

TEADUSTÖÖD

KARTULISORTIDE RESISTENTSUSANALÜÜS KARTULIVIIRUSE M ISOLAATIDE (KVM_{EBA}, KVM_{ERE}) NAKKUSELE

M. Agur

SUMMARY: *The resistance analysis of potato varieties to potato virus M isolates (KVM_{Eba}, KVM_{Ere}) infection. The virological evaluation of potato varieties 'Ants', 'Berber', 'Lazunak', 'Prigozii 2', 'Procura', 'Sante', 'Sarme', 'Timate' and 'Varajane kollane' earlier analysed to PVX resistance has been continued. The complete resistance analysis of these varieties to PVM two isolates were carried out. The degree of susceptibility/resistance, the virus biosynthesis intensity and symptoms of infection in PVM_{Eba} and PVM_{Ere} inoculated plants (the first year) and in the plants of their tuber reproduction (the second year) have been determined in order to compare the reaction of potato varieties to the infection with different isolates of the same virus and to select out variety-virus isolate combinations more prospective for breeding to this virus resistance. The susceptibility/resistance of varieties studied to PVM depended on the virus isolate and the age of virus infection in plant. Var. 'Prigozii 2' has 100% susceptibility to both isolates and var. 'Timate' to PVM_{Ere}. The lowest degree of susceptibility to PVM was established in var. 'Ants' and 'Procura' to both isolates and in var. 'Varajane kollane' to PVM_{Ere}. The highest biosynthesis intensity of both isolates was determined in var. 'Timate'. In var. 'Procura', 'Ants' and 'Varajane kollane' it was lower than in other varieties studied. Most of all varieties reacted to PVM_{Ere} with more severe symptoms than to PVM_{Eba}. In all combinations of variety and virus isolate the characteristics determined were higher in the plants of second generation (tuber reproduction) than in inoculated ones. The variety-virus isolate combinations with the degree of susceptibility less than 100% are recommended for using the clone selection to get the virus resistant material. Var. 'Procura', 'Ants' and 'Varajane kollane' are the most prospective for this purpose.*

EPMÜ Eksperimentaalbioloogia Instituudi (EBI) taimeviroloogia osakonna uuringud on suunatud kartulisordidaretuse ja seemnekasvatuse kaasaja nõuetele vastava lähtematerjali saamise teoreetiliste ja tehnoloogiliste aluste väljatöötamisele (Agur, 1993, 1996; Agur jt., 1996). Nimetatud uuringu ühe osa moodustab Eestis enamkasvatatavate, sordilehele kantud kartulisortide viirusresistentsusanalüüs tähtsamatele kartulit kahjustavatele viirustele. Sortide viirusresistentsusanalüüsi viiakse läbi kõigis kartulidaretusega tegelevates maades, eesmärgiga välja selekteerida aretuses perspektiivseid sorte, millel on äärmuslik resistentsus teatud viirusele; eriti hinnaliseks peetakse mitmele viirusele resistentseid (isogeenseid) sorte (Ross, 1986). EBI taimeviroloogia osakonna uuringute tulemusena on antud viirusresistentsushinnang Eesti sordilehele kantud 11 kartulisordile viie kartuliviiruse (KVM, KVS, KVM, KVM, KVM, KVM) suhtes (Agur, 1995), tööd on alustatud 9 sordiga, mis siiani on läbinud resistentsusanalüüsi KVM-le (Agur, 1997). Analüüsi tulemusena on selgunud, et kartulisordi viirusresistentsusnäitajad – vastuvõtlikkuse aste (VVA), viiruse biosünteesi intensiivsus (VBSI), tunnusreaktsiooni intensiivsus (TRI), erinesid sorditi ja sõltusid nii viirusest kui selle isolaadist, samuti infektsiooni vanusest taimes. Tehti kindlaks viis äärmusliku resistentsusega ('Mats' – KVM, 'Premiere' – KVM, 'Timate' – KVM, 'Sarme' – KVM, 'Sante' – KVM) ja neli kõrgresistentset ('Prevalent' – KVM, 'Vigri' – KVM, 'Premiere' – KVM, 'Vigri' – KVM) kombinatsiooni, mida võib lugeda perspektiivseks lähtematerjaliks vastavatele viirustele resistentsete sortide aretuses (Agur, 1996). Kolmel sordil märgiti suhteliselt kõrget resistentsust mitmele viirusele ('Vigri' – KVM, KVM, KVM, KVM, 'Prevalent' – KVM, KVM, KVM, 'Sulev' – KVM, KVM, KVM) (Agur, 1995).

Käesoleva uuringuga jätkati viirusresistentsushinnangu andmist Eesti sordilehele kantud 9-le uuele kartulisordile, allutades need resistentsusanalüüsile KVM suhtes. Viidi läbi uuritavate sortide kompleksne viirusresistentsusanalüüs (VVA, VBSI, TRI) viiruse kahe isolaadi nakkusele eesmärgiga saada andmeid analüüsi tulemuste sõltuvuse kohta viirusisolaadist ja uuritavate sortide kasutatavusest lähtematerjalina KVM-resistentsusaretuses.

Materjal ja meetodika

Uurimisobjektiks olid kartulisordid 'Ants', 'Berber', 'Lazunak', 'Prigoži 2', 'Procura', 'Sante', 'Sarme', 'Timate' ja 'Varajane kollane' ning KVM isolaadid KVM_{ERE} – isoleeritud kartulisordist 'Ere' ja KVM_{EBA} – isoleeritud kartulisordist 'Eba'.

Katsematerjaliks kasutati uuritavate sortide meristeemmeetodil tervendatud taimi, mille algmaterjal saadi EPMÜ Taimebiotehnoloogia Uurimiskeskusest EVIKA. Taimed mikrokloniti EBI taimeviroloogia osakonna laboris. 2...3 nädala vanused mikrotaimed istutati ühekaupa pottidesse turba-mättamulla segusse ja kasvatati kasvuhuone tingimustes. 7–8 lehe staadiumis nakatati igast sordist 12 taimet uuritud KVM isolaatidega mahlinokulatsiooni abil. Ühe kuu vanused taimed allutati komplekssele viirusresistentsusanalüüsile: keskmises leheproovis (igalt taimelt 3. tipmine leht) määrati vastuvõtlikkuse aste (nakatunud taimede %), viiruse biosünteesi intensiivsus (antigeeni kontsentratsioon ELISA-testi abil) (Agur, 1994) ning haigustunnuste iseloom ja intensiivsus. Viirusresistentsusanalüüs viidi läbi inokuleeritud taimedel (1. katseaasta) ja nende muguljärglastel (2. katseaasta).

Katsetulemused ja nende analüüs

Uuritud 9 kartulisordi KVM isolaatidega KVM_{ERE} ja KVM_{EBA} inokuleeritud taimede ja nende muguljärglaste vastuvõtlikkuse astme (VVA) analüüsi tulemused on esitatud tabelis 1. Katsetulemustest selgus, et uuritud sortide VVA KVM isolaatidele erines ja varieerus äärmuslikult resistentsusest e. mittevastuvõtlikkusest (VVA 0%) kuni 100%-lise vastuvõtlikkuseni, sõltuvalt viirusisolaadist ja viirusinfektsiooni vanusest taimes. VVA 100% tehti kindlaks mõlemal katseaastal, s.t. nii inokuleeritud taimedes kui nende muguljärglastes sordil 'Prigoži 2' KVM mõlema isolaadi ja sordil 'Timate' isolaadi KVM_{ERE} nakkuse korral. Ülejäänud sortide VVA oli alla 100%; selle tase sõltus viirusisolaadist ja analüüsitava taime kasvustaadiumist pärast inokulatsiooni. Inokuleeritud taimede VVA analüüs näitas, et neljal sordil ('Berber', 'Lazunak', 'Sarme', 'Varajane kollane') oli VVA tase kõrgem KVM_{EBA} nakkusele ja kahel sordil ('Sante', 'Timate') KVM_{ERE} nakkusele. Kolmel sordil ('Ants', 'Prigoži 2', 'Procura') oli VVA mõlemale isolaadile võrdne. Muguljärglaste analüüsi tulemustest selgus, et uuritud 18 sort-viirusisolaat-kombinatsioonist oli VVA tase tõusnud kümnel ja jäänud samale tasemele kaheksal kombinatsioonil, seejuures oli VVA kõrgem sortides 'Ants', 'Berber', 'Sante' ja 'Varajane kollane' KVM_{EBA} nakkusele ning sortides 'Lazunak', 'Procura', 'Sarme' ja 'Timate' KVM_{ERE} nakkusele, sordis 'Prigoži 2' oli see mõlemale isolaadile võrdne. Erilist tähelepanu väärivad VVA analüüsi tulemused sortides 'Procura' ja 'Ants', mille 1. katseaasta, s.t. inokuleeritud taimede analüüsi andmed näitasid KVM mõlemale isolaadile äärmuslikku resistentsust (VVA 0%). Samade sortide inokuleeritud taimede muguljärglaste analüüsil selgus, et neis on viirus määratav. Sordi 'Procura' VVA jäi ka muguljärglastes suhteliselt madalaks (KVM_{EBA} – 8,3%, KVM_{ERE} – 10,4%), sordi 'Ants' puhul oli see tõusnud märkimisväärsele tasemele (KVM_{EBA} – 39,5%, KVM_{ERE} – 29,9%). KVM_{ERE} nakkusele jäi VVA tase suhteliselt madalaks (25%) mõlemal katseaastal ka sordis 'Varajane kollane'.

KVM isolaatide biosünteesi intensiivsuse (väljendatuna antigeeni kontsentratsioonina) analüüsi tulemused uuritud sortide inokuleeritud taimedes ja nende muguljärglastes on toodud tabelis 2. Analüüsi tulemustest selgus, et uuritud sortide võime biosünteesida KVM isolaate erines. Inokuleeritud taimede analüüsiga tehti kindlaks, et mõlema isolaadi biosünteesi tase oli kõige kõrgem sordis 'Timate', suhteliselt kõrge oli see KVM_{EBA} puhul sortides 'Lazunak' ja 'Varajane kollane' ning KVM_{ERE} puhul sordis 'Prigoži 2'. Sortide 'Ants' ja 'Procura' inokuleeritud taimedes ei olnud KVM mõlema isolaadi biosüntees tuvastatav. Suhteliselt madalaks jäi KVM_{EBA} BSI sordis 'Sante' ja KVM_{ERE} BSI sordis 'Sarme'. Inokuleeritud taimede muguljärglaste analüüsi tulemused näitasid, et KVM isolaatide BSI muutuste iseloom neis erines. KVM_{ERE} BSI tase tõusis teisel katseaastal kõikides sortides. KVM_{EBA} puhul märgiti seda ainult neljal sordil ('Ants', 'Procura', 'Sarme', 'Sante').

Ülejäänud sortides oli KVM_{Ere} BSI tase esimese katseaasta tulemustega võrdne või madalam. Kõige kõrgem oli teisel katseaastal KVM_{Ere} BSI tase sortides 'Timate' ja 'Prigoži 2', KVM_{Eba} BSI tase sortides 'Timate' ja 'Sante'. Sortide 'Ants' ja 'Procura' KVM mõlema isolaadiga inokuleeritud taimede muguljärglastes oli BSI määratav, selle tase jäi aga madalamaks kui ülejäänud sortides, v.a. sort 'Varajane kollane', milles BSI tase oli KVM_{Ere} nakkuse puhul võrdne ja KVM_{Eba} nakkuse puhul madalam kui nimetatud kahes sordis. Viiruse akumulatsioon taimes on kvantitatiivseks näitajaks, mille alusel otsustatakse selle suhtelise viirusresistentsuse üle (Hunger, Sherwood, 1985; Kürtzinger, Neitzel, 1985; Kuhn *et al.*, 1986). Saadud analüüsi tulemused lubavad väita, et sortide 'Procura', 'Ants' ja 'Varajane kollane' suhteline resistentsus KVM -le on kõrgem kui teistel katses olnud sortidel.

KVM nakkuse tunnusreaktsiooniks uuritud sortidel oli mosaiik ja kimarlehisus, mille intensiivsus erines sorditi ning sõltus viirusisolaadist ja nakkuse vanusest taimes (tabel 3). KVM_{Eba} nakkuse korral ei avaldunud esimesel katseaastal inokuleeritud taimedel haigustunnuseid ühelgi sordil. KVM_{Ere} nakkuse korral märgiti kahel sordil ('Timate' ja 'Varajane kollane') nõrka mosaiiki. Teisel katseaastal lõi kõikide uuritud sortide inokuleeritud taimede muguljärglastel süsteemne reaktsioon, mis avaldus mosaiigina ja/või kimarlehisusena, kusjuures enamikul sortidel olid haigustunnused intensiivsemad KVM_{Ere} nakkuse korral. Suhteliselt nõrku haigustunnuseid kutsusid KVM mõlemad isolaadid esile sortidel 'Ants' ja 'Procura' ning KVM_{Eba} sortidel 'Prigoži 2', 'Sante' ja 'Timate'. Kõige intensiivsemaid tunnuseid märgiti sortidel 'Lazunak', 'Prigoži 2' ja 'Timate' KVM_{Ere} nakkuse korral.

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

Sort <i>Variety</i>	KVM_{Eba} PVM_{Eba}		KVM_{Ere} PVM_{Ere}	
	1. aasta*	2. aasta**	1. aasta	2. aasta
	<i>1st year*</i>	<i>2nd year**</i>	<i>1st year</i>	<i>2nd year</i>
'Ants'	0	39,5	0	29,9
'Berber'	83,3	83,3	41,6	66,7
'Lazunak'	83,3	87,5	66,6	91,6
'Prigoži 2'	100,0	100,0	100,0	100,0
'Procura'	0	8,3	0	10,4
'Sante'	25,0	79,2	75,0	75,4
'Sarme'	91,6	91,6	58,3	95,8
'Timate'	83,3	83,3	100,0	100,0
'Varajane kollane'	75,0	79,1	25,0	25,0

* Inokuleeritud taimed / *Inoculated plants*

** Inokuleeritud taimede muguljärglased / *Second generation*

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

Sort <i>Variety</i>	KVM_{Eba} PVM_{Eba}		KVM_{Ere} PVM_{Ere}	
	1. aasta	2. aasta	1. aasta	2. aasta
	<i>1st year</i>	<i>2nd year</i>	<i>1st year</i>	<i>2nd year</i>
'Ants'	0,011	0,249	0,004	0,202
'Berber'	0,266	0,235	0,183	0,302
'Lazunak'	0,336	0,274	0,246	0,300
'Prigoži 2'	0,332	0,285	0,271	0,317
'Procura'	0,022	0,220	0,014	0,161
'Sante'	0,172	0,296	0,212	0,279
'Sarme'	0,207	0,253	0,140	0,286
'Timate'	0,373	0,343	0,325	0,364
'Varajane kollane'	0,336	0,202	0,214	0,219

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

Tabel 3. KVM isolaatide haigustunnused uuritud kartulisortidel
Table 3. Symptoms of PVM isolates infection on potato varieties

Sort <i>Variety</i>	KVM _{Eba} <i>PVM_{Eba}</i>		KVM _{Ere} <i>PVM_{Ere}</i>	
	1. aasta <i>1st year</i>	2. aasta <i>2nd year</i>	1. aasta <i>1st year</i>	2. aasta <i>2nd year</i>
‘Ants’	12 –	6(KL), 6 –	12 –	7(KL), 5 –
‘Berber’	12 –	5(M), 4(KL), 7 –	12 –	12(KL)
‘Lazunak’	12 –	10(KL), 2 –	12 –	9M, 12KL
‘Prigoži 2’	12 –	5KL, 7 –	12 –	8M, 12KL
‘Procura’	12 –	2(M), 1M, 9 –	12 –	4(KL), 8 –
‘Sante’	12 –	4(KL), 8 –	12 –	9(KL), 3 –
‘Sarme’	12 –	12(KL)	12 –	6(M), 2M, 4KL, 6 –
‘Timate’	12 –	5(KL), 7 –	7(M), 5 –	12M, 12KL
‘Varajane kollane’	12 –	2M, 11KL, 1 –	3(M), 9 –	3M, 9 –

Haigustunnused / *Symptoms*:

- M – tugev mosaiik / *severe mosaic*
- (M) – nõrk mosaiik / *mild mosaic*
- KL – tugev kimarlehisis / *severe leaf crimpling*
- (KL) – nõrk kimarlehisis / *mild leaf crimpling*
- – tunnusteta / *symptomless*

Uuritud sortide inokuleeritud taimede ja nende muguljärglaste analüüsi tulemuste võrdlus näitas, et VVA, VBSI ja TRI neis erinesid, olles madalamad esimesel katseaastal inokuleeritud taimedes ja kõrgemad teisel katseaastal nende muguljärglastes. Saadud tulemused kinnitasid meie poolt varem püstitatud nõuet analüüsida kartulile viirusresistentsuse hinnangu andmisel vähemalt kaht põlvkonda (Agur, 1994, 1995). Eriti ilmekalt avaldus see sortide ‘Ants’ ja ‘Procura’ puhul, mille inokuleeritud taimede analüüsi tulemused olid desorienteerivad, andes võimaluse lugeda nimetatud sorte ennatlikult KVM-le mittevastuvõtlikeks. Nende sortide vastuvõtlikkuse/resistentsuse tase KVM-le selgus alles teisel katseaastal inokuleeritud taimede muguljärglaste analüüsi tulemusena. Haigustunnuste avaldumine ja viiruse isoleeritavus teises ja/või kolmandas põlvkonnas pärast taimede inokuleerimist on omane ka teistele vegetatiivselt paljundatavatele kultuuridele (Villemson, 1994).

Käesoleva uuringu tulemustest selgus, et kõik uuritud kartulisordid olid KVM-le vastuvõtlikud, s.t. ühtki neist ei saa kasutada vahetult KVM-resistentsusaretuses lähtematerjalina. Uuritud sortide viirusresistentsusnäitajate intensiivsuse tasemete võrdlus näitas, et kõige kõrgemat vastuvõtlikkust e. madalamat resistentsust KVM-le näitasid sordid ‘Timate’ ja ‘Prigoži 2’, mille VVA, VBSI ja TRI olid kõrgemad kui ülejäänud sortide samad näitajad. Sortide ‘Procura’ ja ‘Ants’ VVA, VBSI ja TRI mõlemale KVM isolaadile ja sordil ‘Varajane kollane’ KVM_{Ere}-le olid märkimisväärselt madalamad kui teistel katses olnud sortidel. Saadud andmed lubavad väita, et sordid ‘Ants’ ja ‘Procura’, samuti ‘Varajane kollane’ on kõrgresistentsed KVM-le ja neid võib lugeda KVM resistentsusaretuse lähtematerjali saamisel suhteliselt perspektiivseteks. Märkimist väärib asjaolu, et samade katses olnud sortide KVM- ja KVM-resistentsusanalüüsi tulemused erinesid oluliselt. Sordid ‘Timate’, ‘Sarme’ ja ‘Sante’, millel tehti kindlaks mittevastuvõtlikkus (immuunsus) KVM-le (Agur, 1997), osutasid KVM-le vastuvõtlikeks, seejuures sordil ‘Timate’ VVA, VBSI ja TRI KVM-le ületas enamiku katses olnud sortide vastavaid näitajaid. Sordid ‘Procura’, ‘Ants’ ja ‘Varajane kollane’, mis KVM-le olid 100%-lise vastuvõtlikkusega, reageerisid KVM-le kui kõrgresistentsed. Seega ühelgi katses olnud sordil ei avaldunud isogeensust nimetatud viiruste suhtes. Saadud andmed kinnitasid seisukohta, et ühe ja sama sordi vastuvõtlikkus/resistentsus viirustele erineb. Katses olnud sortidega, millel VVA KVM-le oli alla 100% ja millel avaldus geneetiline varieeruvus, nähakse ette jätkata tööd kloonvaliku abil eesmärgiga välja selekteerida resistentset materjali. Läbiviidud KVM-resistentsusanalüüsides käigus on välja selekteeritud KVM-resistentseid kloonide järgmiselt. KVM_{Eba} resistentseid kloonide saadi sordilt ‘Varajane kollane’ – 9, ‘Timate’ – 2, ‘Procura’ – 11, ‘Sante’ – 3, ‘Sarme’ – 1, ‘Ants’ – 9,

‘Berber’ – 6, ‘Lazunak’ – 7 ning KVM_{Ere}-resistentseid sordilt ‘Varajane kollane’ – 1, ‘Sarme’ – 1, ‘Procura’ – 10, ‘Sante’ – 5, ‘Ants’ – 8, ‘Berber’ – 2, ‘Lazunak’ – 2. Väljaselekteeritud KVM-resistentsed kloonid allutatakse edaspidi sekundaarnakkusele sama viiruse suhtes ja retsiprookanalüüsile K VX suhtes, et sedastada väljaselekteeritud kloonide hulgas isogeensete kloonide olemasolu.

Andmed Jõgeva SAI aretatud sortide ‘Ants’ ja ‘Sarme’ resistentsuse/vastuvõtlikkuse kohta KVM nakkusele on saadud esmakordselt.

Järeldused

1. Kõik katses olnud kartulisordid olid KVM uuritud isolaatidele (KVM_{Ere} ja KVM_{Eba}) vastuvõtlikud, kusjuures VVA, VBSI ja TRI tase sõltus nii viirusisolaadist kui viirusinfektsiooni vanusest taimes.

2. Ükski uuritud sortidest ei ole vahetult kasutatav KVM-resistentsusaretuses lähtematerjalina. Sortide ‘Procura’, ‘Ants’ ja ‘Varajane kollane’ resistentsus KVM-le oli kõrgem kui teistel katses olnud sortidel, mis lubab neid sorte viirusresistentsusaretuse seisukohalt lugeda kõige perspektiivsemateks.

3. Viirusresistentsushinnangu tõepäraste andmete saamiseks on vajalik analüüsida nii inokuleeritud kartulitaimi kui nende muguljärglasi.

Kirjandus

- 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, No. 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.
- Agur M. Kartuli sordiaretuse ja seemnekasvatuse viirusresistentse lähtematerjali saamise tehnoloogilised alused. – Eesti teadlaste kongressi ettekannete kokkuvõtteid, lk. 349, 1996.
- Agur M. Kartulisortide resistentsusanalüüs kartuliviiruse X isolaatide (K VX₁₇, K VX_{Olev}, K VX_{Sulev}) nakkusele – Agraarteadus, nr. 2, lk. 157...161, 1997.
- Agur M., Kollist Ü., Tikk E., Soon K. Kartuli aretus-lähtematerjali viirusresistentsuse tõstmise tehnoloogilistest võimalustest. – Kaasaja meetodid sordiaretuses, Jõgeva, lk. 73...85, 1996.
- Hunger R. M., Sherwood J. L. Use of symptomatology and virus concentration for evaluating Resistance to Wheat Soilborn Mosaic Virus. Plant Disease Reporter, vol. 69, No. 10, p. 848...850, 1985.
- Kuhn C. W., Benner C. P., Hobbs H. A. Resistance responses in cowpea to Southern Bean Mosaic Virus based on virus concentration and symptomatology. – Phytopathology, vol. 76, No. 8, p. 795...799, 1986.
- Kürtzinger B., Neitzel K. Untersuchungen zur Konzentration der Kartoffel-X-Virus (PVX) in primarinfizierten Kartoffelpflanzen mit ELISA als Basis zur Ermittlung der relativen Virusresistenz. – Arch. Züchtungsforsch., vol. 15, No. 6, p. 389...393, 1985.
- Ross H. Potato Breeding – Problems and Perspectives. – Berlin, Hamburg: Verlag Paul Parey, 1986. – 181 S.
- Villemson S. Susceptibility to cucumovirus of the primula species. – Plant Science, vol. XXXI, No. 7-10, p. 145...148, 1994.