

TEADUSTÖÖD

KARTULISORTIDE RESISTENTSUSANALÜÜS KARTULIVIIRUS X ISOLAATIDE (KVV₁₇, KVV_{OLEV}, KVV_{SULEV}) NAKKUSELE

M. Agur

SUMMARY: *The resistance analysis of potato varieties to potato virus X isolates (KVV₁₇, KVV_{Olev}, KVV_{Sulev}) infection. The complete resistance analyses of potato varieties 'Ants', 'Berber', 'Lazunak', 'Prigozii', 'Procura', 'Sante', 'Sarme', 'Timate' and 'Varane kollane' to three KVV isolates were carried out. The degree of susceptibility/resistance, the virus biosynthesis intensity and symptoms of infection in KVV₁₇, KVV_{Olev} and KVV_{Sulev} inoculated plants (first year) and in the plants of their tuber reproduction (second year) have been determined in order to compare the reaction of potato varieties to the infection with different isolates of the same virus. The varieties 'Timate', 'Sante' and 'Sarme' were nonsusceptible (immune) and variety 'Varane kollane' high (100 %) susceptible to all three KVV isolates tested. In five varieties ('Ants', 'Berber', 'Lazunak', 'Prigozii', 'Procura') the degree of susceptibility/resistance, virus biosynthesis intensity and/or symptoms to PVX isolates infection differed depending not only on the variety but also on virus isolate. In all combinations of variety and virus isolate the characteristics determined were higher in the plants of second generation than in inoculated ones.*

The varieties nonsusceptible to all three KVV isolates ('Timate', 'Sarme', 'Sante') are prospective as the initial material for potato breeding to this virus resistance. In addition it appears reasonable to assume that the variety – virus isolate combinations with the degree of susceptibility less than 100 % may be used for the clone selection and reciprocal analyses to get virus resistant material. The necessity to use more than one isolate of the virus for the evaluation of the potato variety virus resistance was pointed out (accented).

Kartuli sordiaretuse ja seemnekasvatuse edukus oleneb lähtematerjali kvaliteedist, sealhulgas viirusresistentsusest. Viirusresistentse materjali saamiseks tuntakse mitmeid võimalusi – hübriidiseerimine resistentsusgeene sisaldavate metsikute *Solanum*-liikide või kultuurisortidega, biotehnoloogiliste võtete rakendamine, mutagenees jt. Eestis tegeldakse kartuli viirusresistentse materjali saamise probleemiga Eksperimentaalbioloogia Instituudis (EBI) ning Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudis (KBFI). EBI uuringute eesmärgiks on viirusresistentse materjali saamise tehnoloogiliste aluste väljatöötamine kartulisortide, merikloonide, kallus-somakloonide ja seemikute viirusresistentsusanalüüsi baasil (Agur, 1993). KBFI-s uuritakse võimalusi transgeensete viirusresistentsete taimede konstrueerimiseks (Truve jt., 1994).

EBI-s läbiviidud uuringud on näidanud, et viirusresistentsusanalüüsiga on võimalik välja selekteerida nii kartulisortide (Agur, 1992, 1995), merikloonide (Agur, 1994) kui ka seemikute (Tiits, 1986) hulgast kartuli sordiaretuse ja seemnekasvatuse nõuetele vastavat materjali. 11 Eesti sordilehele kantud kartulisordi resistentsusanalüüs 5 kartuliviiruse (KVV, KVVY, KVS, KVM, KVN) suhtes näitas, et viirusresistentsus oleneb kombinatsioonist sortiviirus (Agur, 1995). Kuna nii taimeliigi kui ka selle sordi vastuvõtlikkus/resistentsus sama viiruse eri tüvedele/isolaatidele võib erineda (Kegler, Kleinhempel, 1987; Agur, 1987; Villemson, 1992), on kirjandusandmete kasutamine piiratud ja püstitub vajadus uurida igale areaalile omaseid peremehe-viirusisolaadi kombinatsioone.

Käesolevas uurimistöös viidi läbi uute Eesti sordilehele kantud kartulisortide kompleksne viirusresistentsusanalüüs (resistentsuse/vastuvõtlikkuse aste, viiruse biosünteesi intensiivsus, tunnusreaktsiooni dünaamika) KVV kolme isolaadi suhtes eesmärgiga saada

andmeid analüüsi tulemuste sõltuvusest viirusisolaadist ning kartuli sordiarretusele ja seemnekasvatusele sobiva resistentse materjali väljaselekteerimise võimalustest.

Materjal ja meetodika

Uurimisobjektiks olid kartulisordid 'Ants', 'Berber', 'Lazunak', 'Prigo^oi', 'Procura', 'Sante', 'Sarme', 'Timate' ja 'Varane kollane' ning K VX kolm isolaati: K VX_{Olev} – isoleeritud kartulisordist 'Olev', K VX_{Sulev} – isoleeritud sordist 'Sulev', ja K VX₁₇ – saadud elektroforeetilise fraktsioneerimise abil (Hedrejärv jt., 1977) K VX₃-st, mis pärineb Jõgeva Sordiarretuse Instituudi kartuliseemikust 'Kameraz' × 'Agria' V 1954.

Katsematerjaliks kasutati uuritud sortide meristemeetodil tervendatud taimi, mille algmaterjal saadi Eesti Taimebiotehnika Uurimiskeskusest EVIKA. Taimede edasine mikroklonimine viidi läbi EBI viroloogia osakonnas. 2...3 nädala vanused mikrotaimed istutati ühekaupa pottidesse ja kasvatati kasvuhoone tingimustes. 7...8 lehe staadiumis nakatati igast sordist 15 taime uuritud K VX isolaatidega mahlinokulatsiooni abil. Ühe kuu vanused taimed allutati komplekssele viirusresistentsusanalüüsile: määrati vastuvõtlikkus/resistentsusaste (nakatunud taimede %), viiruse biosünteesi intensiivsus (antigeeni kontsentratsioon ELISA-testi abil) (Agur, 1994) ja tunnusreaktsioon (haigustunnuste intensiivsus). Viirusresistentsusanalüüs viidi läbi nii inokuleeritud taimedel (1. katseaasta) kui ka nende muguljärglastel (2. katseaasta) kahes korduses.

Katsetulemused ja nende analüüs

Uuritud kartulisortide inokuleeritud taimede (1. katseaasta) ja nende muguljärglaste (2. katseaasta) vastuvõtlikkuse astme (VVA) analüüsi tulemused on toodud tabelis 1. Saadud tulemustest selgus, et sortide vastuvõtlikkuse aste K VX kolmele isolaadile varieerus mittevastuvõtlikkusest e. äärmisest resistentisusest (VVA 0 %) kuni täieliku vastuvõtlikkuseni (VVA 100 %), seejuures neljal sordil oli VVA uuritud isolaatidele kokkulangev ning viie sordi puhul see erines.

Kõigile kolmele isolaadile olid mittevastuvõtlikud ehk äärmusliku resistentisusega (VVA 0 %) sordid 'Timate', 'Sarme' ja 'Sante' ning 100 %-lise VVA-ga sort 'Varane kollane'. Sortidel 'Prigo^oi', 'Procura' ja 'Berber' märgiti VVA 100 % kahele ja sordil 'Ants' ühele isolaadile. Ülejäänud kombinatsioonides (K VX₁₇ – 'Lazunak', K VX₁₇ – 'Berber', K VX_{Olev} – 'Prigo^oi', K VX_{Olev} – 'Lazunak', K VX_{Olev} – 'Procura', K VX_{Olev} – 'Ants', K VX_{Sulev} – 'Lazunak', K VX_{Sulev} – 'Ants') jäi VVA madalamaks kui 100 %. Nende kombinatsioonide puhul ei olnud viirusnakkus osas katsetaimedes sedastatav, st. avaldus sordisisene geneetiline varieeruvus. Kõikidele viirusisolaat-sort kombinatsioonidele oli iseloomulik, et VVA tase oli kõrgem teisel katseaastal, st. inokuleeritud taimede muguljärglastel. Sorte, mis olid äärmusliku resistentisusega kõigile kolmele isolaadile ('Timate', 'Sante' ja 'Sarme'), tuleb arvestada kui perspektiivset lähtematerjali K VX-resistentisusaretuses. Lisaks eeldatakse, et sort-viirusisolaat kombinatsioonidega, milles VVA jäi alla 100 %, on võimalik jätkata tööd viirusresistentse materjali väljaselekteerimiseks, allutades need kloonvalikule ja retsiprookanalüüsile. Seejuures väärib erilist tähelepanu sort 'Lazunak'.

K VX isolaatide antigeeni kontsentratsiooni (AGK) määramise tulemused uuritud sortide inokuleeritud taimedes ja nende muguljärglastes (tabel 2) näitasid, et viiruse biosünteesi intensiivsus sõltus nii sordist kui viirusisolaadist. Selgus, et sama viirusisolaadi AGK tase erines mitte ainult erineva VVA-ga sortides, vaid ka sortides, mille VVA oli 100 %. Kolm uuritud isolaati ei saavutanud ühelgi juhul AGK maksimum- või miinimumtaset samas sordis. Katsetulemused näitasid, et kõige kõrgema AGK taseme saavutas K VX₁₇ sordis 'Berber', K VX_{Olev} sordis 'Varane kollane' ja K VX_{Sulev} sordis 'Berber'. Kõige madalamaks jäi see K VX₁₇ puhul sordis 'Lazunak', K VX_{Olev} puhul sordis 'Ants' ja K VX_{Sulev} puhul sordis 'Lazunak'. Kõigi kolme isolaadi nakkusele oli iseloomulik, et AGK tase oli inokuleeritud taimedes madalam kui teisel katseaastal nende muguljärglastes. Isolaatide omavaheline võrdlus näitas, et enamikus uuritud sortides saavutas teistest kõrgema biosünteesi intensiivsuse K VX_{Sulev}. Saadud katsetulemused kinnitasid VVA analüüsi andmeid, mille kohaselt K VX-resistentisuse seisukohalt tuleb lisaks äärmusliku resistentisusega sortidele tähelepanu pöörata ka sordile 'Lazunak', milles kahe isolaadi biosünteesi intensiivsus jäi madalaks.

Tabel 1. Uuritud kartulisortide vastuvõtlikkuse aste (%) KVV isolaatidele
Table 1. Degree of susceptibility (%) to PVX isolates in potato varieties

Sort Variety	KVV ₁₇ PVX ₁₇		KVV _{Olev} PVX _{Olev}		KVV _{Sulev} PVX _{Sulev}	
	1. aasta [*]	2. aasta ^{**}	1. aasta [*]	2. aasta ^{**}	1. aasta [*]	2. aasta ^{**}
	1 st year [*]	2 nd year ^{**}	1 st year [*]	2 nd year ^{**}	1 st year [*]	2 nd year ^{**}
'Varane kollane'	100,0	100,0	50,0	100,0	100,0	100,0
'Prigo ^o i'	93,3	100,0	83,3	85,0	100,0	100,0
'Timate'	0	0	0	0	0	0
'Sarme'	0	0	0	0	0	0
'Lazunak'	86,6	86,6	75,0	87,5	75,0	83,6
'Procura'	100,0	100,0	25,0	28,0	50,0	100,0
'Berber'	76,6	83,1	62,5	100,0	100,0	100,0
'Sante'	0	0	0	0	0	0
'Ants'	100,0	100,0	41,6	41,6	91,6	91,6

* – Inokuleeritud taimed / Inoculated plants

** – Inokuleeritud taimede muguljärglased / Second generation of inoculated plants

Tabel 2. KVV isolaatide biosünteesi intensiivsus uuritud kartulisortides
Table 2. Intensity of PVX isolates biosynthesis in potato varieties

Sort Variety	KVV ₁₇ PVX ₁₇		KVV _{Olev} PVX _{Olev}		KVV _{Sulev} PVX _{Sulev}	
	1. aasta [*]	2. aasta ^{**}	1. aasta [*]	2. aasta ^{**}	1. aasta [*]	2. aasta ^{**}
	1 st year [*]	2 nd year ^{**}	1 st year [*]	2 nd year ^{**}	1 st year [*]	2 nd year ^{**}
'Varane kollane'	0,308 [*]	0,670	0,032	0,899	0,413	0,866
'Prigo ^o i'	0,182	0,570	0,076	0,114	0,425	0,864
'Timate'	0,022	0,022	0,005	0,003	0,022	0,009
'Sarme'	0,015	0,037	0,028	0,015	0,030	0,020
'Lazunak'	0,155	0,177	0,061	0,316	0,181	0,826
'Procura'	0,166	0,760	0,170	0,847	0,339	0,881
'Berber'	0,154	0,834	0,342	0,889	0,338	0,956
'Sante'	0,107	0,056	0,015	0,016	0,044	0,028
'Ants'	0,275	0,461	0,064	0,096	0,257	0,830

* – Antigeeni kontsentratsioon ELISA-testi andmetel (A₄₉₀) / Data of ELISA-test (A₄₉₀)

KVV kõik kolm isolaati kutsusid vastuvõtlikel sortidel esile süsteemse tunnusreaktsiooni, mis avaldus mosaiigina, mille intensiivsus varieerus sorditi (tabel 3). Lisaks märgiti haigustunnuste intensiivsuse erinevust sama sordi taimedel. Intensiivsed haigustunnused avaldusid KVV₁₇ nakkuse korral sortidel 'Ants', 'Procura', 'Varane kollane' ja 'Berber'; KVV_{Olev} – 'Lazunak'; KVV_{Sulev} – 'Prigo^o i', 'Procura', 'Berber' ja 'Varane kollane', kus üle poole taimedest reageeris tugeva mosaiigiga. Uuritud isolaatidest kutsus kõige tugevama tunnusreaktsiooni esile KVV₁₇, mille nakkuse korral mosaiigile lisandus nekroos ladvalehtedel. Kõikide isolaatide nakkusele oli iseloomulik nakkustunnuste intensiivistumine teisel katseaastal muguljärglaskonna taimedel. Enamiku vastuvõtlike sortide puhul puudus hästijälgitav korrelatsioon haigustunnuste intensiivsuse ning VVA ja AGK taseme vahel, mis näitas, et haigustunnuste avaldumise ja/või intensiivsuse alusel ei ole võimalik otsustada viirusnakkuse olemasolu, veel vähem viiruse biosünteesi intensiivsuse üle taimedes.

Tabel 3. K VX isolaatide haigustunnused uuritud kartulisortidel
Table 3. Symptoms of PVX isolates infection on potato varieties

Sort Variety	K VX ₁₇ PVX ₁₇		K VX _{Olev} PVX _{Olev}		K VX _{Sulev} PVX _{Sulev}	
	1. aasta 1 st year	2. aasta 2 nd year	1. aasta 1 st year	2. aasta 2 nd year	1. aasta 1 st year	2. aasta 2 nd year
	‘Varane kollane’	12m,3(m)*	9M,6m,6n	1m,14–	15m	9m,6–
‘Prigo° i’	5m,10–	2M,13m,5n	11(m),4–	12m,3–	15m	15M
‘Timate’	15–	15–	15–	15–	15–	15–
‘Sarme’	15–	15–	15–	15–	15–	15–
‘Lazunak’	13(m),2–	13m,2–	10m,1(m),4–	13M,2–	1m,14–	13m,2–
‘Procura’	9M,3m,3–	10M,5m	1m,2(m),12–	1M,3m,11–	7m,8–	15M
‘Berber’	5M,5m,5–	8M,5m,3n,2–	10m,5–	15m	13m,2(m)	10M,5m
‘Sante’	15–	15–	15–	15–	15–	15–
‘Ants’	8M,5m,2–	15M,7n	7(m),8–	5m,2(m),8–	14(m),1–	14m,1–

Haigustunnused / Symptoms:

- M – tugev mosaiik / severe mosaic
- m – keskmise tugevusega mosaiik / mosaic
- (m) – nõrk mosaiik / mild mosaic
- n – nekroos / necrosis
- – tunnusteta / symptomless

Kartulisortide VVA K VX isolaatidele, isolaatide biosünteesi intensiivsuse ja nende poolt esilekutsutud haigustunnuste iseloomu võrdlus inokuleeritud taimedel ja nende muguljärglastel näitas, et kahe katseaasta tulemused erinesid. Kõik nimetatud näitajad intensiivistusid teisel katseaastal, millest tuleneb vajadus allutada analüüsile vähemalt kaks põlvkonda. Analooget tulemusi on saadud varem nii kartulisortide (Agur, 1995) kui merikloonide (Agur, 1994) viirusresistentsusanalüüsil.

Järeldused

1. Kartulisordid ‘Timate’, ‘Sarme’ ja ‘Sante’ olid mittevastuvõtlikud (immuunsed) ning sort ‘Varane kollane’ täieliku vastuvõtlikkusega kõigile kolmele K VX isolaadile; ülejäänud sortide viirusresistentsuse/vastuvõtlikkuse aste, viiruse biosünteesi intensiivsus ja tunnusreaktsiooni iseloom sõltus kombinatsioonist sort-viirusisolaat.

2. Sama viiruse isolaatide virulentsus erines. Madalaim oli see isolaadil K VX_{Olev}.

3. Kartuli sordiaretuse ja seemnekasvatuse viirusresistentse lähtematerjali saamisel kartulisortidest viirusresistentsusanalüüsi abil on vajalik nakkusmaterjalina kasutada uuritava viiruse vabariigis levinumaid isolaate.

Kirjandus

- Agur M. Агур М. Восприимчивость сортов томата к инфекции М и S вирусом картофеля. – Изв. АН ЭССР, Биология, 36, 4, с. 306...312, 1987.
- Agur M. Eestis rajoonitud kartulisortide vastuvõtlikkus viirusnakkusele. – Kartulikasvatus, lk. 56...60, 1992.
- Agur M. Kartuli viiruskindluse uuringutest Eestis. – Põllumajandus, nr. 11, lk. 6...7, 1993.
- Agur M. A comparative study on the susceptibility/resistance of the meristemic clones of potato cultivars (Premiere, Eba, Kondor) to potato virus X. – Plant Science, vol. XXXI, 7–10, p. 184...187, 1994.
- Agur M. Eestis enamkasvatatavate kartulisortide resistentsusest kartuliviiruste X, Y, S, M ja N nakkusele. – Agraarteadus, nr. 2, lk. 152...159, 1995.

- Hedrejärv jt.: Хедреярв У. Г., Олсперт К. Э., Хедреярв Х. Х. Некоторые физико-химические свойства штаммов X-вируса картофеля, полученных путём электрофоретического фракционирования. – Штаммы вирусов. – Владивосток, с. 118...123, 1977.
- Kegler H., Kleinhempel H. Virusresistenz der Pflanzen. Berlin, Akademie – Verlag, 1987. – 184 S.
- Tiits: Тийтс А. А. Вирусолого-генетический анализ в селекции безвирусных сортов картофеля. – Сельскохозяйственная биология, 9, с. 46...50, 1986.
- Truve E., Kelve M., Aaspõllu A., Kuusksalu A., Seppänen P., Saarma M. Principles and background for the construction of transgenic plants displaying multiple virus resistance. – Arch. Virol., vol. 9, p. 41...50, 1994.
- Villemson: Виллемсон С. Устойчивость перспективных сортов томата к штаммам вируса аспермии томата. – Картофель и овощи, 5, с. 34...35, 1992.