Wpływ Ethrelu na wykrywanie wirusa Y ziemniaka (PVY^o) w pierwotnie porażonych roślinach ziemniaka*

MARIAN STASZEWICZ

Zakład Fizjologii Roślin, Uniwersytet M. Kopernika ul. Gagarina 9, 87-100 Toruń

(Otrzymano dn. 27.02.1987)

M. Staszewicz (*Department of Plant Physiology, Nicolaus Copernicus University, ul. Gagarina 9, 87-100 Toruń, Poland*) Acta Agrobotanica 41 (2): 257-264, 1988.

The effect of Ethrel on detection of potato virus Y (PVY^o) in primarily infected potato plants

Abstract

The effect of ethylene (in the form of Ethrel) on the detection of PVY^o in cv. Kaszubski potatoes primarily infected in field conditions, was studied. The plants were inoculated with PVY^o and sprayed with Ethrel at a concentration of 100 mg/dm³, 10 cm³ of solution were used per plant. The concentration of the active ingredient, CEPA, in this amount of solution was 1 mg/plant. The extinction value and PVY^o detection were assessed in the leaf and tuber juices from Ethrel-treated plants and control variant. The ELISA test was used. The results were subjected to statistical analysis and the average deviation at $P = 0.05$ was calculated.

It was shown that Ethrel lowered the value of extinction and decreased PVY^o detection in the leaves and tubers of potato plants of the Kaszubski variety primarily infected in field conditions.

WSTĘP

Informacje zawarte w literaturze odnośnie do reagowania wirusów roślinnych na etylen są skąpe. Badano wpływ tego związku na TMV lub CMV w roślinach różniących się odpornością na infekcję (Cheo, 1971; Barnett i Wood, 1978). Autorzy ci opryskiwali Ethrelem (związek wyzwalaający etylen) rośliny zakażone tymi wirusami i wykazali, że namnażanie TMV i CMV ulegało podwyższeniu u roślin odpornych, a obniżeniu u roślin podatnych. Schuster (1980) wykazał, że etylen zastosowany w formie Camposanu (preparat wyzwalaający etylen), którym opryskiwano zakażony TMV lub PVX

* Praca była finansowana w ramach problemu CBBP 05.02.

tytoń *Nicotiana tabacum* (Samsun), obniżył koncentrację tych wirusów w zależności od stężenia preparatu.

Celem doświadczenia było poznanie wpływu Ethrelu na wykrywanie PVY w ziemniakach porażonych pierwotnie tym wirusem w warunkach polowych.

Przypuszczano, że w ziemniakach opryskiwanych Ethrelem może zmniejszyć się wykrywanie PVY poprzez możliwy wpływ etylenu na dojrzewanie i starzenie się roślin, co może decydować o pojawieniu się odporności związanej z wiekiem.

MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano w 1986 r. w Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym Uniwersytetu M. Kopernika w Toruniu.

Materiał doświadczalny stanowiły ziemniaki odmiany Kaszubski. Zdrowe, skielkowane bulwy tej odmiany posadzono w dniu 2 maja i utworzono dwa poletka — po 15 roślin — które oddzielono obsadą złożoną ze zdrowych ziemniaków.

W dniu 17 czerwca — 21 dni po pełni wschodów — rośliny inokulowano szczepem zwykłym wirusa Y ziemniaka (PVY°).

Inokulum przygotowano z soku zawierającego PVY° rozcieńczonego 0,05 M buforem fosforanowym o pH 7,5. Inokulowano kilkułodygowe rośliny, które przed inokulacją obsypywano karborundem. Z każdej łodygi rośliny inokulowano od 2 do 4 listków szczytowych.

Źródłem etylenu był preparat Ethrelu zawierający substancję czynną CEPA (kwas 2-chloroetylofosfonowy) w ilości 474 g/dm³. Z preparatu tego sporządzono roztwór o stężeniu 100 mg/dm³ i opryskiwano nim grupę 15 roślin. Opryskiwanie wykonano jednorazowo w trzecim dniu po inokulacji. Do opryskiwania 1 rośliny zużywano 10 cm³ roztworu. Stężenie substancji czynnej w tej objętości roztworu wynosiło 1 mg/roślinę.

Wybór takiego stężenia ustalono w doświadczeniach wstępnych z zastosowaniem Ethrelu na ziemniaki uprawiane w polu, w których obserwowano, że opryskiwanie ziemniaków Ethrelem w stężeniach przekraczających 100 mg/dm³ i dawkach substancji czynnej powyżej 1 mg/roślinę powodowało wędnięcie i żółknięcie liści oraz karłowatość roślin.

Grupa 15 roślin nieopryskiwanych Ethrelem stanowiła kombinację kontrolną.

W piątym tygodniu po inokulacji porównywano wpływ Ethrelu na wykrywanie PVY° i wartości ekstynkcji w próbkach soku z liści roślin opryskiwanych oraz z roślin kontrolnych. Testowano sok wydzielony z każdej z 15 roślin opryskanych Ethrelem oraz z roślin kontrolnych. Próbkę soku z rośliny uzyskiwano z wspólnej próby liści złożonej z pojedynczych listków szczytowych zebranych z łodyg rośliny.

Bulwy z roślin zbierano 28 lipca. Z roślin opryskanych Ethrelem oraz

z roślin kontrolnych pobierano po 2 bulwy łącząc je w grupy po 30 bulw, które do czasu testowania przechowywano w temperaturze $+5^{\circ}\text{C}$. Testowano próbki soku wydzielone z każdej z 30 bulw pochodzących z roślin opryskanych Ethrelem oraz z roślin kontrolnych. Porównywano wykrywanie PVY^o i wartości ekstynkcji w próbkach soku wydzielonych z dwóch części bulwy: wierzchołkowej i przystolonowej. Testowano sok z zewnętrznych tkanek bulwy (Prochal. 1953; Swiniarski i in., 1971).

Wpływ Ethrelu na wykrywanie PVY^o i wartości ekstynkcji wskazujące pośrednio na koncentrację wirusa w próbkach soku z liści oraz próbkach soku z bulw wyceniano metodą ELISA (Clark i Adams, 1977). Odczynniki IgG i koniugat enzymu przygotowano zgodnie z opisem podanym przez Staszewicza (1984).

Wyniki analizowano statystycznie obliczając średni błąd średniej arytmetycznej przy $P = 0,05$.

WYNIKI I DYSKUSJA

Załączone w tabeli 1 wyniki badania roślin podczas ich wegatacji w polu wykazały, że średnia wartość ekstynkcji dla soku z liści roślin opryskanych Ethrelem była mniejsza, a zakres ekstynkcji był węższy niż dla roślin

Tabela 1 — Table 1

Wpływ Ethrelu na pomiar ekstynkcji (E 405) w liściach roślin ziemniaka odmiany Kaszubski porażonych pierwotnie PVY^o i badanych w piątym tygodniu po zakażeniu
The effect of Ethrel on the value of extinction (E 405) in the leaves of cv. Kaszubski potato plants primarily infected with PVY^o and tested in the fifth week after infection

Rośliny Plants	Wartość ekstynkcji w próbkach z liści Values of extinction in leaf samples	
	E 405	Zakres E 405 E 405 range
Traktowane Ethrelem Ethrel-treated	$0,003 \pm 0,001^*$	0,001 — 0,010
Kontrolne Control	$0,040 \pm 0,033^*$	0,001 — 0,188

* Istotna różnica pomiędzy wartością ekstynkcji próbek soku z liści roślin traktowanych Ethrelem a liśćmi z roślin kontrolnych wystąpiła przy $P = 0,05$ dla $n = 15$.

* A significant difference between the values of extinction of juice from Ethrel-treated plants and control plants occurred at $P = 0,05$ for $n = 15$.

kontrolnych. Obliczony średni błąd przy $P = 0,05$ dla soku z liści roślin opryskanych Ethrelem oraz dla roślin kontrolnych wykazał, że ekstynkcja u roślin traktowanych Ethrelem była istotnie mniejsza. Obniżenie ekstynkcji soku z roślin opryskanych Ethrelem może wskazywać, że również ekstynkcja PVY^o mogła ulec zmniejszeniu.

Uzyskane wyniki można tłumaczyć występowaniem u ziemniaków odporności związanej z wiekiem (Beemster, 1972; Hunnius, 1977; Kozłowska, 1980; Gabriel, 1985).

Można sądzić, że wzajemna zależność między odpornością związaną z wiekiem a PVY^o mogła być stymulowana przez wyzwolony w roślinach etylen, który wpływa na starzenie się liści (Fraser i Whenham, 1982). Etylen mógłby pośrednio oddziaływać na PVY^o inicjując fizjologiczne zmiany wpływające na odporność roślin, co może powodować osłabienie namnażania wirusa i obniżenie jego ekstynkcji.

Rys. 1. Wpływ Ethrelu na koncentrację PVY^o w porażonych pierwotnie bulwach ziemniaka odmiany Kaszubski

Fig. 1. The effect of Ethrel on concentration of PVY^o in primarily infected tubers of tomato plants cv. Kaszubski

Załączone w tabeli 2 wyniki wskazują, że w liściach z roślin opryskanych Ethrelem nie wykryto PVY^o. Można przypuszczać, że zastosowane stężenie Ethrelu i ilość substancji czynnej dostarczona roślinie mogła mieć wpływ na zmniejszenie serologicznej aktywności białka wirusa do poziomu uniemożliwiającego jego wykrycie w liściach.

W tabeli 3 podano wyniki dotyczące pomiarów wartości ekstynkcji w bulwach (patrz też rys. 1). Obliczony średni błąd przy $P = 0,05$ wykazał, że w soku wydzielonym z dwóch części bulwy: wierzchołkowej i przystolonowej istotnie mniejszą ekstynkcję w każdej z tych części bulwy wyceniono w bul-

Tabela 2 — Table 2

Wpływ Ethrelu na wykrywanie PVY^o w liściach roślin ziemniaka odmiany Kaszubski porażonych pierwotnie i badanych w piątym tygodniu po zakażeniu

The effect of Ethrel on the detection of PVY^o in the leaves of primarily infected cv. Kaszubski potato plants tested in the fifth week after infection

Rośliny Plants	Liczba reakcji w próbkach z liści Number of reactions in the leaf samples	
	dodatnie positive	ujemne negative
Traktowane Ethrelem Ethrel-treated	0	15
Kontrolne Control	4*	11

* Graniczną wartość ekstynkcji (E 405) dla soku z liści roślin zdrowych oszacowano na poziomie 0,05, a odczyt przekraczający ją uznawano za dodatni wynik próby.

* The limit extinction (E 405) value for leaf juices from healthy plants was set at 0.05, readings exceeding that value were considered positive.

Tabela 3 — Table 3

Wpływ Ethrelu na pomiar ekstynkcji (E 405) w części wierzchołkowej i przystolonowej bulw ziemniaka odmiany Kaszubski porażonych pierwotnie PVY^o i badanych w trzecim miesiącu po zbiorze bulw

The effect of Ethrel on the value of extinction (E 405) in the apical and parastolon parts of cv. Kaszubski potato tubers infected with PVY^o and tested in the third month after harvest

Rośliny Plants	Wartość ekstynkcji w próbkach z bulw — część bulwy Extinction values in tuber samples — tuber part			
	wierzchołkowa apical		przystolonowa parastolon	
	E 405 E 405	zakres E 405 E 405 range	E 405 E 405	zakres E 405 E 405 range
Traktowane Ethrelem Ethrel-treated	0,050 ± 0,014*	0,010-0,199	0,039 ± 0,016*	0,007-0,199
Kontrolne Control	0,126 ± 0,013*	0,053-0,360	0,101 ± 0,027*	0,061-0,237

* Istotna różnica pomiędzy wartością ekstynkcji dla próbek soku z części wierzchołkowej i przystolonowej bulw z roślin traktowanych Ethrelem a bulwami z roślin kontrolnych wystąpiła przy $P = 0.05$ dla $n = 30$.

* A significant difference between the extinction values of juice samples from the apical and parastolon parts of Ethrel-treated and control plants appeared at $P = 0.05$ for $n = 30$.

wach z roślin traktowanych Ethrelem. Opryskanie roślin Ethrelem nie wpłynęło na rozmieszczenie PVY^o w bulwie, a większe ilości tego wirusa wystąpiły w wierzchołkowej części bulwy.

Podobne wyniki wskazujące na zróżnicowaną koncentrację PVY uzyskano w badaniach prowadzonych na bulwach lub na kielkach wyprowadzonych z bulw (Gugerli, 1978; Gugerli i Gehringer, 1980). Na niewyrównaną koncentrację i rozmieszczenie wirusów w części wierzchołkowej i przystolonowej bulwy wskazują wyniki uzyskane dla PVY (Vetten i in., 1983) lub dla PVX (Gondek, 1951).

Wyniki podane w tabeli 4 wskazują, że liczba reakcji dodatnich w części wierzchołkowej i przystolonowej bulw z roślin traktowanych Ethrelem była mniejsza niż w bulwach kontrolnych. Na podstawie tych wyników można sądzić, że przyczyną słabszego wykrywania PVY^o w bulwach z roślin opryskanych Ethrelem, w porównaniu do bulw kontrolnych, były mniejsze wartości ekstynkcji w próbkach soku.

Tabela 4 — Table 4

Wpływ Ethrelu na wykrywanie PVY^o w części wierzchołkowej i przystolonowej bulw ziemniaka odmiany Kaszubski porażonych pierwotnie i badanych w trzecim miesiącu po zbiorze bulw
The effect of Ethrel on the detection of PVY^o in the apical and parastolon parts of cv. Kaszubski potato tubers primarily infected and tested in the third month after harvest

Rośliny Plants	Liczba reakcji w próbkach z bulw — część bulwy Number of reactions in tuber samples — tuber part			
	wierzchołkowa apical		przystolonowa parastolon	
	dodatnie positive	ujemne negative	dodatnie positive	ujemne negative
Traktowane Ethrelem Ethrel-treated	3*	27	1*	29
Kontrolne Control	14*	16	7*	23

* Graniczną wartość ekstynkcji (E 405) dla soku z bulw roślin zdrowych oszacowano na poziomie 0,1, a odczyt przekraczający ją uznawano za dodatni wynik próby.

* The limit extinction value (E 405) for juice from healthy tubers was set at 0.1, readings exceeding this value were considered positive.

W próbkach soku ze zdrowych bulw otrzymywano nieraz wartości ekstynkcji przekraczające graniczny poziom określony dla soku z liści zdrowych roślin. Na większe wartości ekstynkcji występujące w soku z bulw niż w soku z liści roślin zdrowych wskazują też Hill i Jackson (1984).

Przy wykrywaniu PVY^o w bulwach notowano przypadki wykrycia wirusa

w jednej z obu badanych części bulwy. Niezgodności takie mogą być spowodowane nieregularnym rozmieszczeniem PVY i jego szczepów w bulwie (Beemster, 1967; Jemiołkowska, 1960; Arenz i Hunnius, 1961). Gabriel (1967) podał, że u ziemniaków istnieje specyficzna odporność na przenikanie wirusów do bulw.

Biorąc pod uwagę przytoczone prace i odnosząc je do badań własnych przeprowadzonych na bulwach można sądzić, że opryskanie Etrelem roślin ziemniaka mogło przyczynić się do zwiększenia odporności bulw na porażenie PVY°.

STRESZCZENIE

Badano wpływ etylenu stosowanego w formie Ethrelu na wykrywanie PVY° w ziemniakach odmiany Kaszubski porażonych pierwotnie w warunkach polowych.

Rośliny inokulowano PVY° i opryskiwano Ethrelem o stężeniu 100 mg/dm³. Do opryskiwania 1 rośliny zużyto 10 cm³ roztworu. Stężenie substancji czynnej CEPA w tej objętości roztworu wynosiło 1 mg/roślinę.

Wyceniano wartości ekstynkcji i wykrywanie PVY° w soku z liści oraz w soku z bulw roślin traktowanych Ethrelem oraz w kombinacji kontrolnej.

Badania wykonano metodą ELISA. Wyniki analizowano statystycznie obliczając średni błąd przy $P = 0,05$.

Wykazano, że Ethrel obniżył wartości ekstynkcji i zmniejszył wykrywanie PVY° w liściach i w bulwach roślin ziemniaka odmiany Kaszubski porażonych pierwotnie w warunkach polowych.

LITERATURA

- Arenz B., Hunnius W., 1961. Weitere Untersuchungen über die Sortenresistenz gegen verschiedene Y-Virusstammgruppen. *Züchter* 31: 281-287.
- Barnett A., Wood K. R., 1978. Influence of actinomycin D, ethephon, cycloheximide and chloramphenicol on the infection of resistant and a susceptible cucumber cultivar with cucumber mosaic virus (Price's No. 6 strain). *Physiol. Plant Path.* 12: 257-277.
- Beemster A. B. R., 1967. Partial infection with potato virus Y^N of tubers from primarily infected potato plants. *Neth. J. Pl. Path.* 73: 161-164.
- Beemster A. B. R., 1972. Virus translocation in potato plants and mature plant resistance. [In:] *Viruses of potatoes and seed-potato production*. Bokx J. A. de (ed.), Pudoc, Wageningen, ss. 144-151.
- Cheo P. C., 1971. Effect of plant hormones on virus-replicating capacity of cotton infected with tobacco mosaic virus. *Phytopath.* 61: 869-872.
- Clark M. F., Adams A. N., 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Fraser R. S. S., Whenham R. J., 1982. Plant growth regulators and virus infection: A critical review. *Plant Growth Regulation* 1: 37-59.
- Gabriel W., 1967. Nasiennictwo ziemniaka. PWRiL, Warszawa, ss. 415.
- Gabriel W., 1985. Biologia ziemniaka. PWN, Warszawa, ss. 455.
- Gondek J., 1951. Potato tuber health control in the light of investigation on the distribution of the virus X in potato sprouts and stems. *C. r. mens. Cl. mathem. nat. Acad. Pol.* 5/10 wyd. 1952 ss. 27.

- Gugerli P., 1978. The detection of two potato viruses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Phytopath. Z.* 92: 51-56.
- Gugerli P., Gehringer W., 1980. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of potato leafroll virus and potato Y virus in potato tubers after artificial break of dormancy. *Potato Res.* 23: 353-359.
- Hill S. A., Jackson E. A., 1984. An investigation of the reliability of ELISA as practical test for detecting potato leaf roll virus and potato virus Y in tubers. *Plant Path.* 33: 21-26.
- Hunnius W., 1977. Virusbekämpfung in Kartoffelbau. *Z. Pflkrankh. u. Pfl-Schutz* 84: 615-637.
- Jemiołkowska B., 1960. Wirulencja wirusa Y w różnych odmianach i rodach ziemniaka hodowli krajowej. *Biul. IHAR* 5/6: 17-22.
- Kozłowska A., 1980. Wirusy roślinne. PWN, Warszawa, ss. 380.
- Prochal P., 1953. Rozmieszczenie utajonego wirusa X w bulwie ziemniaczanej. *Acta Agrob.* 1: 33-77.
- Schuster G., 1980. Die Wirkung von Camposan (Ethephon) auf Pflanzenviren. *Tag-Ber. Akad. Landwirtsch.-Wiss. DDR. Berlin*, 179: 347-353.
- Staszewicz M., 1983. Application of the ELISA assay for detection of potato virus Y in potato plants. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 298: 209-217.
- Swiniarski E., Nowak J., Staszewicz M., 1971. Serologiczne wykrywanie wirusów X, S, M i Y w bulwach ziemniaka. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 115: 77-86.
- Vetten H. J., Ehlers U., Paul H. L., 1983. Detection of potato virus A and Y in tubers by Enzyme-linked Immunosorbent Assay after natural and artificial break of dormancy. *Phytopath. Z.* 107: 37-46.