



Studii privind

reacția unor genotipuri de cartof la inocularea cu izolate necrotice PVY și simptomele cauzate de infecții primare și secundare ale genotipurilor testate

a) Studii preliminare privind transmiterea prin inoculare mecanică a unor tulpini necrotice ale virusului Y al cartofului (CO, P2)

Creșterea nivelului de infecție cu PVY și apariția unor tulpini recombinate ale acestui patogen, inclusiv tulpina necrotică a mozaicului/virusului tutunului PVY, recombinant N:O, tulpina (PVY^{N:O}) și tulpina necrotică a cartofului (PVY^{NTN}), au un impact puternic asupra producției de cartof pentru sămânță. În prezent, există puține surse bibliografice care furnizează informații referitoare la răspândirea PVY prin metode mecanice. Deocamdată, se știe că PVY este transmis cu ușurință între parcelele producătorilor, datorită deplasării afidelor vectoare. Relativ recent, numeroși fermieri au observat niveluri inacceptabile de răspândire a virusului Y, deși ei au respectat tehnologiile și au aplicat corect metodele de combatere și control al afidelor, principalii vectori PVY. Așadar, ca urmare a ușurinței de răspândire a tulpinilor PVY, apar tot mai des suspiciuni cu privire la mijloacele mecanice de transmitere a virusului PVY. Contaminarea pe această cale poate interveni fie în timpul operațiunii de tăiere a tuberculilor, fie în timpul perioadei de vegetație, cu ocazia a rănirii plantei/tuberculilor.

Transmiterea unor tulpini ale virusului Y al cartofului PVY^O, PVY^N și PVY^{NTN} a fost experimentată în prezenta activitate, astfel:

- înainte de plantare, utilizând tăierea tuberculilor (după ce un tubercul infectat a fost fragmentat, alți patru tuberculi sănătoși au fost tăiați succesiv cu același obiect, fără ca acesta să fie dezinfectat);

- în timpul perioadei de vegetație, utilizând următoarele metode de transmitere a patogenului pe cale mecanică:

- metode neinvazive: atingerea plantelor virozate de cele sănătoase și înclinarea plantelor virozate către cele sănătoase, utilizând diferite mijloace);

- metode invazive: transmiterea sucului de la plantele infectate la cele sănătoase prin inocularea clasică cu carborundum, perierea succesivă a plantelor virozate și a celor nevirozate (perii ace metalice), zdrobirea frunzelor de la materialul virozat împreună cu foliole ale plantelor sănătoase.

Ca material biologic, s-au folosit tuberculi din soiurile Carrera, Hermes, Productiv, genotipuri care s-au dovedit a fi sensibile la tulpinile virusului Y al cartofului (soiuri la care s-au înregistrat valori mari ale procentelor de infecție în anii 2014 și 2015 în toate zonele țintă). Tuberculii liberi de virus au provenit din materialul multiplicat în cadrul Departamentului Culturii de Țesuturi, iar materialul infectat cu diferite tulpini virale a provenit din probele prelevate în anii 2014 și 2015 (infecție secundară, probe la care s-au identificat tulpinile virale necrotice de către partenerul P2). Ca infector, s-au folosit izolatele PVY^O (sursa: material cu infecție secundară soiul Record, din colecția de plante test a laboratorului), PVY^N (linia de ameliorare INCDCSZ Brașov 1791/1) și PVY^{NTN} (linia de ameliorare INCDCSZ Brașov 1876/1).

Rezultatele au demonstrat că, în cazul tăierii tuberculilor nu se transmit tulpinile necrotice PVY, în timp ce în cazul tratamentelor de rănire a plantelor, s-au realizat diferite nivele de transmitere a patogenului, în funcție de felul tratamentului aplicat (Tabelul 1).

Tabel 1. Rezultate preliminare privind transmiterea pe cale mecanică a tulpinilor virale*

Tratamente (mijloace mecanice)	PVY tulpini	Soiul Carrera		Soiul Hermes		Soiul Productiv	
		Număr de plante testate	Număr de plante infectate	Număr plante testate	Număr plante infectate	Număr plante testate	Număr plante infectate
Contactul plantelor infectate cu cele sănătoase (neinvaziv)	PVY ^O	5	2	5	1	5	1
	PVY ^N	5	0	5	1	5	2
	PVY ^{NTN}	5	0	5	1	5	2
Perierea metalică a frunzelor de plante infectate și apoi cele sănătoase	PVY ^O	5	5	5	4	5	4
	PVY ^N	5	5	5	4	5	4
	PVY ^{NTN}	5	4	5	2	5	1
Zdrobirea foliolelor plantelor sănătoase și virozate (aflate în vegetație)	PVY ^O	5	5	5	5	5	5
	PVY ^N	5	5	5	4	5	3
	PVY ^{NTN}	5	5	5	4	5	3
Carborundum (inoculare clasică figura 1)	PVY ^O	5	5	5	5	5	5
	PVY ^N	5	5	5	5	5	5
	PVY ^{NTN}	5	5	5	5	5	5
Zdrobirea porțiunilor din plantele sănătoase și virozate (aflate în vegetație)	PVY ^O	5	5	5	4	5	4
	PVY ^N	5	2	5	4	5	4
	PVY ^{NTN}	5	4	5	3	5	4
Controale (Plante sănătoase netratate)	PVY ^O	5	0	5	0	5	0
	PVY ^N	5	0	5	0	5	0
	PVY ^{NTN}	5	0	5	0	5	0

*Metoda utilizată a fost descrisă în materialul diseminat în cadrul The 12th Annual Meeting "Durable agriculture agriculture of the future" particular focus „Advanced Methods for a Sustainable Agriculture, Silviculture and Food Science", 17-18 noiembrie 2016, Craiova

Procentul de infecție la plantele tratate prin mijloace neinvazive (asemănătoare cu acțiunea vântului asupra culturilor) a fost semnificativ mai scăzut, comparativ cu procentul de contaminare al materialului tratat prin metode invazive. Aplicând mijloace prin care suc de la plantele virozate a fost transmis materialului sănătos, contaminarea cu tulpinile necrotice PVY a fost mai eficientă (valorile procentelor de infecție au fost semnificativ mai ridicate).

Operațiile efectuate de fermieri, cum ar fi: aplicarea îngrășămintelor după răsărire și utilizarea frecventă a tractoarelor pentru aplicarea pesticidelor și uleiurilor minerale în timpul perioadei de vegetație, care pot cauza răniri ale plantei și „inoculări naturale” nedorite cu suc de la plantele infectate, la cele sănătoase. Totodată, contactul dintre plantele infectate și cele sănătoase, proces cauzat de către vânturile puternice, poate provoca răniri și atingeri ale plantelor, conducând astfel la o potențială transmitere a virusurilor.

Alți cercetători care au întreprins studii asemănătoare (Sturz și colaboratorii, 2000), nu au raportat nici o contaminare mecanică PVY^O în urma tăierii tuberculilor. Însă, alți autori au susținut ideea transmiterii mecanice a virusului Y (tulpini PVY^O, substituite în prezent de

PVY^{N:O} și/ sau PVY^{NTN} în anumite zone de producere a cartofului pentru sămânță), ca urmare a rănirii plantelor și operațiunii de tăiere a tuberculilor la plantare (Quenoille și colaboratorii, 2010).

Unii autori (Quenoille și colaboratorii), susțin că PVY poate fi transmis mecanic datorită contactului dintre plante, favorizat de vânt sau de utilajele utilizate pentru întreținerea culturilor. În contaminarea mecanică, prin aplicarea unor metode invazive plantelor, patogenul se poate răspândi prin suc provenit de la materialul infectat. Interesant este faptul că, în cazul experiențelor în care s-a urmărit efectul tăierii tuberculilor, această ipoteză nu se poate aplica, deși metoda este clar invazivă.

Testele virotice efectuate utilizând suc din frunze, au prezentat valori semnificativ mai ridicate referitoare la concentrația de virus, comparativ cu testele cu suc prelevat direct din tuberculi. Poate că și aceasta este cauza pentru care tăierea tuberculilor de sămânță nu a transmis infecția virală PVY, spre deosebire de mijloacele mecanice, care au determinat diferite leziuni plantelor aflate în vegetație.

În concluzie, studiul arată clar diferența dintre: tratamentele aplicate plantelor, mijloacele prin care se pot transmite mecanic tulpinile PVY, tratamentele care pot stimula operațiile efectuate pentru întreținerea culturilor și care pot induce diferite leziuni plantelor.

Oricum, pentru a confirma rezultatele, studiul ar trebui să fie repetat în condiții de câmp. De asemenea, cercetările ar trebui continuate, pentru a stabili care dintre tulpinile PVY se poate răspândi și pe această cale, nu doar prin intermediul afidelor.

Bibliografie

- Bădărău Carmen Liliana, Ștefan Maria, Bărcăscu Nina. 2016. "Studies regarding the transmission of potato virus Y (PVY) through several mechanical means". The 12th Annual Meeting "Durable agriculture agriculture of the future" particular focus „Advanced Methods for a Sustainable Agriculture, Silviculture and Food Science", 17-18 noiembrie 2016 Craiova, site (Book of Abstracts, pag. 26) Analele Universității din Craiova, seria Agricultură - Montanologie - Cadastru, Vol XL VI 2016 sub tipar
- Quenoille J., Vassilakos N., Moury B. 2013. "Potato virus Y: a major crop pathogen that has provided major insights into the evolution of viral pathogenicity", Molecular Plant Pathology, 14 pag. 439.
- Sturz A.Y., Stewart J.G., McRae K.B., Diamond J.F., Lu X., Singh R.P. 2000. "Assessment of the importance of seed cutting, inseason cultivation, and the passage of row equipment in the spread of PVYO in potatoes". Canadian Journal of Plant Pathology 22, pag. 166-173



Figura 1. Inoculare mecanică cu ajutorul substanței abrazive Carborundum.

b) Observații privind simptomele cauzate de infecții secundare, identificate la probe prelevate din toate zonele țintă în anul 2015, pentru materialul supus testelor moleculare (P1)

Tuberculii aparținând mai multor soiuri, proveniți din diferite terenuri agricole din Transilvania (Tabelul 1), au fost cultivați în ghivece (câte un tubercul/linie) la începutul lunii aprilie. După înmugurirea și creșterea lăstarilor, a fost prelevat de la toate liniile material biologic, reprezentat de fragmente foliare. Materialul proaspăt recoltat, a fost utilizat pentru izolarea rapidă a ARN-ului; o parte din materialul prelevat de la fiecare linie a fost stocat la -80°C.

Tabel 1. Codificarea probelor genotipurilor de cartof infectate cu PVY^N și gradul de afectare la nivelul organelor supraterane ale plantelor. Rezultatul extracției ARN (izolării) din frunze pentru 40 dintre probele recoltate în anul 2015

Linia cartof	Denumire Soi / cod locație	Grad de afectare	ARN ng/μl	Linia cartof	Denumire Soi/cod locație	Grad de afectare	ARN ng/μl
1	Carrera Tg.- Sec. 4	++	446,3	21	AlbVio / Tg. - Sec.	+	359,9
2	Jelly M.- Ciuc4	++	414,2	22	Bellarosa / Cernat3	+	267,9
3	Red Lady Sf.-Gheorghe	++	2258	23	Jelly/Tg.- Sec.	+	290,7
4	Red Lady Tg.- Sec. 3	+	376,9	24	RedFantasy / Cernat2	+++	1508
5	Carrera Sânzieni	+	421,9	25	Red Lady Viis Turda	++	155,3
6	Desiree Ciceu	+	289,7	26	Carrera / Cernat2	+++	832,3
7	Jelly Ciceu	++	393,4	27	Carrera / Sâncrăieni,	+++	2326
8	Carrera Sâncrăieni	++	421	28	Red Lady / Tg.- Sec. 3	++	234
9	Carrera M.- Ciuc 2	+	224,8	29	Bellarosa / Sâncrăieni	+	2038
10	Hermes M.- Ciuc 3	+++	395,1	30	Hermes / Tg Sec	++	2220
11	Red Fantasy M.- Ciuc 3	++	1657	32	Carrera Ghimbav 1	++	371,3
12	Productiv Tg.- Sec.	++	340,3	33	Carrera / Tg. - Sec. 2	++	327,5
13	Red Lady / Sâncrăieni	+++	2367	34	Carrera / M. Ciuc.3	+	455,3
14	Hermes Cernat 2	+++	457,8	35	Carrera Cernat3	+	275

Linia cartof	Denumire Soi / cod locație	Grad de afectare	ARN ng/μl	Linia cartof	Denumire Soi/cod locație	Grad de afectare	ARN ng/μl
15	Riviera Cernat 2	+++	458	36	Bellarosa Zăbala 1	+	395,4
16	Carrera Rădășeni	+++	2050	37	Red Lady / Sf.- Gheorghe	+	445,3
17	Jelly M.- Ciuc 3	++	2014	38	Desiree Zăbala 1	++	1992
18	Hermes Suceava	+	484.2	39	RedFantasy / Ciceu	+	1245
19	Red Fantasy Tg.- Sec. 2	+	1823	40	Carrera / Zăbala 1	+	1076
20	Riviera Zăbala 2	+/-?	269,3				

După o lună de la cultivare, au fost efectuate observații privind simptomatologia indusă de PVY în fiecare linie de cartof (Tabelul 1). Tuberculii luați în lucru au fost inițial testați imunologic, pentru verificarea prezenței/ absenței PVY, iar în etapa de analiză moleculară, au intrat doar cei pozitivi pentru PVY. Pe măsura creșterii plantelor, au fost făcute observații privind manifestările patologice ale virusului la nivelul plantelor de cartof, etapă deosebit de importantă pentru caracterizarea completă a diferitelor tulpini virale. În diferitele soiuri de cartof, a fost observat întregul spectru de manifestări ale patologiei induse de PVY. În primele etape, în plantele tinere, cele mai frecvente simptome au fost mozaicarea și marmorarea, combinate cu încrețirea frunzelor, simptome având amploare diferită dela un soi la altul, urmând ca deseori, pe măsura creșterii plantei și acumulării virusului, să fie observată o agravare a acestora (Figurile 1, 2). Aceasta se manifestă prin: etiolare, necroză sporadică sau generalizată la nivel foliar, deficiență în creșterea plantei și necroză generalizată a plantei (Figurile 3, 4). Au fost situații în care mozaicarea a fost singurul simptom, dar au fost și linii în care simptomatologia a fost complexă, incluzând cel mai frecvent, mozaicarea în combinație cu etiolarea, încrețirea frunzelor sau necroza foliară, în unele cazuri apărând necroza generalizată. Cumularea diferitelor simptome într-o singură plantă poate fi rezultatul unei forme cu virulență crescută de PVY, sau se poate datora infectării simultane cu mai multe tulpini de virus. Au fost și linii de cartof în care simptomatologia a fost discretă pe tot parcursul dezvoltării plantei. Nu a fost observată manifestarea patologică tipică la nivelul tuberculilor indusă de PVY^{NTN}, nici imediat, la recoltarea tuberculilor și nici după 2 luni de la recoltare și menținerea lor la +4 °C.

Pentru izolarea ARN au fost utilizate aproximativ 100 mg material foliar, iar izolarea s-a realizat rapid prin mojarare cu reactivul de extracție GENEzol, extracția decurgând conform protocolului indicat de producător (Geneaid). Astfel, au fost prelucrate toate liniile de cartof prezentate în Tabelul 1. Liniile la care tuberculii nu au încolțit au fost recultivate, dar nu au format lăstari nici după recultivare; concluzia rezultată din această observație este că infecția PVY poate afecta creșterea prin modificarea balanței hormonale. În unele situații, necroza lăstarilor crescuți până la nivel suprateran a fost extrem de rapidă, suprimând orice șansă a plantei de a crește în continuare.

Rezultatul izolării este exemplificat pentru toate probele care au dat lăstari. ARN-ul obținut a fost cuantificat prin analiza spectrofotometrică în micropicătură (Tabelul 1).



Figura 1. Frunze de cartof al căror limb se încrețește sau are o creștere atipică la infecția cu PVY



Figura 2. Frunze de cartof cu simptome de mozaicare / marmorare la infecția cu PVY



Figura 3. Frunze de cartof al căror limb se etiolează sau prezintă necroză la infecția cu PVY



Figura 4. Frunze de cartof care se necrozează la margine sau total, la infecția cu PVY

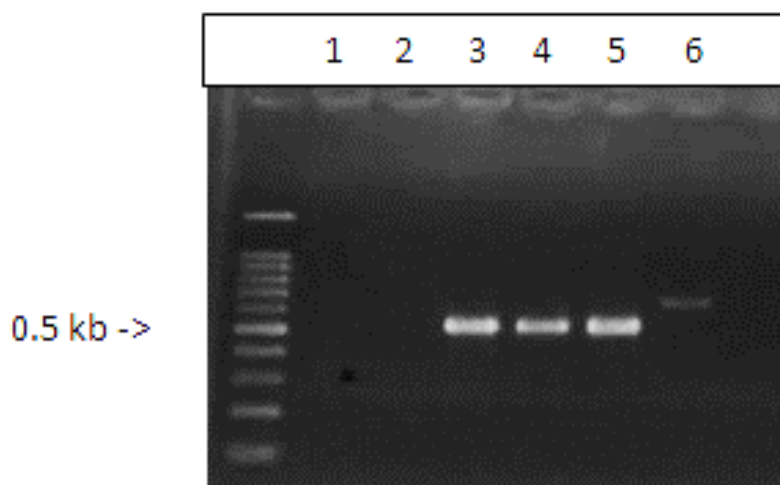


Figura 5. Rezultatul reacției de duplex PCR efectuată după protocolul descris de Rigotti și Gugerli (2007), utilizând primerii PVYc3/f și CP2+/1- și RNA, obținut din frunze provenite de la plante contaminate cu PVY de *S. tuberosum*; rezultatele confirmă contaminarea cu PVY^C (poziția 6), PVYN^{Wi} (pozițiile 3, 4, 5)

După 4 luni de la cultivarea în ghiveci, tuberculii au fost recoltați în vederea efectuării de observații privind prezența/absența simptomelor specifice tulpinii PVY^{NTN} (Tabelul 2). Nu au fost observate simptome caracteristice infecției cu PVY^{NTN} la nivel de tuberculi.

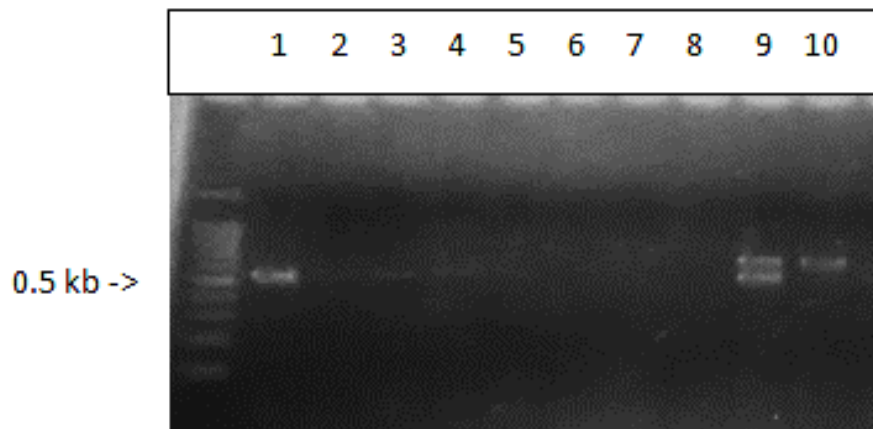


Figura 6. Rezultatul reacției de duplex PCR efectuată după protocolul descris de Rigotti și Gugerli (2007), utilizând primerii PVYc3/f și CP2+/1- și RNA, obținut din frunze provenite de la plante contaminate cu PVY de *S. tuberosum*; rezultatele confirmă contaminarea cu PVY^O (poziția 9), PVY^C (poziția 10) sau PVYN^{Wi} (poziția 1)

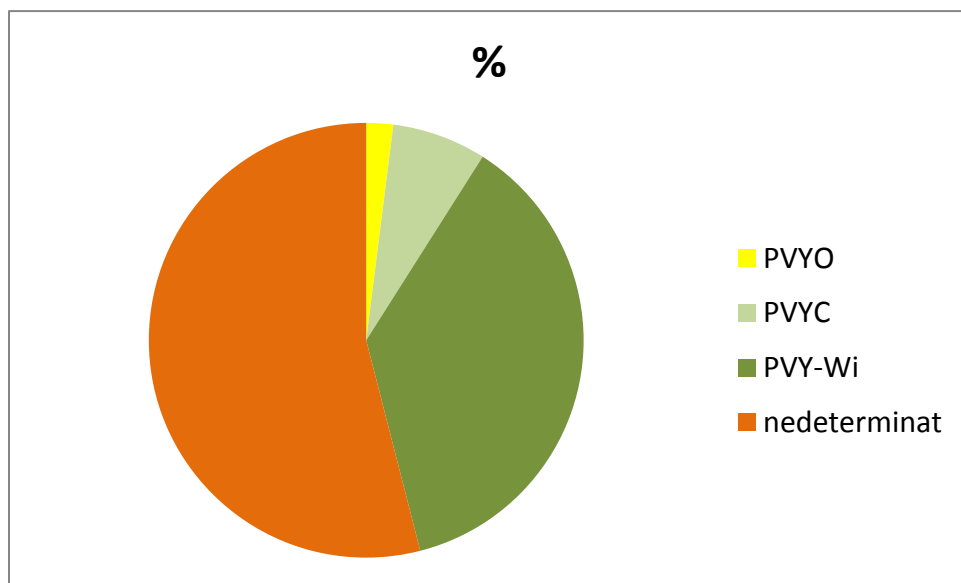


Figura 7. Eficiența detecției PVY prin metoda descrisă de Rigotti și Gugerli (2007)

Prin metoda utilizată, a fost identificată fără ambiguitate tulpina de PVY în cazul a 46% din probe. O altă proporție destul de ridicată a dat benzi foarte discrete, ceea ce a făcut identificarea PVY ambiguă (Figura 6, pozițiile 2, 3, 4, 5 de pe gel). Pentru acestea, este necesară fie concentrarea probei, fie utilizarea unui alt kit de PCR/ qPCR. Pentru situațiile în care unele probe nu pot fi identificate, va fi testată o altă combinație de primeri.

c) Selectarea materialului rezistent la infecția cu tulpini necrotice PVY, pe baza simptomelor specifice – condiție esențială pentru identificarea unor gene de rezistență

Condiția esențială pentru a trece la selecția unor gene de rezistență este selectarea unor plante care să reziste la infecția cu PVY. Au fost observate simptomele apărute la nivelul diferitelor soiuri/ linii de cartof, infectate în mod natural cu forme necrotice de PVY, de la încolțirea tuberculilor și până la maturizarea plantelor. Nici una dintre linii nu a fost lipsită de simptome, deși la unele dintre ele exprimarea lor a fost foarte discretă. Prin urmare, nu a fost observată nici rezistența manifestată prin reacția de hipersensibilitate dată de genele *N*, care de regulă nu este observată în cazul infecției cartofului cu forme necrotice de PVY. De asemenea, nu a fost observată rezistența extremă, dată de gene dominate *Ry*, o serie de simptome, discrete sau severe fiind prezente după trei luni de vegetație.

Tabel 2. Simptomatologia plantelor de cartof infectate în mod natural cu forme necrotice de PVY, după o lună de la încolțirea tuberculilor

Linia de cartof infectată cu PVY	Prezența / absența simptomelor bolii
1677	plantă foarte mică, nu prezintă simptome
1630	creștere normală, mozaicarea, încrețirea frunzelor
1657	întârzierea creșterii, frunze cupate, mozaicarea ușoară a frunzelor
1680	întârzierea creșterii, ușoară încrețire a frunzei
1612	mozaicarea și încrețirea frunzei
1622	întârzierea creșterii, încrețirea ușoară a frunzei
1643	frunze ușor etiolate și încrețite
1629	întârzierea creșterii
1642	întârzierea creșterii
1644	întârzierea creșterii, ușoară încrețire a frunzelor
1646	ușoară încrețire a frunzei, cuparea și deformarea frunzelor, ușoară etiolare
1601	încrețirea și deformarea frunzelor
1609	mozaicarea și încrețirea frunzelor, uneori deformarea lor; la baza plantei frunzele se etiolează
1603	mozaicare slab exprimată, frunze deformate și încrețite
1608	frunze ușor încrețite
1605	frunze ușor deformate și încrețite
1602	mozaicare bine exprimată, ușoară încrețire și deformare a frunzelor
1691	frunze ușor încrețite și ușor mozaicate
1682	frunze ușor deformate
1645	întârzierea creșterii
1625	mozaicarea și încrețirea ușoară a frunzelor
1623	mozaicarea și încrețirea ușoară a frunzelor
1631	mozaicare, etiolare ușoară la marginea frunzelor, frunze ușor cupate
1634	mozaicarea și etiolarea frunzelor în zona nervurilor
1624	întârzierea creșterii, încrețirea ușoară a frunzelor

Linia de cartof infectată cu PVY	Prezența / absența simptomelor bolii
1614	deformarea funzelor
1619	încrețirea și deformarea frunzelor
1622	ușoară etiolare a frunzelor
1632	încrețirea ușoară a frunzei
1640	întârzierea creșterii
1652	frunze cupate, epinastia frunzelor
1617	încrețirea frunzelor și mozaicare
1629	mozaicare bine exprimată în special lângă nervura frunzelor, frunze ușor deformate și încrețite
1648	nu există simptome evidente

Tabel 3. Simptomatologia plantelor de cartof infectate în mod natural cu forme necrotice de PVY, după trei luni de la încolțirea tuberculilor

Linia de cartof infectată cu PVY	Prezența / absența simptomelor bolii
1677	mozaicare și ușoară încrețire a frunzelor; unele frunze se necrozează la margine
1630	frunzele se etiolează, apoi se necrozează în jumătatea inferioară a plantei; frunzele sunt ușor încrețite
1657	frunze cu formă atipică, ușoară mozaicare; simptomele sunt evidente doar în jumătatea inferioară a plantei
1680	mozaicarea și încrețirea frunzelor; sporadic apare necroza la vârful frunzei
1612	frunze cu formă atipică, ușoară mozaicare și încrețire
1622	ușoară mozaicare; în jumătatea inferioară a plantei apare etiolarea și necroza frunzelor
1643	mozaicare ușoară; frunze atipice și ușoară necroză în jumătatea inferioară a plantei
1629	blocarea creșterii
1642	întârzierea creșterii
1644	necroza frunzelor în jumătatea inferioară a plantei
1646	frunze cu formă atipică; frunzele de la baza plantei se etiolează
1601	încrețirea frunzelor
1609	mozaicare bine exprimată; etiolarea și necroza frunzelor de la baza plantei
1603	încrețirea și creșterea deformată a frunzelor; necroza și etiolarea frunzelor de la baza plantei
1608	încrețirea ușoară a frunzelor, posibil fenotip normal al acestui soi
1605	unele frunze de la baza plantei au formă atipică; nu există alte simptome
1602	etiolarea frunzelor de la baza plantei

Linia de cartof infectată cu PVY	Prezența / absența simptomelor bolii
1691	ușoară încrețire a frunzelor; necroză la marginea frunzelor dar numai la baza plantei
1682	ușoară încrețire a frunzelor; necroza frunzelor de la baza plantei
1645	blocarea creșterii plantei
1625	etiolarea generalizată a frunzelor; necroza progresivă afunzelor începând de la baza plantei
1623	mozaic și încrețirea ușoară a frunzelor; necroza frunzelor de la baza plantei
1631	mozaicarea și încrețirea ușoară a frunzelor; apare etiolare la vârful frunzei
1634	ușoară mozaicare; etiolarea frunzelor la baza plantei
1624	mozaicare și încrețire ușoare; frunzele de la baza plantei se necrozează, necrozarea începe de la vârful frunzei
1614	mozaicare slab exprimată; prezente frunze cu formă atipică
1619	mozaicare ușoară; frunzele de la baza plantei se etiolează
1622	mozaicare bine exprimată în jumătatea superioară a plantei; necroza frunzelor în jumătatea inferioară a plantei
1632	mozaic ușor și încrețirea frunzelor; epinastia frunzelor la baza plantei
1640	blocarea creșterii
1652	ușor mozaic și încrețire; creștere deficitară
1617	mozaic și ușoară încrețire; etiolarea frunzelor la bază plantei
1629	mozaic și încrețirea frunzelor; necroza frunzelor în jumătatea inferioară a plantei
1648	frunze ușor încrețite în jumătatea inferioară a plantei; ușoră epinastie a frunzelor spre baza plantei
Obs.	La 10 dintre linii au apărut muguri floralii

Aprofundarea cunoștințelor privind interacțiunea PVY - plantă, manifestarea caracterelor de rezistență, rezistența extremă manifestată prin reducerea replicării virusului (dată de genele Ry), sau a reacției de hipersensibilitate manifestată prin apariția punctelor necrotice (dată de genele Ny) (Vidal și colab., 2002; Valkonen, 1994; Solomon-Blackburn și Barker, 2001; Verzaux și colab., 2012), permite aplicarea strategiilor biotehnologice de ameliorare a cartofului cultivat, prin transferul de caractere de rezistență de la speciile sălbatice înrudite. Una dintre căile de inducere a rezistenței la PVY este cea de transfer a genelor Ry de la speciile sălbatice la cartoful cultivat, dominante ce conferă rezistență extremă la PVY, denumită rezistență pe verticală (Valkonen, 1994). Apelarea la utilizarea speciilor sălbatice de cartof care posedă gene de rezistență, în scopul transferului prin hibridare somatică la cartoful cultivat, nu este o strategie nouă, dar rămâne încă viabilă. *Solanum chacoense*, este una dintre speciile la care prezența genelor de rezistență extremă a fost dovedită și evidențiată cu ajutorul markerilor moleculari (Mori și colab., 2011; Hosaka și colab., 2001). În laboratorul de Inginerie Genetică Vegetală a Facultății de Biologie și Geologie a Universității Babeș-Bolyai, au fost obținuți o serie de hibridi somatici între *S. tuberosum* și *S. chacoense* (Aurori și colab., 2006; Rakosy-Tican, 2012; Rakosy-Tican și colab., manuscris în pregătire). Testarea rezistenței plantelor hibride de *S. tub.* +



S. chac. la diferite tulpini de PVY (PVY^O, PVYN, PVY^{NTN}) în urma infectării prin inoculare mecanică, este unul dintre obiectivele pe care l-am propus în cadrul acestui proiect. Pentru realizarea acestui obiectiv, au fost reactivați în cultura *in vitro* o serie de hibrizi somatici care erau stocați sub formă de minituberculi. Realizarea acestui obiectiv crează premisa identificării unor noi linii de plante, cu rezistență la formele necrotice ale virusului Y al cartofului. Importanța abordării metodei propuse de noi, rezultă din faptul că urmărește evidențierea cumulării în aceeași plantă a mai multor tipuri de rezistență, rezistență la PVY respectiv la gândacul de Colorado, o parte dintre plante fiind rezistente la acest dăunător (Molnar și colab., 2016).

Bibliografie

- Aurori A., Ispas G., De Riek J., Famelaer I., Angenon G., Rakosy-Tican E. 2006. "Inducing mismatch repair system deficiency in *Solanum chacoense* and its usefulness for somatic hybridization with *Solanum tuberosum*". XV FESPB Congress, 17-21 July Lyon France, Book of abstracts p. 63 (oral presentation – 15 min)
- Hosaka K., Hosaka Y., Mori M., Maida T., Matsunaga H. 2001 – "Detection of a simplex RAPD marker linked to resistance to potato virus Y in a tetraploid potato". *Am J Pot Res.*, 78: 191–196
- Molnar I., Besenyei E., Thieme R., Thieme T., Aurori A., Baricz A., Banciu H. L., Rakosy-Tican E. 2016. "Mismatch repair deficiency increases the transfer of antibiosis and antixenosis properties against Colorado potato beetle in somatic hybrids of *Solanum tuberosum* (+) *S. chacoense*". *Pest Management Science*, acceptats prepublicare
- Mori K., Sakamoto Y., Mukojima N., Tamiya S., Nakao T., Ishii T., Hosaka K. 2011. "Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato". *Euphytica*, 180: 347–355
- Rakosy-Tican E. 2012. "Combining different biotechnological tools for better introgression of resistance genes into crops: the case of potato". *Journal of Biotechnology* 161 Suppl, p. 18
- Solomon-Blackburn R. M., Barker H. 2001. "A review of host major-gene resistance to potato viruses X, Y, A and V in potato: genes, genetics and mapped locations". *Heredity* 86: 8-16
- Valkonen J. P. T. 1994. "Natural genes and mechanisms for resistance to viruses in cultivated and wild potato species (*Solanum* spp.)". *Plant Breeding* 112: 1-16
- Verzaux E., Van Arkel G., Vleeshouwers V. G. A. A., Van der Vossen E. A. G., Niks R. E., Jacobsen E., Vossen J., Visser R. G. F. 2012. "High-resolution mapping of two broad-spectrum late blight resistance gene from two wild species of the *Solanum tuberosum* group". *Potato research*, 55: 109-123
- Vidal S., Cabrera H., Andersson R. A., Fredriksson A., Valkonen J. P. T. 2002. "Potato gene Y-1 is an N gene homolog that confers cell death upon infection with potato virus Y". *MPMI*, 15: 717–727