *Solanaceae*, w szczególności ziemniaka, pomidora, paprykę oraz niektóre dzikie gatunki roślin. Wektorem przenoszącym nekrotyczne szczepy wirusa są mszyce, głównie *Myzus persicae* (47). Sposób przenoszenia wirusa określany jest jako nietrwały (na kłujce owada), co sprawia, że infekcja następuje bardzo szybko, zanim zaczną działać środki owadobójczy. Dlatego też zwalczanie mszyc nie ogranicza w sposób dostateczny rozwoju choroby. Najbardziej odpowiednią metodą przeciwdziałania jej rozwojowi jest wprowadzanie do uprawy odmian odpornych. Poszukiwanie źródeł odporności, efektywnych w zetknięciu z nowymi izolatami występującymi w Polsce i na świecie, może być skuteczne jedynie dla zdefiniowanych patogenów. Z tego względu niezwykle ważnym aspektem jest dokładna charakterystyka i stosunkowo jednolita nomenklatura występujących szczepów i izolatów PVY.

### Budowa genomu PVY

*Potato virus Y* jest przedstawicielem rodzaju *Potyvirus* należącego do rodziny *Potyviridae*, najliczniej reprezentowanej i najważniejszej pod względem ekonomicznym grupy wirusów roślinnych. PVY, podobnie jak inne wirusy z rodzaju *Potyvirus*, to cząstki jednoniciowe o długości 680-900 nm i średnicy 12-15 nm (51).

---

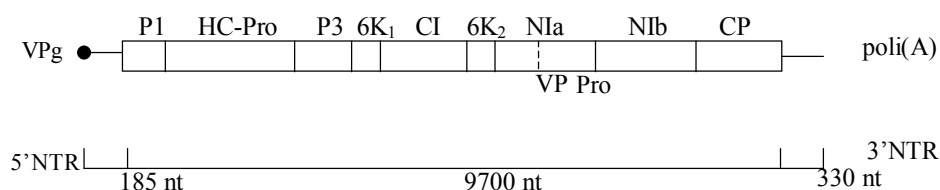
\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

Genom PVY stanowi pojedyncza sensowa nić RNA o długości około 9700 nukleotydów (rys. 1; 41). Na końcu 5' cząstki RNA znajduje się kowalencyjnie związane białko VPg (ang. Viral Protein genome linked), zaś koniec 3' jest poliadenylowany (41). Całość otoczona jest białkowym płaszczem CP (ang. Coat Protein); (19). Genom wirusa zawiera jedną długą, otwartą ramkę odczytu kodującą poliproteinę oraz dwa regiony niekodujące – 5'NTR i 3'NTR (43, 51). Na pierwszym etapie ekspresji genetycznej, po wnikięciu do komórki, wirus koduje syntezę poliproteiny, która ulega następnie proteolizie dokonywanej przez własne proteazy wirusa, prowadzącej do powstania czynnych białek wirusowych (10).

Płaszcz wirusa zbudowany jest z około 2000 kopii białka CP (37). Główną rolą białek CP jest opłaszczanie nici wirusowego RNA, wokół których tworzą zwartą strukturę helikalną (51). Białka CP biorą też udział w przenoszeniu wirusa przez mszyce oraz przemieszczaniu się wirusa między sąsiadującymi komórkami i tkanką naczyniową (15).

Na końcu 5' nici RNA znajduje się niekodujący region (5'NTR) bogaty w adeninę. Z 5'NTR sprzężone jest kowalencyjnie białko VPg. Na końcu 3' nici RNA znajduje się drugi region niekodujący (3'NTR), który bierze udział w inicjacji syntezy nici RNA i indukcji symptomów w zainfekowanej roślinie (19). Na końcu 3' regionu 3'NTR znajduje się ogon poli(A); (41), chroniący nić RNA przed działaniem endonukleaz.

Różnorodność wirusów RNA wiąże się przede wszystkim z dużym współczynnikiem błędu polimerazy RNA zależnej od RNA, czego efektem są mutacje punktowe w genomach wirusowych (20). Polimerazy RNA są mutagenne z powodu obniżonej wierności replikacji i braku aktywności naprawczej (39). Inną przyczyną różnorodności wirusów RNA jest RNA-RNA rekombinacja. Szacuje się, że naturalnie pojawiające się rekombinanty stanowią 8-17% całej przebadanej populacji wirusów (1, 40). Ogromna różnorodność wirusów RNA i duża częstotliwość rekombinacji jest źródłem zmian w funkcjonowaniu wirusów i zapewnia im optymalne przystosowanie do szerokiej gamy gospodarzy i skutecznego przełamania mechanizmów obronnych roślin.



Rys. 1. Organizacja genomu wirusa Y ziemniaka. Kółko przedstawia kowalencyjnie związane białko VPg na 5' końcu RNA wirusa. Pojedyncze czarne linie odpowiadają regionom niekodującym: 5'NTR (185 nt) oraz 3'NTR (330 nt). Ramka wewnętrzna obejmuje część genomu kodującego poliproteinę oraz powstające ko- i potranskrypcyjnie białka: P1 (proteaza), HC-Pro (proteaza), P3 (trzecie białko), 6K<sub>1</sub>, 6K<sub>2</sub> (polipeptydy 6kDa), CI (białko inkluzji cylindrycznej), NIa (małe białko inkluzji jądrowych, w jego skład wchodzi: białko związane z genomem – VPg i proteaza – Pro), NIb (duże białko inkluzji jądrowych), CP (białko płaszcza)

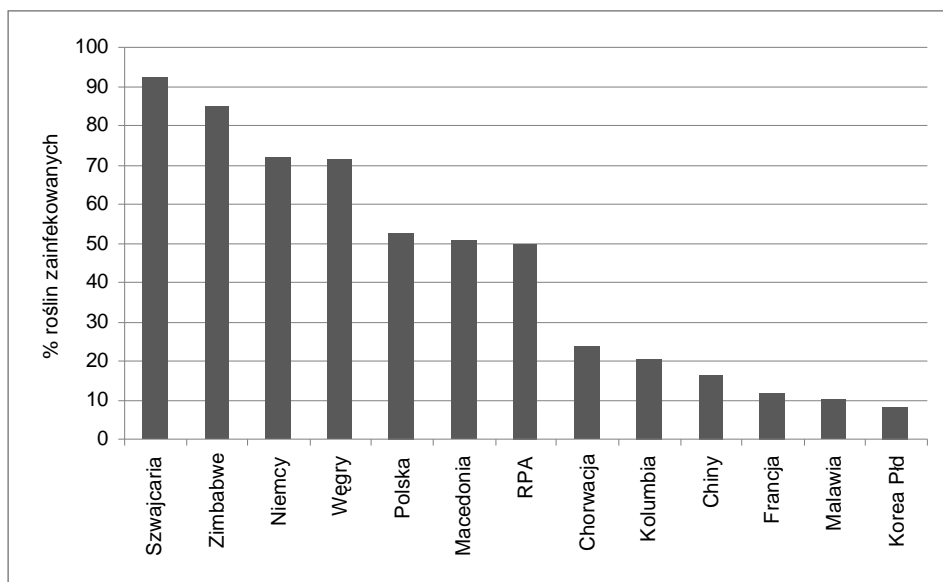
Źródło: Chachulska A. M., 1998 (11).

### Występowanie PVY i objawy chorobowe na tytoniu

Nazwę *Potato virus Y* (PVY) wprowadził po raz pierwszy Smith w 1931 roku, który wykazał, że wiele chorób wirusowych ziemniaka wywoływanych jest przez kombinacje wirusów o różnych właściwościach (44). Dwa z nich nazwał odpowiednio X i Y (za Lucasem, 30). Pierwsze w Europie obserwacje nekrozy nerwów tytoniu powodowanej przez PVY zanotowano w latach czterdziestych (35). Następne doniesienia o wirusowej nekrozie liści tytoniu wywołanej przez PVY pochodzą z Niemiec, gdzie objawy infekcji tytoniu obserwowano w 1951 roku (5, 8). W Polsce choroba ta została wykryta po raz pierwszy przez J. Berbecia w 1956 roku, a już w latach 1958–1959 przyjęła rozmiary epifitozy, powodując duże straty na plantacjach tytoniu (4). Wirusową nekrozę liści tytoniu stwierdzono w tym samym czasie w Szwajcarii i poczyniono próby wstępnej charakterystyki szczepów PVY (2). Szybki rozwój choroby był szczególnie widoczny w rejonach uprawy tytoniu, gdzie ziemniak zajmował duży areał (28). Występowanie choroby powodowanej przez PVY stwierdzono także w południowych stanach Ameryki Północnej, szczególnie na Florydzie oraz w Ameryce Środkowej (30). Choroba rozprzestrzeniała się szybko, infekując rośliny w większości krajów świata. Obecny zasięg PVY obejmuje wszystkie kontynenty, a choroba powoduje duże straty w plonowaniu wielu roślin uprawnych (14, 17, 18, 32, 36).

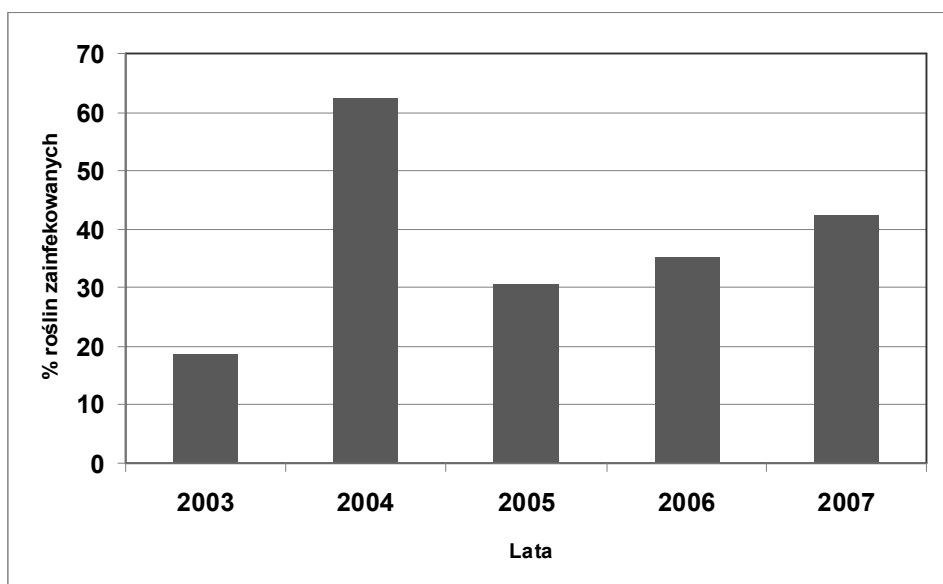
Prowadzone wieloletnie badania nad występowaniem PVY w uprawach tytoniu w różnych rejonach świata dostarczają wielu informacji. Badania realizowane są w ramach międzynarodowej organizacji CORESTA (Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco) w programie „Sub-Group Collaborative Study on *Potato virus Y*”, koordynowanym przez autorkę od 2003 r. Podstawą oceny występowania wirusa Y ziemniaka na tytoniu jest stopień porażenia odmian według zestawu wysyłanego co rok do uczestników programu w różnych krajach. Zestaw zawiera pięć odmian podatnych, pozwalających ocenić problem występowania wirusa oraz pięć odmian niosących określone źródła odporności, infekcja których wskazuje na występowanie izolatów zdolnych do przełamania istniejących źródeł odporności w obrębie tytoniu uprawnego (18).

W okresie ostatnich pięciu lat na podstawie nekrotycznych objawów na odmianach podatnych stwierdzono, że największe porażenie tytoniu przez PVY wystąpiło w Szwajcarii, Zimbabwie, Niemczech, na Węgrzech, w Polsce, Macedonii i RPA (rys. 2). Nasilenie występowania PVY podlega dość dużym wahaniom w poszczególnych latach, co ma związek z warunkami pogodowymi i rozwojem populacji mszyc. Uwzględniając kraje europejskie (Szwajcarię, Niemcy, Polskę, Węgry, Francję, Chorwację i Macedonię) widać wyraźnie, że najniższy poziom infekcji odmian podatnych przez PVY miał miejsce w 2003 r., natomiast w roku następnym wzrósł ponad trzykrotnie (rys. 3). W ciągu ostatnich trzech lat poziom infekcji wykazuje tendencję wzrostową. Badania dotyczące Polski, prowadzone z tym samym zestawem odmian testowych, obejmują znacznie dłuższy okres (12 lat) i również wskazują na duże zróżnicowanie w poszczególnych latach (rys. 4). Bardzo wysoki poziom porażenia roślin wystąpił



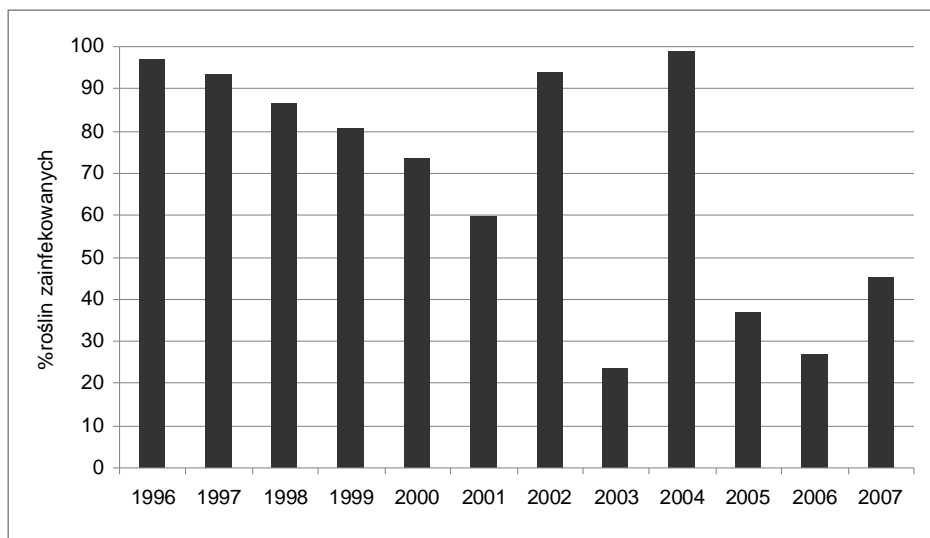
Rys. 2. Występowanie wirusa Y ziemniaka na podatnych odmianach tytoniu

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorke.



Rys. 3. Poziom infekcji wirusem Y ziemniaka podatnych odmian tytoniu w kilku krajach Europy w latach 2003–2007

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorke.



Rys. 4. Występowanie wirusa Y ziemniaka na podatnych odmianach tytoniu w Polsce w latach 1996–2007

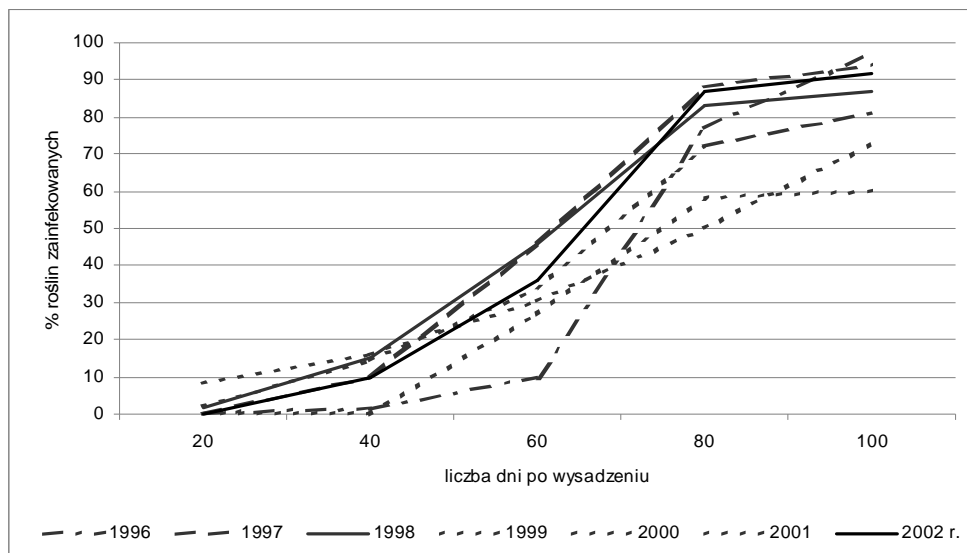
Źródło: Opracowanie własne.

w latach 1996–1998 i sięgał powyżej 80%, a następnie do roku 2001 widoczny był systematyczny spadek infekcji odmian tytoniu. W latach następnych obserwuje się zróżnicowanie występowania PVY w Polsce, podobnie jak w innych krajach Europy.

W warunkach Polski pierwsze objawy chorobowe na tytoniu powodowane przez wirusa Y ziemniaka widoczne są na ogół w drugiej połowie czerwca, około 3-4 tygodni po wysadzeniu roślin w polu. Najbardziej intensywny rozwój infekcji obserwuje się w okresie 40-80 dni od wysadzenia roślin, od około 10 lipca do połowy sierpnia (rys. 5). Obserwowano również nowe infekcje pod koniec sierpnia, lecz częstotliwość ich występowania bywa znacznie mniejsza, a objawy widoczne były głównie na pędach bocznych (pasynkach).

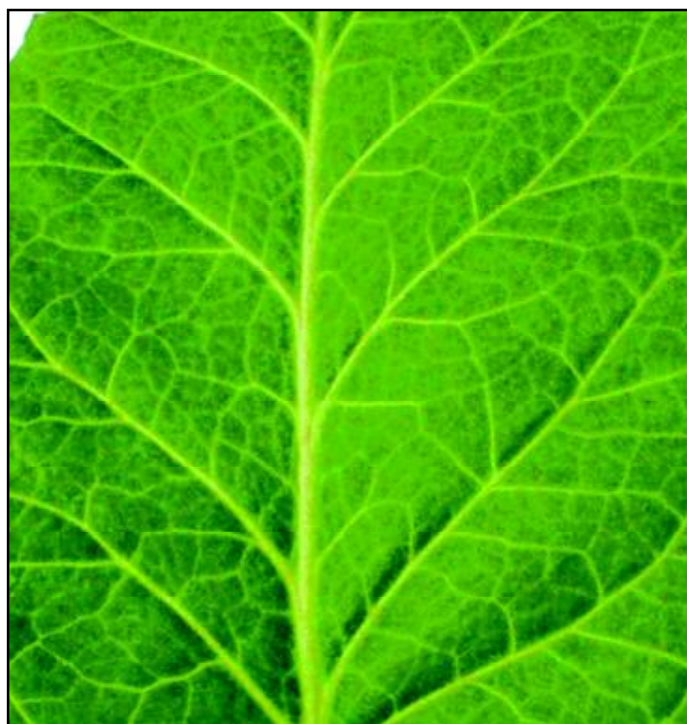
Pierwsze objawy porażenia roślin widoczne są jako przejaśnienia nerwów (rys. 6) przechodzące następnie w nekrozy (rys. 7). Często występują też chlorotyczne plamy i pierścienie (rys. 8). W przypadku odmian tolerancyjnych przejaśnienia nerwów i chlorotyczne plamy utrzymują się przez cały okres wegetacji. U odmian podatnych dalszy rozwój infekcji uwiadcza się silną nekrozą nerwów liści (rys. 9) i niekiedy pędu oraz żółknięciem i chlorozą blaszki liściowej (rys. 10 i 11).

Biorąc pod uwagę fakt, że objawy nekrotyczne są bardzo silne i surowiec uzyskany z roślin porażonych nie ma żadnej wartości wykupowej, widać wyraźnie, że uprawa odmian podatnych zarówno w Polsce, jak też w wielu innych krajach nie jest możliwa. Efektem wielu lat pracy hodowców było uzyskanie odmian zawierających określone czynniki odporności. Odpowiedzią ze strony patogena są jego nowe formy, bardziej wirulentne, zdolne do przełamania istniejących źródeł odporności. Takie



Rys. 5. Rozwój infekcji PVY w naturalnych warunkach polowych na podatnych odmianach tytoniu w Puławach

Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 6. Przejaśnienia nerwów

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 7. Początek nekrozy nerwów

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 8. Chlorotyczne plamy i pierścienie

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 9. Nekroza nerwów

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 10. Postępująca nekroza nerwów i żółknięcie blaszki liściowej

Źródło: Dokumentacja własna.





Rys. 11. Nekroza nerwów i nekrotyczne plamy na blaszce liściowej  
 Źródło: Dokumentacja własna.

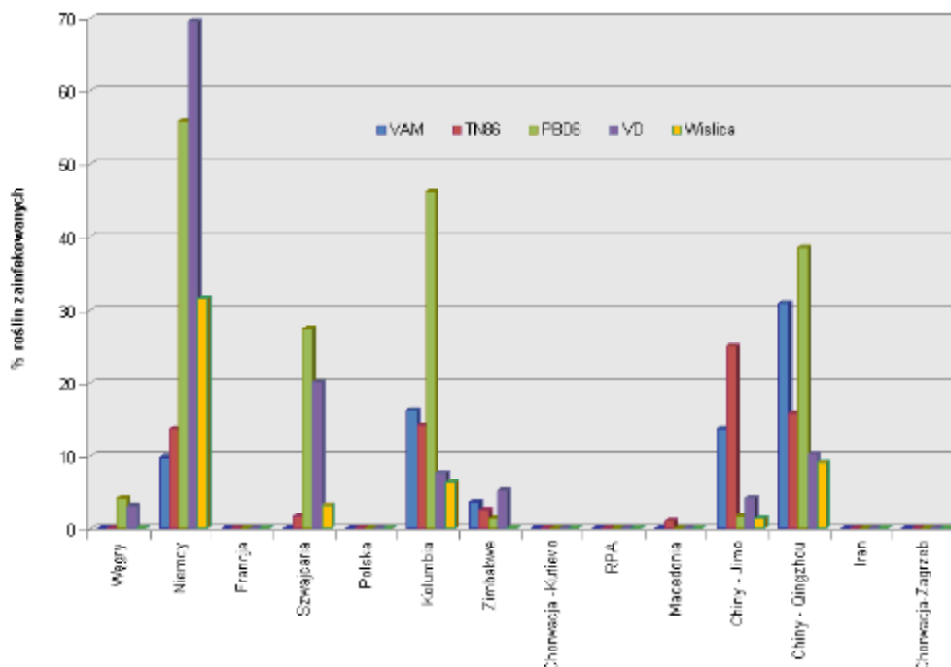
izolaty pojawiają się coraz częściej w uprawach tytoniu w Polsce (tab. 1) i na świecie (17, 18, 46). Dane z roku 2007 r. wskazują, że najwyższy stopień porażenia odmian uznawanych dotychczas za odporne miał miejsce w Niemczech oraz w Szwajcarii, Kolumbii i w Chinach (rys. 12).

Tabela 1

Izolaty PVY zebrane z odmian i linii hodowlanych tytoniu w latach 1999–2002

Miejsce pochodzenia izolatu	Liczba izolatów		
	ogółem	wykrywalnych tylko przez MoAbs anti Y	wykrywalnych przez MoAbs anti Y i MoAbs anti Y <sup>N</sup>
Augustów	7	6	1
Grudziądz	10	9	1
Jędrzejów	24	16	8
Lublin	6	5	1
<b>Razem</b>	<b>47</b>	<b>36</b>	<b>11</b>

Źródło: Doroszevska T., 2004 (17).



Rys. 12. Udział zainfekowanych roślin pięciu odmian tytoniu o typie odporności *va* w różnych krajach w 2007 r.

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorkę.

### Charakterystyka oraz klasyfikacja szczepów i izolatów PVY

Stosowana ogólnie nomenklatura, przyjęta głównie w odniesieniu do PVY jako patogena ziemniaka, wyróżnia trzy podstawowe grupy: PVY<sup>0</sup> (zwykły szczep), niewywołujący objawów nekrotycznych na tytoniu, jedynie mozaikę i przejaśnienia nerwów; PVY<sup>C</sup>, nieprzenoszony przez mszycę *Myzus persicae* i wywołujący nienekrotyczne objawy na tytoniu oraz PVY<sup>N</sup> powodujący nekrozę nerwów tytoniu (14). Pod względem gospodarczym ten szczep ma największe znaczenie w uprawach tytoniu. Z uwagi na dużą różnorodność izolatów tytoniowych należących do PVY<sup>N</sup> stosuje się często klasyfikacje oparte o różne kryteria.

W USA opisano cztery szczepy PVY występujące na tytoniu: MM, MN, NN i VAM-B (25). Różnice pomiędzy poszczególnymi szczepami oparte są na podatności bądź odporności odmian na PVY oraz na niczenie (26). We Francji B l a n c a r d i in. (6, 7) opisali trzy szczepy nekrotyczne PVY: Typ 1, Typ 2 i Typ 3 oraz zaproponowali system klasyfikacji w oparciu o zdolności przełamania odporności tytoniu warunkowane pojedynczym recesywnym genem *va* i częściowo dominującym *VR*. Różne systemy klasyfikacji stosowano też na Węgrzech (34), w Japonii (53) i RPA (48, 49). Badania przeprowadzone w Kanadzie uwzględniały szczepy PVY pochodzące z tyto-

niu, papryki i ziemniaka. Mc Donald i Kristjansson (32) dostrzegli potrzebę porównania szczepów infekujących różne rośliny użytkowe i podjęli próbę ich charakterystyki w oparciu o te same kryteria.

Poza nekrotycznym szczepem PVY<sup>N</sup> zidentyfikowanym na tytoniu w Polsce w 1956 roku, który infekował uprawiane wówczas odmiany (4) w 1971 roku został wyizolowany i opisany przez Gajosa (22) szczep „nekrotyczny zjadliwy” – PVY<sup>NZ</sup>, infekujący większość krajowych i zagranicznych odmian tytoniu. Szczep ten mimo swojej wirulencji nie rozprzestrzenił się masowo w uprawach tytoniu, co wynikało najprawdopodobniej z braku zdolności do infekowania ziemniaka. Ziemniak uznawany jest za główne źródło infekcji dla tytoniu (31), zabezpieczając warunki przetrwania PVY. Polska jest krajem o dużym areale uprawy ziemniaka, co stwarza określone konsekwencje dla uprawy tytoniu.

Prowadzone wieloletnie badania we współpracy z IHAR, Oddział w Młochowie, polegające na testowaniu izolatów pochodzących z ziemniaka na tytoniu i izolatów tytoniowych na ziemniaku dostarczyły wielu cennych informacji (12, 13). Były to pierwsze w świecie badania obejmujące tak szeroki zakres prac porównawczych dwu podstawowych żywicieli dla PVY. Na ich podstawie można stwierdzić, że zdecydowana większość izolatów pochodzących z ziemniaka jest zdolna porażać tytoń, jak też większość izolatów tytoniowych zdolna jest do infekowania ziemniaka.

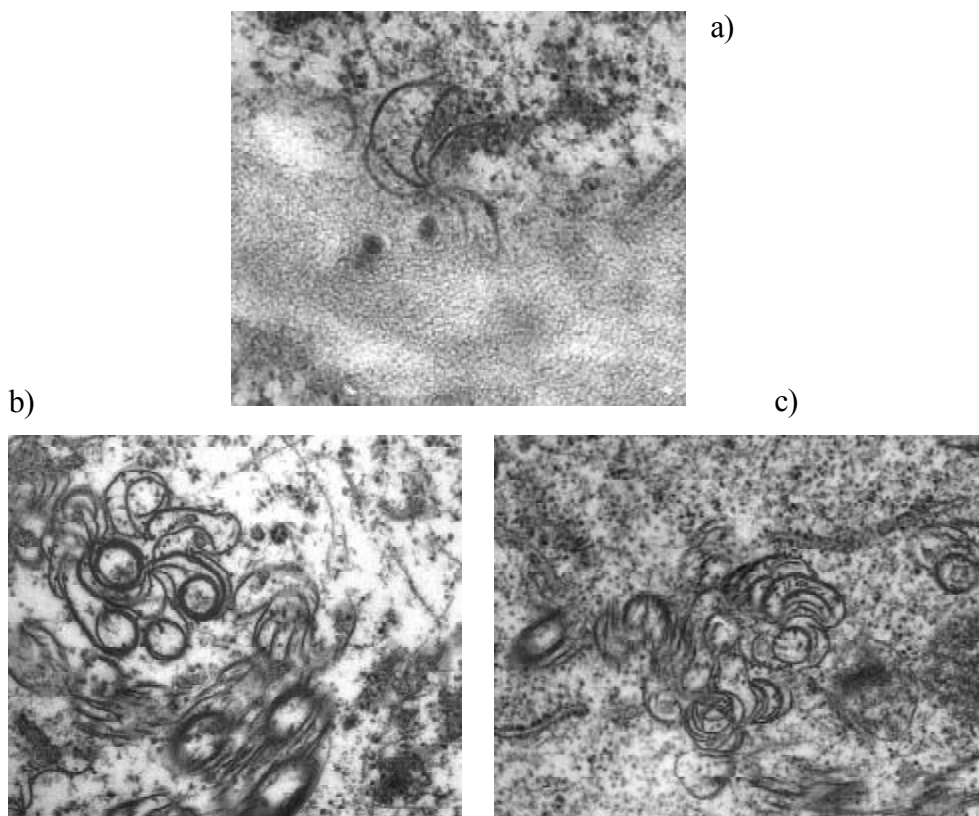
Jednym z podstawowych kryteriów klasyfikacji izolatów PVY są ich właściwości biologiczne, czyli zdolność do porażania gatunków bądź odmian i wywoływania określonych objawów chorobowych. Innym kryterium są właściwości serologiczne określone przy użyciu odpowiednich przeciwciał. Przeciwciała monoklonalne firmy Bioreba (nr 112722) są swoiste względem szczepów PVY<sup>N</sup>. Izolaty, które nie są wykrywalne tymi przeciwciałami zaliczane są do szczepu PVY<sup>NW</sup>. Brak wykrywalności izolatów PVY<sup>NW</sup> przez przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko szczepom nekrotycznym, pomimo nekrotycznych objawów jakie wywołują na tytoniu, wynika z faktu, że powstały one na drodze rekombinacji między szczepami PVY<sup>N</sup> i PVY<sup>0</sup> i posiadają właściwości biologiczne charakterystyczne dla szczepu PVY<sup>N</sup>, a właściwości serologiczne charakterystyczne są dla szczepu PVY<sup>0</sup> (23). Grupę tę wyodrębniono jako oddzielną na 11 konferencji sekcji wirusologicznej EAPR w 2001 roku w Czechach (27).

Izolaty wykrywalne przez przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko typowym szczepom nekrotycznym (nr 112722) zaliczane są do szczepu PVY<sup>N</sup> lub PVY<sup>NTN</sup> (24). Cechą wyróżniającą izolaty należące do PVY<sup>NTN</sup> jest zdolność wywoływania objawów pierścieniowej nekrotycznej choroby bulw ziemniaka (PTNRD; Potato Tuber Necrotic Ringspot Disease) u podatnych odmian ziemniaka w optymalnych warunkach temperatury. Tę grupę izolatów wyodrębniono na konferencji sekcji wirusologicznej EAPR w Hiszpanii w 1992 r. i określono jako PVY<sup>NTN</sup> (ang. Necrotic, Tuber Necrosis).

W 1994 r. PVY<sup>NTN</sup> zidentyfikowano na tytoniu i ziemniaku w Polsce (13). Izolat tytoniowy określony wstępnie jako PVY<sup>NTN</sup>III wykazał zdolności wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka, co potwierdziło jego przynależność do grupy PVY<sup>NTN</sup> (13).

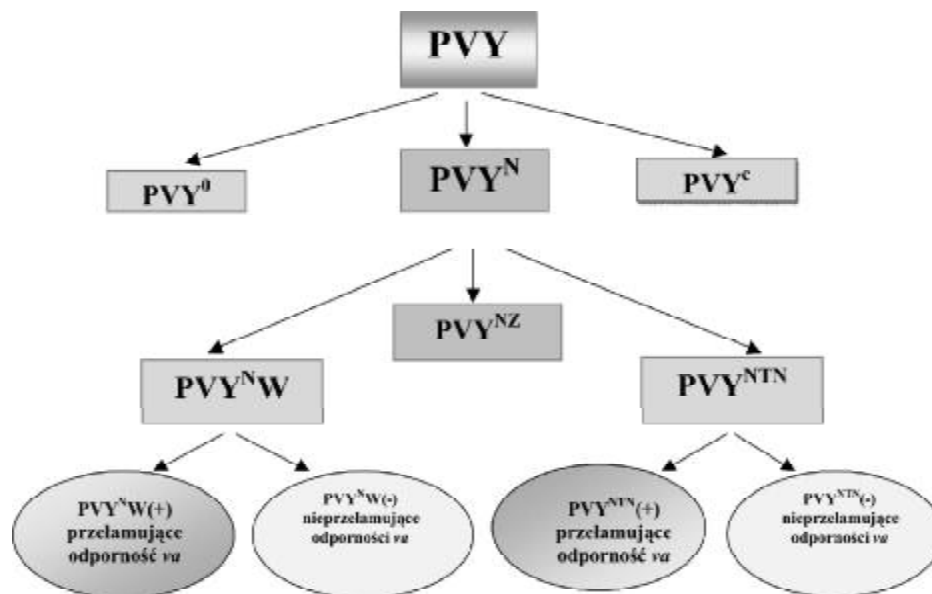
Nekrozę bulw powodowaną przez PVY<sup>NTN</sup> opisano na Węgrzech (3), w Niemczech (38), w Jugosławii (9), Francji (29), Portugalii (42), Japonii (36), Kanadzie i USA (33).

Charakterystyczną cechą PVY, podobnie jak całego rodzaju *Potyvirus*, jest zdolność do wytwarzania cytoplazmatycznych ciałek inkluzyjnych w komórkach zainfekowanych roślin (21). Zróżnicowany kształt ciałek inkluzyjnych rozpoznawanych przy użyciu mikroskopu elektronowego stanowi również jedno z kryteriów taksonomicznych (50). Badania prowadzone dla kilku izolatów tytoniowych o zróżnicowanych właściwościach pozwoliły zaobserwować rodzaje inkluzji białkowych, będących efektem obecności wirusa w zakażonej tkance (16). Izolat należący do grupy PVY<sup>NW</sup> powodował charakterystyczne inkluzje określane jako struktury „pinweel” (rys. 13a). Ciała inkluzyjne w komórkach parenchymy, będące efektem infekcji PVY<sup>NZ</sup>, miały charakter zwojów (rys. 13b). Natomiast bardzo liczne inkluzje w postaci zwojów i ciał osmolitycznych wywołane były przez izolat z grupy PVY<sup>NTN</sup> (rys. 13c).



Rys. 13. Ciała inkluzywne w komórkach parenchymy liści tytoniu, będące efektem zakażenia 3 izolatami z grupy: a) PVY<sup>NW</sup> – struktury wiatraczkowate; b) PVY<sup>NZ</sup> – zwoje; PVY<sup>NTN</sup> – zwoje i ciała osmolityczne

Źródło: Doroszevska T., 1998 (16).



Rys. 14. Klasyfikacja szczepów i izolatów PVY występujących w uprawach tytoniu  
Źródło: Opracowanie własne.

Na podstawie charakterystyki uwzględniającej różne kryteria zaproponowano klasyfikację izolatów PVY ze szczególnym uwzględnieniem cech istotnych dla tytoniu (rys. 14). Najważniejsze znaczenie w uprawie tytoniu mają szczepy nekrotyczne (PVY<sup>N</sup>), wywołujące nekrozy nerwów i często blaszki liściowej; mniejsze znaczenie mają szczepy PVY<sup>0</sup> i PVY<sup>c</sup>. W obrębie PVY<sup>N</sup> wyróżniono trzy szczepy:

**PVY<sup>NZ</sup>** – wykrywalny przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y<sup>N</sup>), nie infekuje ziemniaka, zdolny do przełamania niektórych źródeł odporności tytoniu;

**PVY<sup>NW</sup>** – izolaty zaliczone do tej grupy nie są wykrywalne przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y<sup>N</sup>) i nie wykazują zdolności wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka. W tej grupie znajdują się:

- PVY<sup>NW(va+)</sup> – izolaty przełamujące odporność warunkowaną recesywnym genem określanym jako *va*, obecnym w większości odmian uprawianych w Polsce i w Europie;
- PVY<sup>NW(va-)</sup> – izolaty nieprzełamujące odporności warunkowanej genem *va*;

**PVY<sup>NTN</sup>** – izolaty wykrywalne przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y<sup>N</sup>), zdolne do wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka. Wśród nich stwierdzono:

- PVY<sup>NTN(va+)</sup> – izolaty przełamujące odporność tytoniu warunkowaną genem *va*;
- PVY<sup>NTN(va-)</sup> – izolaty nieprzełamujące odporności warunkowanej genem *va*.

W uprawach tytoniu w Polsce przeważają izolaty PVY<sup>NW</sup>, stanowiąc około 75-85% całej populacji wirusa. Spośród 47 izolatów pozyskanych w latach 1999–2002 z odmian i linii hodowlanych tytoniu, niosących różne źródła odporności, 36 izolatów było wykrywalnych tylko przez przeciwciała MoAbs anti Y, co świadczyło o ich przynależności do PVY<sup>NW</sup>, zaś 11 izolatów zostało wykrytych przez dwa rodzaje przeciwciał, wskazując na ich przynależność do PVY<sup>NTN</sup> (tab. 1). Również zdecydowana większość izolatów (84,7%) pozyskanych w latach 2005–2007, głównie z podatnych



Rys. 15. Nekrozy na bulwach ziemniaka wywołane przez izolat: a) PVY<sup>NTN</sup> (Pu) zebrany z tytoniu uprawianego w Puławach; b) PVY<sup>NTN</sup> (Ha) zebrany na Węgrzech  
Źródło: Doroszevska T., 2004 (17).

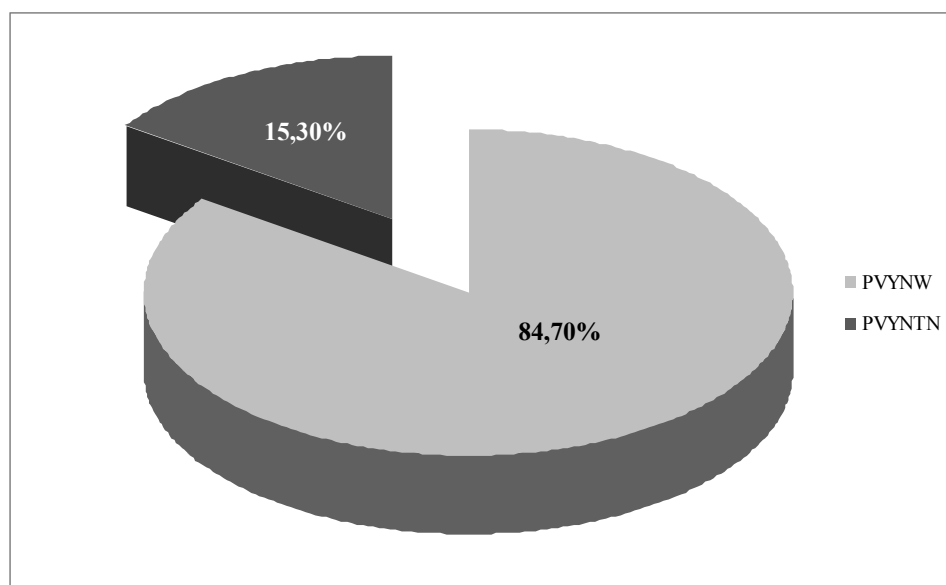
odmian tytoniu, wykazywała charakter PVY<sup>NW</sup> (rys. 16). Podobną sytuację stwierdzono w uprawach ziemniaka w Polsce, gdzie stosunek szczepu PVY<sup>NW</sup> do PVY<sup>NTN</sup> wynosi 80 : 20% (24). W uprawach tytoniu w Niemczech i w Szwajcarii obserwuje się częściej występowanie szczepu PVY<sup>NTN</sup>; udział tych izolatów wynosił odpowiednio 56 i 58% ogółu badanych (rys. 17 i 18).

Uwzględniając zdolność do porażania odmian tytoniu należy stwierdzić, że większość izolatów z grupy PVY<sup>NW</sup> stanowią PVY<sup>NW(va-)</sup>, nieprzełamujące odporności typu *va*. Ostatnie badania wykazały jednak, że niektóre izolaty z grupy PVY<sup>NW</sup> są również zdolne do wywoływania nekroz na odmianach uznawanych wcześniej za odporne – VAM, TN 86, Wiślica i in. (dane własne niepublikowane).

Izolaty należące do grupy PVY<sup>NTN</sup> są wykrywalne przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y<sup>N</sup>), jak też zdolne są do wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka (rys. 15).

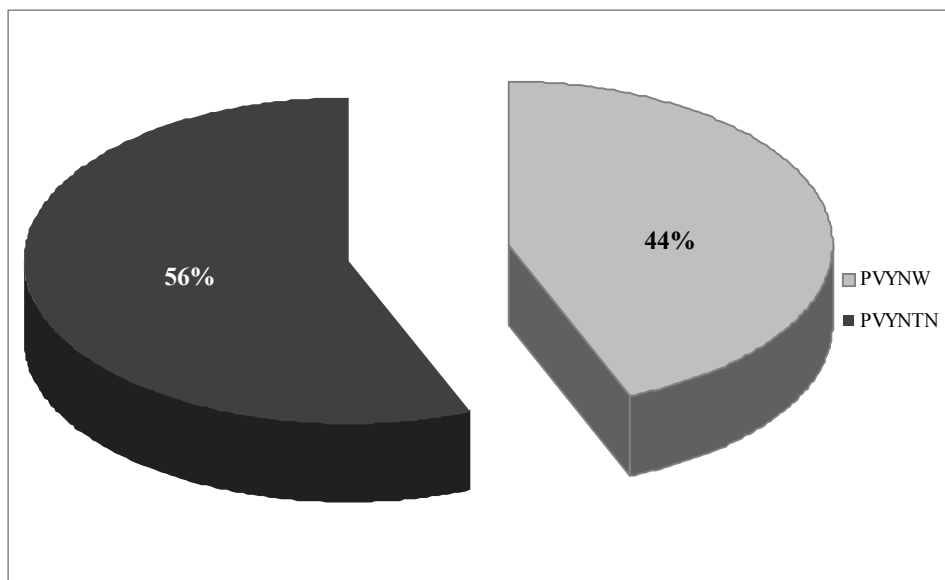
W odróżnieniu od grupy PVY<sup>NW</sup> większość izolatów z grupy NTN wykazuje zdolności przełamania odporności istniejącej w obrębie tytoniu uprawnego, co lokalizuje je w obrębie PVY<sup>NTN(va+)</sup>.

Zaproponowana klasyfikacja szczepów i izolatów PVY opiera się na podstawowych i łatwych do weryfikacji kryteriach. Może być użyteczna dla grupowania nowo pojawiających się izolatów, jak też może uwzględniać rozszerzone kryteria identyfikacji. Prowadzone obecnie badania molekularne nad pokrewieństwem różnych izolatów tytoniowych (dane własne niepublikowane) dostarczają nowych informacji, które zo-



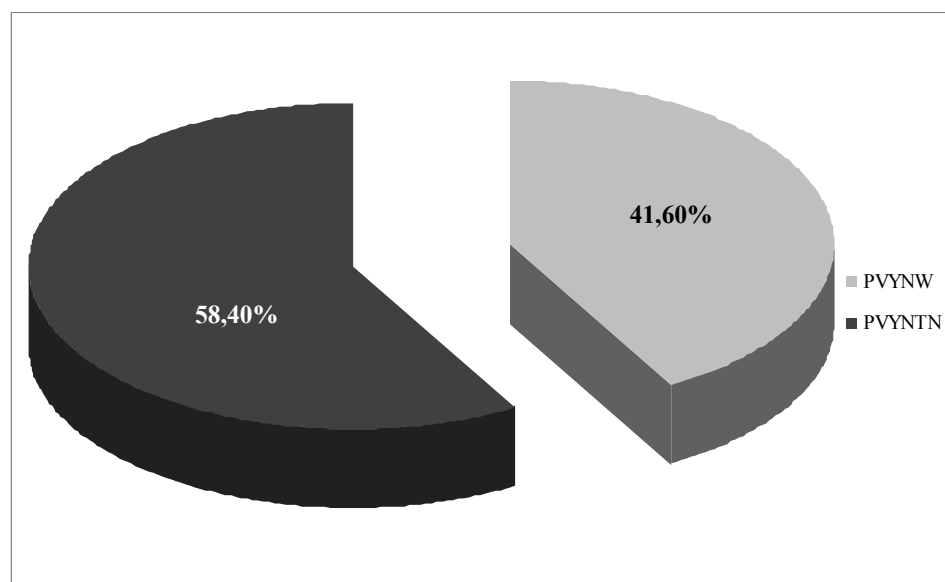
Rys. 16. Udział izolatów PVY należących do poszczególnych grup, pochodzących z tytoniu uprawianego w Polsce

Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 17. Udział izolatów PVY należących do poszczególnych grup, pochodzących z tytoniu uprawianego w Niemczech

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorkę.



Rys. 18. Udział izolatów PVY należących do poszczególnych grup, pochodzących z tytoniu uprawianego w Szwajcarii

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorkę.



staną wykorzystane w proponowanym schemacie klasyfikacji i będą pomocne przy badaniach odpornościowych.

### Podsumowanie

Brunatna nekroza nerwów tytoniu powodowana przez nekrotyczne szczepy wirusa Y ziemniaka (PVY) jest chorobą trudną do zwalczenia i ekonomicznie ważną. Pojawianie się nowych izolatów, zdolnych do infekcji istniejących źródeł odporności w obrębie tytoniu uprawnego, stwarza nowe zagrożenia dla uprawy tej rośliny. Wysoka częstotliwość rekombinacji, jak też mutacje w genomach wirusowych sprawiają, że patogeny te przełamują mechanizmy obronne i szybko dostosowują się do nowych gospodarzy, którymi są odporne odmiany tytoniu. Badania ostatnich lat szeroko prowadzone w kraju i za granicą wskazują, że poziom występowania PVY podlega dużym wahaniom w poszczególnych latach, lecz następuje wzrost udziału izolatów przełamujących odporność tytoniu. Stwierdzono dużą różnorodność w obrębie populacji PVY<sup>N</sup> pod względem właściwości biologicznych i serologicznych izolatów. Na podstawie tych właściwości zaproponowano system klasyfikacji ułatwiający charakteryzowanie i grupowanie izolatów. W uprawach tytoniu w Polsce przeważają izolaty należące do grupy PVY<sup>NW</sup> (ok. 80%) w stosunku do grupy PVY<sup>NTN</sup> (ok. 20%). W obydwu grupach występują izolaty przełamujące główne źródła odporności. Prowadzone badania molekularne dostarczają nowych informacji i zapewne pozwolą na uzupełnienie charakterystyki PVY przydatnej w hodowli odpornościowej.

### Literatura

1. Aranda M.A., Fraile A., Dopazo Malpica J.M., Garcia-Arenal F.: Contribution of mutation and RNA recombination to the evolution of a plant pathogenic RNA. *J. Mol. Evol.*, 1997, **44**: 81-88.
2. Aubert O.: Observations sur le virus de la necrose des nervuras du tabac. Deuxieme Congres Scientifique International du Tabac, Bruksela, 1958, 83-85.
3. Beczner L., Horvath J., Romhanyi I., Forster H.: Studies on etiology of tuber necrotic ring spot disease in potato. *Potato Res.*, 1984, **27**: 339-352.
4. Berbec J.: Wirusowa nekroza (brunatnienie) nerwów liści tytoniu. *Wiad. Tyton.*, 1960, **1(31)**: 237-240.
5. Berger P.: Die Symptomausprägung einiger Virosan auf Tabak unter Freiland und Gewächshausbedingungen. *Berichte des Instituts für Tabakforschung*. Drezno, 1958, **5(1)**.
6. Blancard D., Ano G., Cailleteau B.: Principaux virus affectant le tabac en France. *Ann. Tabac*, 1994, **26**: 39-51.
7. Blancard D., Ano G., Cailleteau B.: Etude du pouvoir pathogène d'isolates de PVY sur tabac: proposition d'une classification intégrant la résistance a la nécrose. *Ann. Tabac*, 1995, **27**: 43-50.
8. Bode O.: Recherches sur le virus de la maladie des cotes brunes du Tabac. Bruksela, 1958, 93-96.
9. Buturović D., Kus M.: The occurrence of potato tuber ring necrotic disease in Yugoslavia. *Virology Sect. Meet. EAPR*, Budrio, Bologna, 1989, 6.

10. Chachulska A.M., Chrzanowska M., Flis B., Krzymowska M., Lipska-Dwuznik A., Robaglia C., Zagorski W.: Potato and tobacco cultivars transformation towards potato virus Y resistance. *Biotechnologia*, 1997, **4(39)**: 48-54.
11. Chachulska A.M.: Potato virus Y phylogeny and engineered virus resistance. Ph.D. thesis. IBB PAN, Warszawa, 1998.
12. Chrzanowska M., Doroszevska T., Zagorska H.: Zróznicowanie izolatów wirusa Y ziemniaka w zależności od kryterium oceny. *Acta Agrobot.*, 2002, **55(1)**: 59-67.
13. Chrzanowska M., Doroszevska T.: Comparison between PVY isolates obtained from potato and tobacco plants in Poland. *Phytopathol. Pol.*, 1997, **13**: 63-71.
14. Chrzanowska M.: Differentiation of potato virus Y (PVY) isolates. *Phytopathol. Pol.*, 1994, **20(8)**: 15-20.
15. Dolja V.V., Haldeman R., Robertson N.L., Dougherty W.G., Carrington J. C.: Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of tobacco etch potyvirus in plants. *EMBO J.*, 1994, **13**: 1482-1491.
16. Doroszevska T., Chrzanowska M., Garbaczewska G.: PVY isolates collected from tobacco characterized by serological biological and cytological methods. EAPR Virology Section Meeting. Schriftenreihe des BFL, 1999, **25**: 73-83.
17. Doroszevska T.: Krzyżowanie oddalone i transformacja genetyczna w uzyskiwaniu odporności tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) na wirusa Y ziemniaka (PVY). Monogr. Rozpr. Nauk., IUNG Puławy, 2004, **9**.
18. Doroszevska T.: Sub-Group Collaborative Study on Potato Virus Y. Annual Subgroup Report 2007, CORESTA CD-ROM Version N°26.
19. Dougherty W.G., Carrington J. C.: Expression and function of potyviral gene products. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 1988, **26**: 123-143.
20. Drake J. W.: Role of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, **90**: 4171-4175.
21. Edwardson J. R., Christie R. G., Ko N. J.: Potyvirus cylindrical inclusions – subdivision IV. *Phytopathology*, 1984, **74**: 1111-1114.
22. Gajos Z.: Silnie wirulentny szczep wirusa Y na tytoniu w Polsce, jego występowanie i właściwości w porównaniu ze szczepami nekrotycznym i zwykłym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 1971, **115**: 87-98.
23. Glais L., Tribodet M., Kerlan C.: 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>0</sup> and PVY<sup>N</sup> isolates. *Arch. Virol.*, 2002, **147**: 363-378.
24. Golnik K., Syller J., Chrzanowska M., Sztangret-Wiśniewska J.: Metody identyfikacji szczepów wirusa Y ziemniaka. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl.*, 2007, **47(2)**: 94-96.
25. Gooding G. V. Jr., Lapp N. A.: Distribution, incidence and strains of potato virus Y in North Carolina. *Tob. Sci.*, 1980, **24**: 89-92.
26. Gooding G. V. Jr.: Relationship between strain of potato virus Y and breeding for resistance cross protection, and interference. *Tob. Sci.*, 1985, **29**: 99-104.
27. Kerlan C., Chrzanowska M., Gais L., Fremondiere G., Tribodet M.: Biological and molecular characterization of various PVY<sup>NW</sup> isolates. 11<sup>th</sup> EAPR Virol. Sec. Meet., Trest, Czech Republic, 2001, 1-3.
28. Klinkowski M., Schmelzer K.: A necrotic type of potato virus Y. *Amer. Potato J.*, 1960, **37**: 221-229.
29. LeRomancer M., Kerlan C.: La maladie des necroses annulaires superficielles des tubercules: une affection de la pomme de terre due au virus Y. *Agronomie*, 1991, **11**: 889-900.
30. Lucas G. B.: Diseases of tobacco. Biological Consulting Associates. Raleigh, North Carolina, 1975.
31. Marte M., Belleza G.: Potatoes and tobacco stalks as sources of Potato virus Y in central Italy. *Phytopath. Medit.*, 1988, **27**: 169-172.

32. McDonald J. G., Kristjansson G.T.: Properties of strains of potato virus Y<sup>N</sup> in North America. *Plant Dis.*, 1993, **77**: 87-89.
33. McDonald J. G., Singh R. P.: Response of potato cultivars to North American Isolates of PVY<sup>NTN</sup>. *Amer. Potato J.*, 1996, **73**: 317-323.
34. Nagy G.: Breeding tobacco in Hungary for resistance to PVY. PVY Conference 13-14 September. ULTP, Hungary, 1999.
35. Nobrega N. R., Silberschmidt K.: On a suspected variant of the potato virus Y (*Solanum virus 2*, Orton), which causes necrosis on tobacco plants. *Arg. Inst. Biol. S. Paulo.*, 1944, **15**: 307-330.
36. Ohshima K., Sako K., Hiraishi C., Nakagawa A., Matsuo K., Ogawa T., Shikata E., Sako N.: Potato tuber necrotic ringspot disease occurring in Japan: Its association with *Potato virus Y* necrotic strain. *Plant Disease*, 2000, 1109-1115.
37. Powell Abel P., Nelson R. S., Barun D., Hoffmann N., Rogers S. G., Fraley R. T., Beachy R. N.: Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 1986, **232**: 738-743.
38. Radtke W.: Schwellungen an Kartoffelknollen beobachtet Ursache unbekannt. *Kartoffelbau*, 1984, **35(1)**: 24-25.
39. Ramirez B. C., Barbier P., Seron K., Haenni A. L., Bernardi F.: Molecular mechanisms of point mutations in RNA viruses. In: Gibbs A. J., Calisher C. H., Garcia-Arenal F.: *Molecular basis of evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, 1994, 105-118.
40. Revers F., Le Gall O., Candresse T., Dunez J.: Evidence for the frequent occurrence of recombinant potato virus Y isolates. *Ann. Tabac*, 1995, **27**: 65-71.
41. Robaglia C., Durand-Tardif M., Tronchet M., Boudazin G., Astier-Manificier S., Casse-Delbart F.: Nucleotide sequence of Potato Virus Y (N strain) demonic RNA. *J. Gen. Virol.*, 1989, **70**: 935-947.
42. Serra M. C.: First report of potato tuber necrotic ringspot disease caused by PVY<sup>NTN</sup> in Portugal. *Plant Disease*, 1997, **81(6)**: 694.
43. Shukla D. D., Ward C. W., Brunt A. A.: *The Potyviridae*. CAB International. Wallingford, Oxfordshire, UK, 1994.
44. Smith K. M.: On the composite nature of certain Potato virus disease of the mosaic group as revealed by the use of plants indicators. *Proc. Roy. Soc. London*, 1931, B **109**: 251-266.
45. Verrier J. L., Marchand V., Cailleteau B., Delon R.: Chemical change and cigarette smoke mutagenity increase associated with CMV-DTL and PVY-N infection in burley Tobacco. *Inf. Bull. CORESTA*, Cape Town, 2001, 1.
46. Verrier J. L., Doroszevska T.: The PVY collaborative experiment 1966–2002: a global synthesis of results. CORESTA CD-ROM Version N 20.
47. Voelk J.: Transmission de la souche du virus Y responsable de la maladie des cotes brunes. *Deuxieme Congres Scientifigque International du Tabac*, Bruksela, 1958, 150-155.
48. Vorster L. L., Kotze J. M.: Strains of potato virus Y affecting tobacco in South Africa. *Phytophylactica*, 1986, **18(1)**: 48.
49. Vorster L. L.: The differentiation and distribution of potato virus Y strains isolated from tobacco in South Africa. *Masters Abstr. Int.*, 1987, **25(3)**: 268.
50. Ward C. W., Shukla D. D.: Taxonomy of potyviruses: current problems and some solutions. *Intervirology*, 1991, **32**: 269-296.
51. Ward C. W., Weiller G. F., Shukla D. D., Gibbs A.: Molecular systematic of the *Potyviridae*, the largest plant virus family. In: Gibbs A. J., Calisher C. H., Garcia-Arenal F.: *Molecular basis of evolution*. Cambridge University Press, 1994, 477-500.
52. Wen C., Wu Y., Li H., Wang H., Liu Q.: Influences on photosynthesis and respiration of tobacco infected by potato Virus Y – vein necrosis strain. *Bull. Inf. CORESTA*. Suzhou, China, 1999, 10-11.
53. Yamamoto Y., Sato M.: Evaluation and genetic analysis of potato virus Y resistance of domestic Japanese tobacco. *SABRAO J.*, 1982, **14**: 47-51.

## Adres do korespondencji:

*doc. dr hab. Teresa Doroszevska*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel.: 081 886 34 21 w. 216*  
*e-mail: [dorter@iung.pulawy.pl](mailto:dorter@iung.pulawy.pl)*