

## STUDIU DOCUMENTAR SUCCINT PRIVIND TULPINILE NECROTICE ALE VIRUSULUI Y AL CARTOFULUI (Potato virus Y-PVY) (SINTEZĂ PRIVIND BIOLOGIA, ECOLOGIA ȘI GAZDELE AGENTULUI PATOGEN)

### I. ASPECTE GENERALE

În ultimele trei decenii, cercetătorii din întreaga lume au acordat din ce în ce mai multă atenție virusului Y, mare parte din eforturi fiind îndreptate către solutionarea problemelor legate de răspândirea acestui virus și de protejarea culturilor afectate în special de tulpinile recombinante ale acestui patogen. Virusul Y al cartofului (PVY) a devenit în ultimii ani unul dintre cei mai importanți agenți patogeni ai cartofului, afectând considerabil producția (Hane și Hamm, 1999; Nolte și colab., 2004) și calitatea tuberculilor prin apariția pătării inelare necrotice la soiurile sensibile (Beczner și colab., 1984; Le Romancer și colab., 1994; Gray și colab., 2010). Virusul poate fi transmis de la o plantă la alta mecanic, însă în natură el este transmis prin intermediul tuberculilor de sămânță (înmulțire vegetativă) sau prin afide (Kerlan, 2006). **Tulpini recombinante** ale virusului Y au fost identificate atât în Europa, cât și în America de Nord. Majoritatea surselor bibliografice susțin că aceste tulpini virale s-au răspândit în Canada și Statele Unite începând cu anul 1990, pe când în Europa prima referire la acest patogen datează din anul 1980 (Baldauf și colab., 2006; Crosslin și colab., 2002, 2005, 2006; Gray și colab., 2010; Karasev și colab., 2008; McDonald și Singh, 1996).

#### Cartoful- câteva „reper” botanice

Plantă anuală din familia *Solanaceae*, genul *Solanum* specia *Tuberosum*, cartoful este considerat una dintre cele mai importante surse vegetale alimentare (datorită producțiilor ridicate și mai ales consumului pe cap de locuitor). Cartofii extratimpurii, timpurii și de vară sunt considerați plante legumicole, iar cultura de toamnă este considerată ca fiind fitotehnică (păstrarea realizându-se în depozite cu caracter special).

Din punct de vedere botanic cartoful este încadrat în genul *Solanum*, familia *Solanaceae*. Genul *Solanum* cuprinde peste 2000 de specii, răspândite în regiunile calde și temperate din America Centrală, de Sud și din Africa. Condițiile pedoclimatice foarte variate ca urmare a diferențelor mari de altitudine și latitudine, fac ca speciile să fie foarte deosebite, atât morfologic cât și fiziologic.

*Solanum tuberosum* este considerată principala specie cultivată de cartof, care în cursul procesului de ameliorare a fost în repetate rânduri încrucișată cu o serie de alte specii mai mult sau mai puțin sălbatice, pentru obținerea de soiuri cu rezistență sporită la boli virotice, bacteriene sau atacul diverșilor dăunători. Printre speciile sălbatice se găsesc un număr mare de specii care prezintă o deosebită importanță pentru ameliorare prin rezistență, conținut ridicat în amidon, proteine și vitamine, repaus vegetativ scurt sau lung, etc.

### **Sistemul de protecție a culturii cartofului de agenții patogeni**

Reacția culturii în raport cu agenții fitopatogeni și concurenți diferă calitativ față de reacția plantelor individuale. Deoarece din punct de vedere agricol interesează producția obținută, influența agenților patogeni și concurenți precum și a factorilor limitativi de creștere este măsurată prin efectul asupra producției.

Ca orice sistem viu, planta de cartof reprezintă un sistem deschis, într-o permanentă interacțiune cu mediul său de cultură. El este un sistem mare, dinamic, multivariabil, format din mai multe subsisteme interconectate. Din punct de vedere al protecției cartofului, agroecosistemul culturii cartofului este practic subdivizat în următoarele sub sisteme:

- (sub) sistemul plantă și cultura de cartof, considerat (ipotetic) liber de paraziți dăunători și concurenți;
- (sub) sistemul protecției cartofului, în care peste primul se suprapun speciile de fitoparaziți, fitofagi, buruieni și relațiile dintre ele precum și omul, care asigură reglarea și conducerea sistemului.

Existența agrosistemului culturii cartofului, înțelegerea acestuia în vederea conducerii eficiente implică și cunoașterea sistemelor speciilor parazite și concurente pentru realizarea, prin sistemul de protecția plantelor a controlului complet permanent și economic.

Menținerea populației speciei parazite și concurente la un nivel acceptabil economic, impune îmbinarea factorilor naturali (genetici și de altă natură), **substanțelor chimice compatibile** și a măsurilor culturale de sprijin.

Limitele sistemului cuprind planta și cultura de cartof, speciile fitoparazite, fitofage și buruienile, condițiile de mediu, relațiile dintre ele, pierderile cauzate culturii, precum și întreg



arsenalul de metode integrate de control, convenționale (pesticide, rezistența plantelor și metode culturale) și neconvenționale, ecologice (controlul biologic).

Analiza sistemului protecției culturii constă din analiza tuturor subsistemelor implicate, cu structurile și funcționalitățile lor, cu intrările în și din subsistemul respectiv.

**(Sub) sistemul speciilor patogene** constituie un sistem aparte numit **patosistem** care implică cultura plantei și toți agenții paraziți care produc pagube acestei culturi. Patosistemul este definit de fenomenul de parazitism.

În scopul protejării culturilor împotriva speciilor parazite și concurente se folosesc diferite **măsuri** prin care se urmărește fie reducerea cantității de inocul inițial, fie rata multiplicării și de infecție, fie ambele. În cazul protecției cartofului se acționează în primul rând asupra ratei de creștere a populațiilor, a ratei de infecție. **excepție fac bolile virotice, unde principalele măsuri se adresează populației inițiale, surselor de inocul inițial, precum și populației vectorilor.**

Diversitatea speciilor parazite și concurente eșalonarea activității lor în toată perioada de vegetație și de păstrare a cartofului, dificultatea menținerii acestor populații sub pragul economic de dăunare, impun folosirea unui număr mare de metode și mijloace. Acest lucru nu se datorează numai numărului mare de specii parazite și concurente, ci și faptului că doar o singură măsură, un singur element nu poate asigura un nivel tolerabil al pierderii.

Măsurile de protecție a culturilor agricole și implicit a culturii de cartof, sunt grupate în funcție de scopul urmărit și modul de acțiune, în următoarele grupe: măsurile legislative, eradicarea, terapia, rezistența (verticală și orizontală), protejarea culturilor cu fungicide de contact și evitarea sau fuga de boală.

În practică, protecția culturilor se realizează în mod specific pentru fiecare grup de paraziți și concurenți, prin folosirea soiurilor rezistente a pesticidelor și a practicilor culturale.

Una dintre măsurile care se impun pentru a diminua pierderile de producție este alegerea unui material de plantat certificat, liber de virusuri.

**Estimarea procentului de infecții virotice – factor determinant în evaluarea calității fitosanitare a materialului de plantat**

Datorită înmulțirii vegetative cartoful suferă în timp o **degenerare virotică** (care se manifesta prin plante debile, cu o capacitate mica de productie, acestea constituind si o sursă de infectie pentru plantele sanatoase). De aceea, printre factorii care condiționează calitatea cartofului pentru sămânță un rol deosebit de important revine **procentului infecțiilor virotice**. Normele de certificare a cartofului pentru sămânță stabilite pe plan mondial și în țara noastră prevăd procentele maxim admise cu infecții virotice, diferențiat în funcție de categoria biologică.

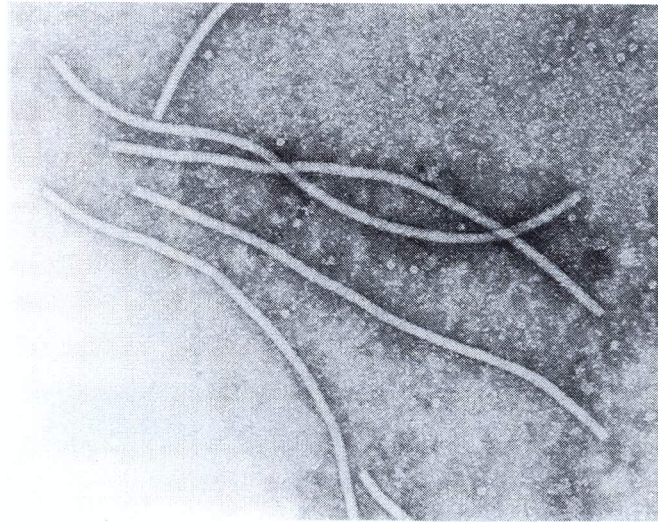
Prin cartoful de sămânță se pot transmite de la un an la altul și de la o zonă la alta numeroși agenți patogeni: viroizi, **virusuri**, bacterii, ciuperci, insecte, nematozi și buruieni. Pierderile de productie provocate de de calitatea biologica proasta a materialului de plantat pot atinge valori între 10 și 80% și de aceea, la înființarea unei culturi trebuie să se folosească numai tuberculi sănătoși din sămânța certificată.

## II. BIOLOGIA AGENTULUI PATOGEN

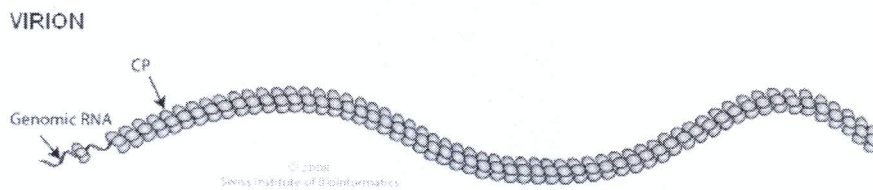
### PVY, structura moleculară

PVY aparține genului Potyvirus, familia Potyviridae. Toți membri acestei familii cuprind virusuri cu formă cilindrică, flexibilă (Glais și colab., 1996) (Fig. 1, Fig. 2). Genomul PVY constă într-o moleculă sens de ARN monocatenar de aproximativ 10 kb, cu o proteină VPg atașată la capătul 3' și o coadă polia A la capătul 5'. ARN-ul viral codifică o singură moleculă mare polipeptidică care este ulterior clivată de către 3 proteaze de origine virală în 9 proteine diferite (Tribodet și colab., 2005) sau 10 după alți autori (Almasi și colab., 2010) (Fig. 3).



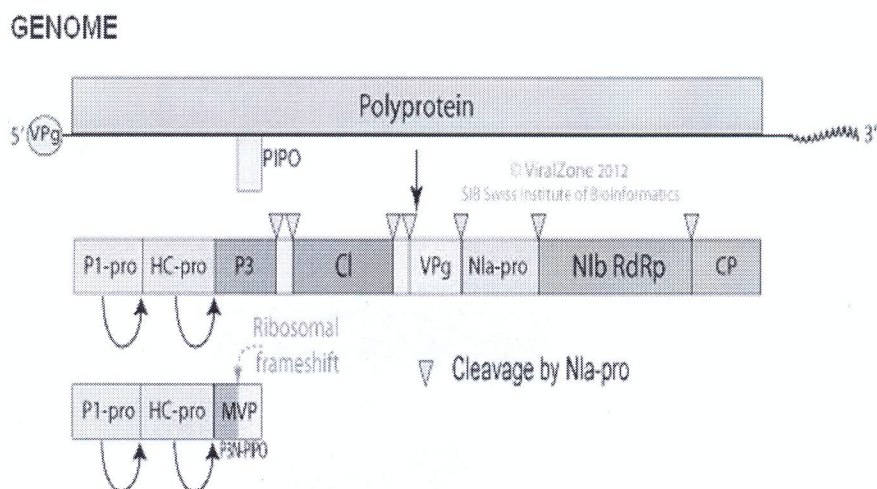


**Fig. 1** Imaginea electronmicroscopică a virionului PVY (VIDE Plant Virus database, University of Idaho, USA, sursa bibliografica net 1)



**Fig. 2** Reprezentarea schematică a virionului PVY cuprinzând genomul ARN și capsida virală de natură proteică (CP) ([http://viralzone.expasy.org/all\\_by\\_species/50.html](http://viralzone.expasy.org/all_by_species/50.html))

Capătul N terminal al proteinei capsidale (CP) conține cei mai mulți aminoacizi specifici diferitelor tulpini, în timp ce, spre mijlocul proteinei aceștia sunt înalt conservați în cadrul familiei *Potiviridae*. Datele rezultate din secvențierea genomului viral și a diferitelor izolate sunt deosebit de importante pentru încadrarea moleculară corectă a noilor sușe virale apărute în diverse locații. Este așadar o omologie ridicată în zona corespunzătoare proteinei capsidale în cazul PVY<sup>NTN</sup> și PVY<sup>N</sup> arătând originea formei PVY<sup>NTN</sup> din cea a PVY<sup>N</sup>. Capătul 3' necodifiant este foarte polimorfic. De asemenea, segmentul genomic situat la capătului 5' conține cea mai variabilă regiune a PVY, diferitele izolate ale PVY<sup>N</sup> având doar 70% similitudine privind secvența nucleotidică (Glais și colab., 1996).



**Fig. 3** Structura genomului PVY reflectată prin proteinele pe care le codifică  
 ([http://viralzone.expasy.org/all\\_by\\_species/50.html](http://viralzone.expasy.org/all_by_species/50.html))

### PVY, istoricul nomenclaturii și clasificare

Clasificarea virusului PVY este complexă și se realizează în primul rând ținând seama de factori biologici (simptomatologie, rezistență-sensibilitate) și serologici și nu în ultimul rând, se bazează pe încadrarea precisă, pe criteriile moleculare. Tulpinile PVY au fost așadar clasificate în 3 grupuri diferite, O, N și C (pe criteriul patotipului sau biotipului) în funcție de reacția pe care o declanșează în plantă (cartof, tutun) și în funcție totodată de genele de rezistență prezente în diferitele soiuri de cartof (Singh și colab., 2008) (Tabel 1).

**Tabel 1.** Clasificarea tulpinilor de PVY (după Singh și colab., 2008)

Denumirea tulpinii	Grupul din care face parte	Coduri sinonime	Descriere
PVY <sup>O</sup>	PVY <sup>O</sup>	PVY <sup>O5</sup>	Grupul comun al PVY, elicită gena <i>Ny</i>
PVY <sup>N</sup>	PVY <sup>N</sup>	PVY <sup>EU-N</sup> , PVY <sup>NA-N</sup> , NA-PVY <sup>N</sup> , PVY <sup>R</sup> , PVY <sup>TVN</sup>	Determină necroza nervurilor în tutun, nu s-au identificat izolate care să cauzeze PTNRD



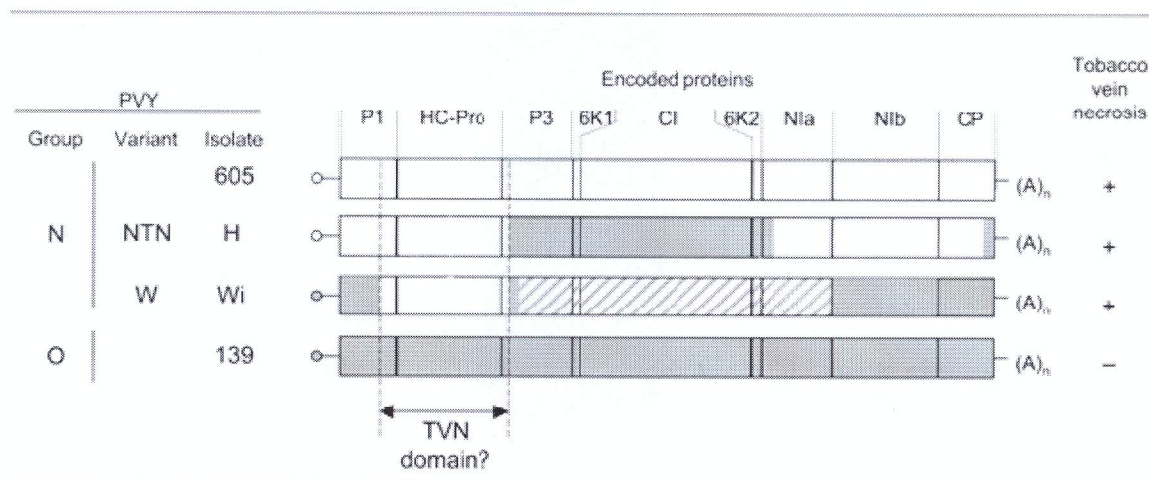
		PVY <sup>EU-NTN</sup> , PVY <sup>NN</sup> , PVY <sup>NA-NTN</sup> , NA- PVY <sup>NTN</sup>	
PVY <sup>N-Wi</sup>	PVY <sup>N</sup>	PVY <sup>N-Wilga</sup> , PVY <sup>N-W</sup> , PVYN-Wi-P, PVY <sup>N:O</sup>	Tulpini rezultate prin recombinare, fenotipic se manifestă ca și PVY <sup>N</sup> dar serologic au reacție specifică PVY <sup>O</sup>
PVY <sup>C</sup>	PVY <sup>C</sup>	PVY <sup>C1</sup> , PVY <sup>C2</sup>	Tulpinile grupului C, elicită gena <i>Nc</i>
PVY <sup>Z</sup>	PVY <sup>Z</sup>		Izolatele grupului Z elicită genele de rezistență <i>Nz</i>
PVY <sup>E</sup>	PVY <sup>E</sup>	PVY <sup>ZE</sup>	Tulpinile grupului E nu elicită genele de rezistență <i>Ny</i> , <i>Nc</i> sau <i>Nz</i> și nu cauzează necroză în plantele de tutun

PVY<sup>O</sup>, forma comună a PVY (O de la „ordinary”) produce mozaicare în plantele de tutun respectiv diverse grade de mozaicare în majoritatea soiurilor de cartof. Forma necrotică a PVY, denumită PVY<sup>N</sup> cauzează necroza sistemică a nervurilor la tutun, în timp ce simptomele cartofului pot fi invizibile sau se pot manifesta prin mozaicare ușoară. PVY<sup>C</sup> duce la mozaicare sistemică la anumite soiuri de cartof (Karasev și colab., 2011). O altă tulpină a PVY cu similitudine serologică cu cea a PVY<sup>N</sup> dar cu patologie diferită a fost denumită PVY<sup>NTN</sup>. Aceasta provoacă necroza tuberculilor prin inducerea unor leziuni circulare caracteristice, de unde denumirea de ”potato tuber necrotic ring spot disease (PTNRD)”. PVY<sup>NTN</sup> se presupune că a derivat prin recombinarea între formele PVY<sup>O</sup> și PVY<sup>N</sup>. Un tip diferit denumit NA-PVY<sup>NTN</sup> se consideră a fi rezultat prin mutagenезă și nu prin recombinare, având origine Nord-Americană (Lorenzen și colab., 2006).

Un alt subgrup al PVY a rezultat, de asemenea, din recombinarea între PVY<sup>O</sup> și PVY<sup>N</sup> și a fost denumit PVY<sup>NW</sup>. Izolatele acestei tulpini produc necroza sistemică în tutun și simptome relativ ușoare în cartof, identice celor induse de patotipurile PVY<sup>N</sup>, dar au reacție imunologică similară serotipului PVY<sup>O</sup>. Un subgrup cu structură aproape identică o constituie subtipul PVY<sup>N:O</sup>. Acestea pot cauza uneori și forme atipice de necroză a tuberculilor (Lorenzen și colab., 2006).

Prin secvențierea moleculară este posibilă determinarea gradului de similitudine, respectiv a distanței genetice dintre diferitele grupe de tulpini respectiv dintre tulpinile aparținând diferitelor subgrupe, fiind posibilă stabilirea originii lor. Astfel, a putut fi determinată fie originea comună fie evoluția prin recombinare independentă a diferitelor izolate din diverse locuri de pe glob. În prezent există o imensă bază de date ce cuprinde secvența completă sau parțială a diferitelor tulpini virale. Acest fapt facilitează identificarea și încadrarea precisă a noilor izolate PVY (Lorenzen și colab., 2006).

Coroborarea datelor rezultate din analiza fenotipului infecției, a reacției imunologice, a analizei RT-PCR, a secvențierii parțiale a regiunii genomice responsabile de codificarea CP, și ulterior a secvențierii întregului genom a fost utilizată în vederea stabilirii precise a subtipului PVY pentru identificarea PVY<sup>NTN</sup>, PVY<sup>N</sup> (Fig. 4).



**Fig. 4.** Comparația privind datele genomice, a celor imunologice și de fitopatogenicitate a principalelor grupe, subgrupe și izolate de tulpini virale (după Tribodet și colab., 2005)

### PVY, metode de identificare

Se propune ca fiecare nou izolat viral să fie descris în contextul grupului mai larg din care face parte, iar pentru aceasta, încadrarea primară să fie făcută prin metoda inițială de fenotipare (incluzând testarea pe tutun ca și plantă indicatoare a reacției la virus, respectiv testarea pe soiuri diferite de cartof, ce posedă gene de rezistență cunoscute, pentru a permite încadrarea inițială corectă). În plus, este de asemenea recomandată secvențierea noilor izolate



iar în final, denumirea lor cu coduri caracteristice dacă există diferențe fenotipice, serologice sau moleculare între diferitele tulpini (Singh și colab., 2008).

Manifestarea simptomelor vizuale reprezintă primul indicator al detectării virale în plantă, urmată fiind de confirmarea imunologică. Metodologia de identificare a PVY a început să se dezvolte prin producerea de anticorpi policlonali specifici PVY și utilizarea ELISA, aceasta fiind considerată o metodă sensibilă și rapidă. Ulterior, prin producerea anticorpilor monoclonali și dezvoltarea a diferite tehnici, mai sensibile, bazate pe ELISA (TAS-ELISA, DAS-ELISA, NCM-ELISA), a fost posibilă identificarea diferențiată a grupelor de tulpini (Blanco-Urgoti, 1998, Lizarraga și Fernandez-Northcote, 1989; Lorenzen și colab., 2006). Totuși utilizarea ELISA prezintă anumite limite, prin această metodă nefiind posibilă, de pildă, diferențierea tulpinilor PVY<sup>O</sup> de cele necrotice PVY<sup>N-W</sup>/PVY<sup>N:O</sup> (Lorenzen și colab., 2006) iar în cadrul celor necrotice distingerea PVY<sup>N</sup> de PVY<sup>NTN</sup> (Rigotti și Gugerli, 2007). O metodă foarte utilă de detecție virală o constituie evidențierea virusului la nivel de tuberculi. O reacție pozitivă a fost obținută după scoaterea tuberculilor din starea de dormanță, în schimb, stocarea tuberculilor în starea de dormanță duce la scăderea semnificativă a titrului PVY (Gugerli și Gehringer, 1980).

Tehnologiile curente de genotipare a virusurilor au permis dezvoltarea unor metode moleculare de amplificare specifică a unor segmente din genomul viral prin RT – PCR urmate de aplicarea metodei evidențierii polimorfismului lungimii fragmentelor rezultate prin tăierea ADN cu enzime de restricție (restriction fragment length polymorphism (RFLP)). Scopul este acela de a găsi metode mai rapide de identificare a diferitelor izolate. Prin utilizarea anumitor enzime de restricție (Taq I, Hinc II, Ava II sau Dde I, Eco RV, Hinf I, Rsa I, Taq I) a fost posibilă diferențierea tulpinilor necrotice de cele non-necrotice din cadrul grupului PVY<sup>N</sup> (Glais și colab., 1996; Blanco-Urgoiti și colab., 1996). Gena pentru sinteza proteinei capsidale este cea mai utilizată pentru studierea diversității genetice la potivirusuri. Este posibilă stabilirea distanței genetice dintre diferitele tulpini de virusuri cu ajutorul metodei RT - PCR – RFLP. Coeficientul de corelație privind încadrarea pe baze moleculare a diferitelor tulpini prin două metode diferite, RFLP și secvențiere, a fost suficient de mare pentru a putea considera analiza utilizând metoda RFLP ca fiind fără eroare (Blanco-Urgoiti și colab., 1998).

Caracterizarea prin secvențiere a noilor tulpini virale rezultate prin recombinare a făcut posibilă utilizarea la o scară mai largă a metodei de detecție bazată RT-PCR. Au fost stabilite diferite protocoale de determinare prin RT-PCR, unele urmărind secvența genei pentru CP, însă tulpinile PVY<sup>N</sup> și PVY<sup>NTN</sup> nu pot fi identificate sigur utilizând primeri din această regiune. O altă metodă moleculară de identificare a tulpinii virale se bazează pe secvența genei pentru sinteza proteinei P1, care are cea mai mare variabilitate genetică la PVY, respectiv pe baza cistronului adiacent proteinei P1 considerat a fi factorul determinant în inducerea răspunsului necrotic în tutun (Lorenzen și colab., 2006; Rigotti și Gugerli, 2007). De aceea, utilizarea metodelor bazate pe RT-PCR sunt considerate foarte potrivite pentru determinarea și încadrarea moleculară precisă a diferitelor tulpini PVY în grupe sau subgrupe. După perfecționarea noilor tehnici, bazate exclusiv pe RT-PCR, combinarea cu RFLP a devenit considerată o metodă costisitoare și mai laborioasă (Rigotti și Gugerli., 2007).

Au fost dezvoltăți primeri (Tabel 2) ( ale căror poziții de amplificare sunt evidențiate în Fig. 5) ce pot funcționa în triplex într-un protocol de RT-PCR într-un singur pas. Prin această metodă se pot discerne, prin obținerea de ampliconi de lungimi diferite, a tulpinilor PVY<sup>N</sup>, PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>NTN</sup> forma recombinată, PVY<sup>C</sup>, și PVY<sup>N</sup>-Wi (Rigotti și Gugerli., 2007). Seturi îmbunătățite de primeri au fost stabilite de Shubert și colab., 2007, incluzând atât primeri specifici anumitor tulpini virale cât și primeri fără specificitate de grup, ce funcționează pentru PVY, în general.

**Tabel 2.** Primeri ce pot funcționa în triplex pentru identificarea tulpinilor PVY<sup>N</sup>, PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>NTN</sup>, PVY<sup>C</sup>, și PVY<sup>N</sup>-Wi

Denumire primer	Secvența
PVYc3	CAACGCAAAAACACTCA(CT)AAA(AC)GC
PVYf	TAAGTG(AG)ACAGACCCTCT(CT)TTCTC
PVY3+	TGTAACGAAAGGGACTAGTGCAAAG
PVY3-	CCGCTATGAGTAAGTCCTGCACA
CP2+	CCAGTCAAACCCGAACAAAGG
CP1-	GGCATAGCGTGCTAAACCCA



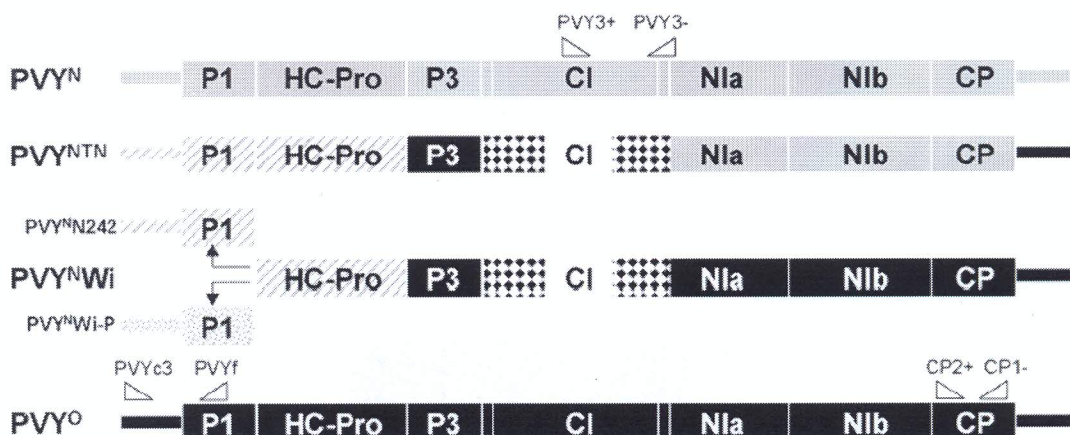


Fig. 5 Reprezentarea schematică a hartii genetice a diferitelor tulpini de PVY și localizarea perechilor de primeri. Este evidențiată heterogenitatea formelor PVY<sup>NTN</sup> și PVY<sup>NWi</sup> (după Rigotti și Gugerli, 2007)

### III. ECOLOGIA SI GAZDELE agentului patogen. Plante gazdă și plante test.

În afară de cartof, sunt citate circa 160 de specii de plante din 37 de genuri, care au fost infectate prin inoculare cu suc. Majoritatea aparțin familiei *Solanaceae*, dar sunt și unii membri din *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Compositae*, *Leguminosae* ș.a. Unele specii și anume: *Solanum tuberosum*, *Capsicum annuum*, *Hyoscyamus niger*, *Lycopersicon esculentum*, *Petunia hybrida*, sunt gazde spontane ale virusului Y. Dintre speciile sensibile, unele reacționează cu simptome apecifice, putând fi folosite ca plante test sau diferențiale, astfel: *Nicotiana tabacum*, *N. Glutinosa*, *Chenopodium amaranticolor*, *C. qinoa*, *Physalis floridana*, *Lycium halimifolium* și *Nicandra physaloides*. Însă cel mai sigur, mai rapid și mai utilizat test pentru lucrările în serie se realizează pe foliole detașate ale hibridului "A-6" (*Solanum demissum* X, *S. tuberosum*) și pe "SdY" (*S. demissum* Y). Menținute în camere umede după inoculare, cu iluminare artificială și la 24°C, acestea formează în 4-8 zile, leziuni locale necrotice. Reacție similară se obține și pe foliole de "TE-1", o proveniență a lui *S. chacoense*, însă acesta nu este utilizat curent în testele de serie, fiind mai puțin sensibil decât SdY și cu un foliaj mai redus.

În condiții naturale tulpina PVY<sup>NTN</sup>, a fost identificată la cartof (*Solanum tuberosum*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), ardei (*Capsicum annuum*) și *Solanum nigrum*, dar prin inoculări artificiale a fost transmis la un număr de peste 20 de specii de plante (Le Romancer și Kerlan, 1992).

În funcție de simptomele manifestate de diferite specii de plante la inocularea cu tulpina PVY<sup>NTN</sup> comparativ cu cele manifestate la inocularea cu tulpinile standard ale virusului Y al cartofului (PVY<sup>O</sup>; PVY<sup>N</sup>; PVY<sup>C</sup>), se disting următoarele grupe de plante:

**a) Plante sensibile, grupa 1**, manifestă simptome sistemice atât cu tulpina PVY<sup>NTN</sup>, cât și cu tulpinile standard, diferă doar în intensitate și formă: *Datura innoxia* Mill., *Datura metel* L., *Lycopersicon esculentum* cv. Monalbo, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Nicandra physaloides* Gaertn., *Nicotiana clevelandi* Gray., *Nicotiana megalosiphon* Heurck., Muell., *Nicotiana rustica*, *Nicotiana tabacum* L. cvs. Samsun, *Nicotiana tabacum* cv. White Burley, *Nicotiana tabacum Xanthi*, *Petunia hybrida* Vilm., *Physalis floridana* Rydb. și *Solanum nigrum*.

**Plante sensibile, grupa 2**, : *Capsicum annuum* manifestă simptome de pătare la inocularea cu tulpina PVY<sup>NTN</sup> și este extrem de rezistent la inocularea cu tulpinile PVY standard (PVY<sup>O</sup>; PVY<sup>N</sup>; PVY<sup>C</sup>).

**b) Plante rezistente, grupa 1**, reacționează prin apariția de leziuni locale necrotice pe frunzele inoculate : *Lycium halimifolium* și *Hibridul A6*.

**Plante rezistente, grupa 2**, *Chenopodium amaranticolor* și *Chenopodium quinoa*, sunt imune la infecția cu tulpina PVY<sup>NTN</sup>, în timp ce tulpinile standard ale virusului Y al cartofului produc leziuni necrotice și clorotice locale pe frunzele inoculate.

Se poate spune că deosebirea majoră dintre tulpinile standard ale virusului Y al cartofului și tulpina PVY<sup>NTN</sup>, din punct de vedere al reacției plantelor test, este că aceasta din urmă are capacitatea de a infecta *Capsicum annuum* și incapacitatea de a infecta *Chenopodium amaranticolor* și *Chenopodium quinoa*.

### Reacții serologice

Particulele virale ale tulpinilor PVY<sup>NTN</sup> reacționează serologic cu anticorpii policlonali ai virusului Y al cartofului și cu anticorpii monoclonali ai grupului de tulpini necrotice PVY<sup>N</sup>. Metodele imunologice de detectare a virusurilor plantelor au relevat faptul că tulpina PVY<sup>NTN</sup> nu diferă din punct de vedere serologic de grupul de tulpini PVY<sup>N</sup>, care nu produc necroze pe tuberculi, ele fiind înrudite serologic. De asemenea, se menționează în sursele bibliografice că cele două tipuri de tulpini nu se pot diferenția una de cealaltă cu ajutorul anticorpilor



monoclonali. Aceasta înseamnă că proteina de înveliș a celor două tipuri de tulpini este asemănătoare (Le Romancer și Kerlan, 1992).

#### IV. TRANSMITERE, EPIDEMIOLOGIE

Virusul Y se transmite ușor prin inoculare cu suc, iar în natură se transmite în principal prin afide. Se menționează însă și posibilitatea răspândirii virusului Y în câmp pe cale mecanică (Pop, 1986). Transmiterea prin afide este de tip nepersistent, deci cu timpi de hrănire pentru achiziționarea și inocularea virusului destul de scurți și anume de 15-60 secunde. Perioadele de hrănire pentru achiziție mai lungi de 2 minute nu sunt favorabile. Perioada minimă de hrănire pentru inoculare este de 30-60 secunde. Rata achiziționării virusului depinde de concentrația acestuia în plante, frunzele de cartof mai tinere fiind sursă de infecție mai bună decât cele mature. Plantele infectate cu virusul Y conțin un component ajutător de natură proteică, care mijlocește transmiterea prin afide a virusului Y (Pirone, 1981).

Numărul speciilor de afide capabile să transmită virusul Y este de cel puțin 25, însă cunoștințele privind eficiența acestora ca vectori sunt în general reduse, cu excepția câtorva specii. ***Myzus persicae* este considerat ca cel mai eficient vector al virusului Y**, însă, importanța speciilor în răspândirea virusului variază cu condițiile diferitelor zone geografice, care determină modificări considerabile în structura populațiilor, frecvența diferitelor specii, începerea zborului acestora și altele.

Dintre cele aproximativ 10 specii considerate ca importante pentru răspândirea naturală a virusului Y în diferite țări, pe lângă *Myzus persicae*, sunt menționate următoarele: *Aphis nasturtii*, *Aphis fabae*, *Aphis frangulae*, *Macrosiphum euphorbie*, *Acyrtosiphon pisum*, *Rophalosiphum insertum* (Pop, 1986).

Răspândirea virusului Y are loc în special în prima jumătate a perioadei de vegetație și anume, până la mijlocul lunii iulie, însă există date care demonstrează că infecțiile cu virusul Y<sup>N</sup> sunt mult mai frecvente în iunie, când plantele sunt mult mai tinere și respectiv mai sensibile. **Așadar, măsurile pentru diminuarea răspândirii virusului trebuie să aibă în vedere în primul rând această perioadă.**

Sursa de infecție în natură este formată aproape exclusiv, din plantele provenite din tuberculii de cartof infectați, plantați sau rămași în sol la recoltarea culturii din anul precedent (plante cu infecție secundară) precum și din plantele infectate cel mai târziu după 36 zile de la

răsărire (plante cu infecție primară). Experimental, s-a dovedit că plantele susceptibile sunt în general, cele de până la 11 săptămâni de la plantare, după care se instalează progresiv așa numita "rezistență de vârstă". Tulpinile necrotice ( $Y^N$ ) se transmit și prin contactul dintre plante. Procentul tuberculilor infectați depinde atât de vârsta plantelor, de condițiile de mediu din momentul inoculării cât și de tulpina virusului. În general, maximum de tuberculi infectați s-a obținut la 18-21,8 °C, iar pentru  $Y^N$  și la 14,4-15,9 °C; însă, la temperaturi de 11-13 °C timp de 5-10 zile după inoculare, s-a redus puternic proporția acestora. Umiditatea redusă după inoculare a favorizat infecțiile. S-a evidențiat de asemenea, că în anii secetoși cu temperaturi ridicate, virusul Y se răspândește la distanțe mai mari de sursă decât în anii răcoroși și umezi (Cojocaru 1987).

Țesuturile plantelor infectate sunt invadate progresiv de virus, iar migrarea la distanță se realizează pe cale vasculară. Celulele frunzelor, cu excepția celor din parenchimul palisat, conțin concentrații ridicate de virus. În tuberculi, concentrația virusului este mult mai redusă. Când infecțiile prin afide se produc într-un stadiu avansat de creștere a plantei, datorită "rezistenței de vârstă", virusul nu poate migra în toți tuberculii și în mod frecvent numai puțini dintre aceștia devin infectați. Rezistența de vârstă a unor soiuri față de virusul Y a fost demonstrată, însă aceasta este mult mai pronunțată pentru  $Y^O$  decât pentru  $Y^N$  (Cojocaru 1987).

#### BIBLIOGRAFIE SELECTIVA

Almasi A., Tobias I., Manoussopoulos I. N., Basky ZS., Palkovics L. 2010 - Sequence comparison of the HC-Pro and CP Proteins of two potato virus Y strains differing in aphid transmission and systemic movement. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 45 (1), pp. 1-11 (2010)

Blanco-Urgoiti B., Sanchez F., Dopazo J., Ponz F. 1996 – A strain-type clustering of potato virus Y based on genetic distance between isolates calculated by RFLP analysis of the amplified coat protein gene. *Arch Virol.*, 141: 2425-2442

Blanco-Urgoiti B., Sanchez F., Perez de San Roman C., Dopazo J., Ponz F. 1998 - Potato virus Y group C isolates are a homogeneous pathotype but two different genetic strains *Journal of General Virology* 79: 2037-2042.



Cojocaru, N. 1975. Testarea rezistenței la virozele grave ale soiurilor de cartof cultivate în România. *Analele ICCS – Brașov, cartoful*, vol. V: 315-327.

Cojocaru, N. 1987. Viroze în “*Protecția cartofului: boli, dăunători, buruieni*”, Coordonator Plămădeală B., ed. Ceres: 60-84.

Glais L., Kerlan C., Tribodet M., Marie-Jeanne Tordo V., Robaglia C., Astier-Manifacier S. 1996 - Molecular characterization of potato virus Y<sup>N</sup> isolates by PCR-RFLP. Differentiation of PVY<sup>N</sup> isolates by PCR-RFLP. *European Journal of Plant Pathology* 102: 655-662, 1996.

Gugerli P., Gehriger W. 1980 - Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of potato leafroll virus and potato virus Y in potato tubers after artificial break of dormancy. *Potato Res.* 23: 353 – 359.

Karasev A. V., Hu X., Brown C. J., Kerlan C., Nikolaeva O. V., Crosslin J. M., Gray S. M. 2011 - Genetic diversity of the ordinary strain of potato virus Y (PVY) and origin of recombinant PVY strains. *Phytopathology*, 101: 778-785.

Lizarraga C., Fernandez-Northcote. 1989 – Detection of viruses X and Y in sap extracts by a modified indirect enzyme-linked immunosorbent assay on nitrocellulose membranes (NCM-ELISA). *Plant Disease*, 73: 11-14.

Lorenzen J. H., Meacham T., Berger P. H., Shiel P. J., Crosslin J. M., Hamm P. B., Kopp H. 2006 - Whole genome characterization of *Potato virus Y* isolates collected in the western USA and their comparison to isolates from Europe and Canada. *Arch Virol* 151: 1055–1074.

Pop V.I. (1986). “*Virusurile plantelor și combaterea lor*”, Editura Ceres, București.

Pirone ,T.P. 1981. Citat de I.Pop în „*Virusurile plantelor și combaterea lor*” , pag. 119, Ed. Ceres, 1986. *Phytopathology* 71: 922 – 924.

Rigotti S., Gugerli P. 2007 - Rapid identification of potato virus Y strains by one-step triplex RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 140: 90–94

Schubert J., Fomitcheva V., Sztangret-Wisniewska J. 2007 - Differentiation of Potato virus Y strains using improved sets of diagnostic PCR-primers. *Journal of Virological Methods* 140: 66–74

Singh R. P., Valkonen J. P. T., Gray S. M., Boonham N., Jones R. A. C., Kerlan C., Schubert J. 2008 - Discussion paper: the naming of potato virus Y strains infecting potato. *Arch. Virol.* 153: 1–13

Tribodet M., Glais L., Kerlan C., Jacquot E. 2005 - Characterization of potato virus Y (PVY) molecular determinants involved in the vein necrosis symptom induced by PVY<sup>N</sup> isolates in infected *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi

<http://www.sasa.gov.uk/rd/epidemiology-population-dynamics/virus-biodiversity-and-epidemiology>

[http://viralzone.expasy.org/all\\_by\\_species/50.html](http://viralzone.expasy.org/all_by_species/50.html)

DIRECTOR PROIECT

Dr. ing. Sorin Claudiu CHIRU

