

Wpływ obcej cytoplazmy na odporność tytoniu na wirusa Y ziemniaka

Anna Czubacka*, Anna Depta

Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin, ul. Krańcowa 8, Puławy,

*annacz@iung.pulawy.pl



Wprowadzenie

Kolekcja odmian uprawnych tytoniu gromadzona i utrzymywana w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach obejmuje m. in. formy cytoplazmatycznie męskoosterylne (cms). Pierwsze formy cms zostały włączone do kolekcji w latach 70-tych XX wieku. Zostały one otrzymane w oparciu o genotyp jądrowy odmiany Zamojska 4.

Część z nich jest efektem prac hodowlanych prowadzonych w IUNG, inne zostały otrzymane od ośrodków naukowych z Rosji i Zimbabwe. Formy te są tworzone w celu ochrony prawa hodowcy do odmiany, ponieważ sterylność roślin zapobiega nieautoryzowanej produkcji nasion. Cytoplazmatyczna męska sterylność jest wynikiem mutacji w genomie cytoplazmatycznym albo powstaje na skutek zastąpienia cytoplazmy natywnej, cytoplazmą pochodzącą z innego gatunku. Zmiany te prowadzą do utraty płodności w wyniku wystąpienia niezgodności pomiędzy genomem jądrowym i cytoplazmatycznym. Cytoplazmatyczna męska sterylność jest dziedziczona po formie matecznej. Formy cms są morfologicznie zbliżone do odmiany wyjściowej. Obserwowane różnice dotyczą zwykle budowy organów generatywnych męskich (Doroszevska i in., 2009). Jednak obca cytoplazma może wpływać także na inne cechy roślin, takie jak np. poziom odporności na choroby. Aby określić wpływ obcej cytoplazmy na odporność form cms tytoniu na wirusa Y ziemniaka (PVY) wykonano doświadczenie z zastosowaniem sztucznej inokulacji w warunkach kontrolowanych.

Materiały i metody

Materiał badań stanowił tytoń szlachetny (*Nicotiana tabacum*) odmiany Zamojska 4 oraz jej formy cytoplazmatycznie męskosterylne z cytoplazmą pochodzącą od gatunków dzikich z rodzaju *Nicotiana*:

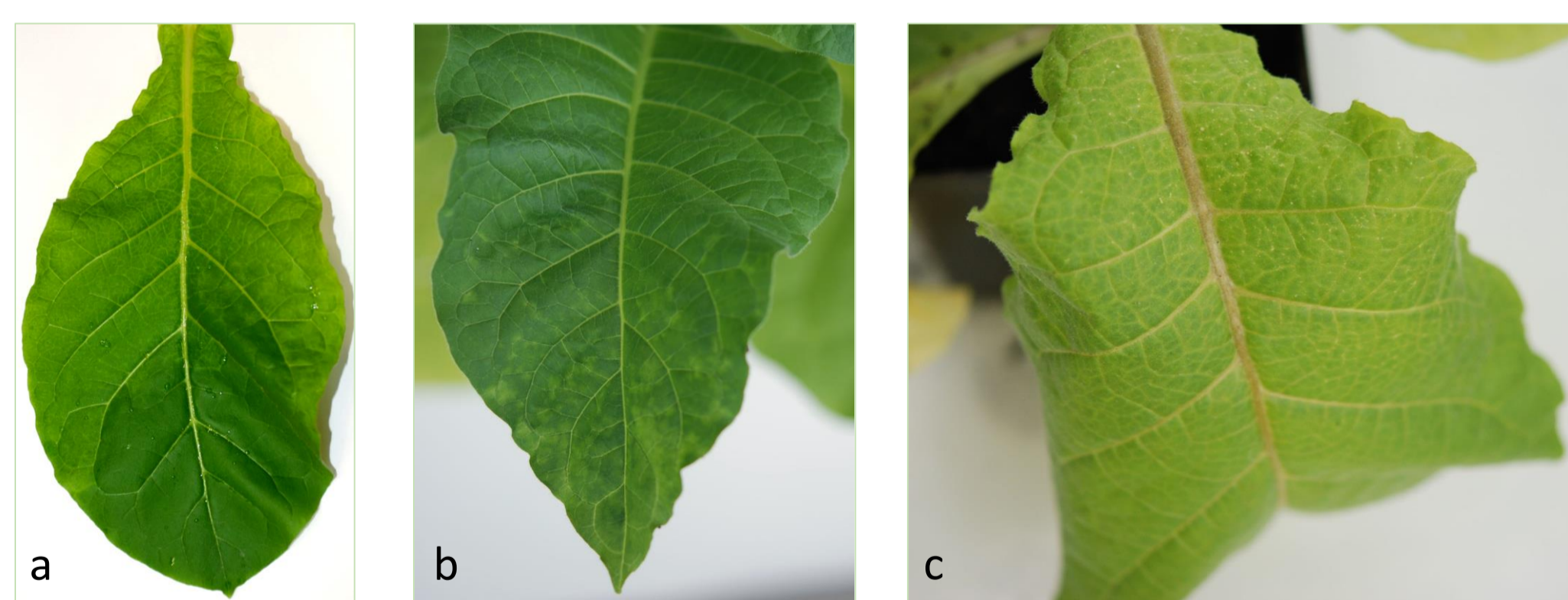
- Zamojska 4 cms *amplexicaulis*
- Zamojska 4 cms *debneyi*
- Zamojska 4 cms *eastii*
- Zamojska 4 cms *exigua*
- Zamojska 4 cms *glauca*
- Zamojska 4 cms *glutinosa*
- Zamojska 4 cms *knightana*
- Zamojska 4 cms *occidentalis*
- Zamojska 4 cms *rai-2*
- Zamojska 4 cms *raimondii*
- Zamojska 4 cms *suaveolens*
- Zamojska 4 cms *undulata*

oraz forma Zamojska 4 cms *tabacum* z cytoplazmą mutantą otrzymanego w obrębie gatunku *N. tabacum*.

Testy odpornościowe na wirusa Y ziemniaka przeprowadzono w warunkach fitotronowych. Wszystkie badane obiekty inokulowano dwoma izolatami wirusa, po 10 roślin każdym z izolatów. Użyto izolat zdolny do przełamania odporności typu *va* obecny w odmianie Wiślica (PVY1) oraz taki, który tej odporności nie przełamuje (PVY2). Systematycznie prowadzono obserwacje objawów chorobowych, a po 3 tygodniach wykonano testy serologiczne metodą DAS-ELISA z użyciem specyficznych przeciwciał. Za odporne uznano rośliny bez objawów chorobowych, w których tkankach nie wykryto obecności wirusa.

Wyniki

Inokulacja odmiany Zamojska 4 izolatami PVY1 spowodowała wystąpienie przejaśnień nerwów liści (ryc. 1a) i chlorotycznych plam (ryc. 1b) widocznych na blaszce liściowej, natomiast izolat PVY2 przyczynił się do powstania silnych przejaśnień nerwów. Formy cytoplazmatycznie męskosterylne zareagowały podobnymi objawami.



Ryc. 1. Objawy chorobowe po inokulacji PVY: a) przejaśnienia nerwów; b) chlorotyczne plamy; c) nekrozy nerwów

Ponadto w przypadku form cms *amplexicaulis* i cms *debneyi* w wyniku zakażenia izolatami PVY1 odnotowano wystąpienie nekrotycznych zmian drobnych nerwów bocznych. Na pojedynczych roślinach form cms z cytoplazmą pochodzącą od *Nicotiana eastii*, *N. occidentalis*, *N. suaveolens* i *N. tabacum* obserwowano nekrozy nerwu głównego (ryc. 1c). Na większości obiektów pierwsze objawy chorobowe były widoczne już po 16 dniach od inokulacji, natomiast na kilku, objawy wystąpiły nieco później i miały łagodniejszy charakter. Wszystkie badane rośliny dały pozytywny wynik testu serologicznego ELISA.

Tabela 1. Wpływ obecności obcej cytoplazmy na odporność odmiany Zamojska 4 na PVY

Odmiana	Wynik testu odporności na PVY po inokulacji izolatami:					
	PVY1			PVY2		
	ELISA	Objawy		ELISA	Objawy	
Zamojska 4	+	VC, CS	wczesne	+	silne VC	wczesne
Zamojska 4 cms <i>amplexicaulis</i>	+	VC, CS, drobne VN	wczesne	+	silne VC	wczesne
Zamojska 4 cms <i>debneyi</i>	+	VC, CS, drobne VN	wczesne	+	silne VC	wczesne
Zamojska 4 cms <i>eastii</i>	+	VC, CS, VN na 1 roślinie	wczesne	+	silne VC	wczesne
Zamojska 4 cms <i>exigua</i>	+	VC, CS	wczesne	+	silne VC	wczesne
Zamojska 4 cms <i>glauca</i>	+	VC, CS	wczesne	+	silne VC, CS	wczesne
Zamojska 4 cms <i>glutinosa</i>	+	VC, CS	wczesne	+	silne VC	wczesne
Zamojska 4 cms <i>goodspeedii</i>	+	CS	późne	+	silne VC, CS	wczesne
Zamojska 4 cms <i>knightana</i>	+	silne VC, CS	wczesne	+	silne VC, CS	wczesne
Zamojska 4 cms <i>megalosiphon</i>	+	CS	późne	+	VC, CS	wczesne
Zamojska 4 cms <i>occidentalis</i>	+	VC, CS, VN na 1 roślinie	wczesne	+	VC, CS	wczesne
Zamojska 4 cms <i>rai-2</i>	+	VC, CS	wczesne	+	VC, CS	wczesne
Zamojska 4 cms <i>raimondii</i>	+	VC, CS	wczesne	+	VC, CS	wczesne
Zamojska 4 cms <i>suaveolens</i>	+	VC, CS, VN na 2 roślinach	wczesne	+	VC, CS	wczesne
Zamojska 4 cms <i>tabacum</i>	+	VC, CS, VN na 1 roślinie	wczesne	+	VC	późne
Zamojska 4 cms <i>undulata</i>	+	CS	późne	+	silne VC	wczesne
Samsun H (odmiana podatna)	+	VN	wczesne	+	VN	wczesne
Wiślica (kontrola)	+	VN	wczesne	-	bo	-

+/- pozytywny/negatywny wynik testu ELISA; VC (vein clearing) - przejaśnienia nerwów; CS (chlorotic spots) - chlorotyczne plamy; VN (vein necrosis) - nekrozy nerwów, bo - bez objawów

Wnioski

- Łagodne objawy chorobowe na odmianie Zamojska 4 świadczą o tym, że jej odporność na PVY ma charakter tolerancji.
- Obecność obcej cytoplazmy nie wpłynęła znacząco na zmianę odporności, co wskazywać może, że czynnik tolerancji odmiany Zamojska 4 jest zawarty w jądrowym DNA.