

KARTULIMUGULA MOONDUMISTE (VÄRTNA-, PIRNI- JA HANTLIKUJULISUS) OLEMUSEST JA VIROIDI NAKKUSEST

V. Rosenberg, P. Talvoja

ABSTRACT. *On the nature of the alternations (spindle-, pear-, etc. shaped) in potato tubers and the viroid-infection. The spindle-shaped potato tubers have previously been spread in the southern regions. In the plants of the Research Centre EVIKA, the Potato Spindle Tuber Viroid (PSTV) has been determined in Denmark in one of the variety 'Vigri' meristem clone. Later on, the PSTV-infection was determined in Estonia, in one of the variety 'Kondor' meristem clone.*

In Estonia, the tubers with the disease symptoms have been ascertained in the variety 'Ando'. The meristem clone of the variety 'Ando' with the supposed PSTV-infection was susceptible to the late blight, which caused the yield decrease up to 4–5 times. The yield, from the tubers with the disease symptoms, revealed 41.8–47.8% of the tubers with the same disease symptoms. The rest were assessed as externally healthy. In studying the disease, it is necessary to apply the methods of PSTV diagnosis and to avoid the planting of the tubers with the disease symptoms.

Our objective was to study the external symptoms of the damaged plants and tubers and to determine the presence of the PSTV.

Keywords: *potato spindle tuber viroid, spread, harmful, disfigured tubers, late blight, yield.*

Esmakordselt täheldati kartulimugula värtnakujulisust kui kartuli patoloogiat ja mugula kuju pikenemist, millega sageli kaasnes lõhenemine, 1922. aastal Ameerikas. Osal sortidel ilmnis tugev mahajäämus kasvus ja varte sõlmevahede lühenemine.

Taime puhma kuju omapärase muutumise tõttu hakati haigust nimetama gootikaks: lehed muutuvad kitsaks ja kinnituvad varrele teravama nurga all kui tavaliselt. Sümptomitega pealsetel ei tarvitsenud alati kaasneda tunnuste muutumist mugulatel või vastupidi.

Probleeme on olnud haiguse etioloogia kindlaksmääramisega. Teda on liigitatud kidumishaiguste hulka. Mõõdunud sajandi viiekümnendail aastail tehti kindlaks selle infektsiooniline olemus. Algul peeti värtnakujulisust viirushaiguseks – tekitaja *Solanum virus* 12 Smith. Kuid siis tõestas ameeriklane T. Diener (1971), et värtnakujulisuse tekitaja ei ole viirus, vaid madalmolekulaarne RNH. Taolisi haigusetekitajaid hakati nimetama viroidideks.

Need haigusetekitajad on võimelised põhjustama muutusi taime kasvus ja hormonaalses bilansis, tekitades kasvusurutuse, lehtede ja mugulate deformatsiooni. Samuti halvatakse fotosüntees taimes, mille tulemusena ilmneb mosaiik, kolletumine, lokaalsed klorootilised laigud, põhjustades ülitundlikkuse reaktsioone, lokaalseid ja süsteemseid nekroose.

Kartulimugula värtnakujulisuse viroidi (*Potato Spindle Tuber Viroid* – PSTV) infektsiooniline algallikas kultuurkartulil ei ole teada. Viroid võib edasi kanduda tolmuteradega ja (botaanilise) seemnega. Viroidi ilmumise ja ulatusliku levimisega aretusmaterjali ning seemnemugulatega seostatakse metsiku kartuli liikide omavahelist ristamist (Musin *et al.*, 2001). Nimetatud autorite arvamusel sisaldavad paljud uued sordid viroidi latentset vormis. Praegu on viroidid leitud kõigis kartulikasvatusega tegelevates riikides. Euroopas on PSTV karantiini objekt.

Kartulimugula värtnakujulisuse viroid (PSTV) oli tuntud seni soojema kliimaga piirkondades, näiteks Venemaa Volga-äärsetel aladel. Venemaa uurimisasutustes (Kartulimajanduse Instituut jt) on meristeemtaimede toodangus avastatud PSTV nakkus 70–100%-selt (Mozhaeva *et al.*, 1995). Tõenäoliselt on tegemist sellega, et meristeemtervendus kasutatud kujul võimaldas taimmaterjali vabastamise viirustest, kuid mitte viroidist. Et PSTV levib taime mahlaga, siis instrumentide puuduliku desinfitseerimise tõttu on nakkust võimalik levitada ka mugulate või taimede tükeldamisega.

Termoteraapia meetodid on viroidi suhtes väheefektiivsed, sest optimaalne temperatuur viroidi paljuneamiseks ületab 30 °C ja seetõttu soojusega mõjutamine viroidist vabastamise asemel suurendab hoopis tema kontsentratsiooni taimekudedes. Viroidi ei ole võimalik elimineerida ka madala temperatuuriga (Musin *et al.*, 2001).

1996. aastal leiti Taanis EPMÜ Taimebiotehnoloogia Uurimiskeskuse EVIKA kümnest sordi 'Vigri' uuritud meristeemkloonist ühel kloonil viroidi nakkus. Järgmisel aastal määrati Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudis (KBFI) sama haigusetekitaja ka sordi 'Kondor' ühel meristeemkloonil (kloon 622) ja samal 'Vigri' meristeemkloonil, mis Taanis analüüsimisel osutus nakatunuks.

Teaduskeskuses EVIKA märgati meristeemkloonide võrdlemise katsepõllul juba varem nähtust, mis ei sarnanenud viirushaigustega. Nendel taimedel ei leitud ka eksperimentaalbioloogia instituudi viroloogia sektoris mitme meetodiga määramisel viiruse nakkust. Katsepõllul esines 1982. aastal sordi 'Vigri' meristeemkloonide hulgas kaks märgatavalt erinevat kloonit. Nende kloonide taimed olid kõik ühtlaselt madalamad ja heledama värvusega kui teiste kloonide taimed. Tunnus oli märgatav kasvu algfaasis, hilisemas kasvufaasis vahe kadus. Mugulate saagikus oli nendel kloonidel väiksem. Ka nendest meristeemkloonidest uue tervendustsükli läbinud meristeemsed järglased kandsid samu tunnuseid. Meie kogemuste põhjal oleks viirushaiguste puhul esinenud nende hulgas kindlasti terveid meristeemkloone. Hiljem Taanis avastatud viroidinakkusega meristeemkloon oli kirjeldatud tunnustega meristeemklooni järglane.

Olles jälginud mitmeid sorte nii katsepõldudel kui toomispõldudel, oleme märganud moondunud kujuga mugulaid (Rosenberg, Talvoja, 2001). Kartulikasvatavad on leidnud, et sordil 'Ando' on moondunud mugulaid rohkem vanematel seemnepaljundustel. Kartulahaigus, mille põhjustajaks on viroid, vajab kiiresti põhjalikku uurimist. Viroid ei allu samadele tervendusmeetoditele nagu kartuli viirushaigused. Suurim erinevus on see, et viirusi saab enne meristeemi eraldamist pärssida soojusravi ehk termoteraapia abil. Viroidile mõjub kõrge temperatuur just soodustavalt. Viimaste aastate soojad suved ja lehetäide massiline esinemine võib olla soodustanud viroidi levikut. Viroidi ei ole võimalik serodiagnoosi abil määrata. Seni on Eestis viroidi analüüsid tehtud Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudis.

Võtmesõnad: kartuli värtnakujulisuse viroid, levik, kahjulikkus, moondunud mugulad, lehemädanik, saak.

Materjal ja meetodika

Kartulisortide 'Ando' ja 'Kondor' meristeemkloonid pandi maha 40 mugula kaupa 9 m pikkusesse vaku neljas korduses. Uuritavaid meristeemkloone võrreldi visuaalselt nakatumata meristeemkloonidega. Arvestati saak ja selle struktuur.

Teise katse jaoks valiti sordi 'Ando' tootmispõllu mugulate hulgast silma järgi värtnakujulisuse tunnustega mugulad, mis jaotati kolme gruppi:

- 1 – nõrgalt märgatavad moondumise tunnused;
- 2 – selgesti märgatavate moondumise tunnustega silinderjad mugulad;
- 3 – tugevalt moondunud ja peened värtnakujulised mugulad.

Niisugune seemnekartul pandi vaku 2 jooksva meetri kohta 8 mugulat kolmes korduses. Koristamisel arvestati saak ja mugulad jaotati eelpool kirjeldatud välistunnuste põhjal gruppidesse. Kasvuperioodil jälgiti taimede tärkamist, arenemist ning põõsa kuju ja värvust.

Tulemused ja arutelu

Sordi 'Ando' meristeemkloon 158 (tabel 1) oli tunduvalt madalama kasvuga ja selle sordi kohta erakordselt tugevasti kahjustatud lehemädanikust. Mõlema vaatlusaluse sordi nakkuskahtlusega meristeemkloonidel 'Ando' 158 ja 'Kondor' 622 oli taime produktiivsus tunduvalt väiksem – mugulate arv, mugula mass ja saak isegi 1,7–5 korda.

Tabel 1. Sordi 'Ando' viroidi kahtlusega ja tervete ning sordi 'Kondor' viroidi nakkusega ja tervete meristeemkloonide saagikus

Table 1. The yield in the variety 'Ando' of the PSTV-suspicious and healthy, and in the variety 'Kondor' of the PSTV-infected and healthy meristem clones

Sort, katseaasta, meristeemklooni nr <i>Variety, year of test, clone number</i>	Lehemädaniku kahjustus <i>Late blight damage</i>	Mugulaid taime kohta tk <i>Number of tubers per plant</i>	Mugula keskmine mass g <i>The average weight of tuber, g</i>	Saak t/ha <i>Yield t/ha</i>
'Ando', 1998				
75	puudus / <i>absent</i>	3,1 ± 0,2	83 ± 2	16,1 ± 1,6
158	väga tugev / <i>very strong</i>	1,3 ± 0,2	55 ± 6	4,1 ± 0,4
183	puudus / <i>absent</i>	3,3 ± 0,5	95 ± 7	19,9 ± 3,7
'Kondor', 1994				
625	ei määratud / <i>not determined</i>	6,0 ± 0,5	110 ± 10	33,6 ± 5,5
622	ei määratud / <i>not determined</i>	4,3 ± 0,3	83 ± 12	18,0 ± 1,4
1068	ei määratud / <i>not determined</i>	5,6 ± 0,3	116 ± 10	33,1 ± 2,3

Sordi 'Ando' 1998. a katse üldine saagitase oli madal seetõttu, et põld kannatas liigniiskuse all. Sordi 'Kondor' meristeemklooni nr 622 pealsed erinesid teistest madalama kasvu, surutud põõsa ja avanemata lühikese õievarrega õisikute poolest. Mugulad olid märgatavalt heledama roosa värvusega, ebahütlase kuju ja rohkete kasvulõhedega. Seetõttu saadeti selle meristeemklooni taimed diagnoosimiseks viroidi suhtes.

Sordi 'Kondor' puhul saab rääkida viroidi olemasolust, kuna see oli määratud KBFI-s. Sellist määramist ei ole sordi 'Ando' kohta, kuid siin on tähelepanuväärne meristeemkloon 158 erakordne väljanägemine põllul, tugev lehemädaniku kahjustus ja oluliselt (4–5 korda) väiksem mugulasaak. Lõpliku otsuse saamiseks oleks vajalik haigusetekitaja kindlakstegemine usaldusväärse diagnostilise meetodiga.

Alati ei ole nakatunud taime mugulad moondunud värtna-, pirni- või hantlikujuliseks, vaid haigus võib esineda latentselt. Seetõttu on probleemiks haiguse diagnoosimine. Viroidi määramisel kasutatakse molekulaarbioloogilisi ja elektroforeesi meetodeid (Musin *et al.*, 1998). Eelnimetatud meetodid on aga keerulised ja vajavad spetsiaalseid seadmeid. Võimalik on kasutada ka indikaatoraimede meetodit. Indikaatoraimedest on tuntum *Scopolis sinensis* ja tomatisorit 'Rutgers' (Kozlov, Krain, 1995; Vlasov, Krasnova, 1995).

Kas moondumistunnustega seemnemugulad annavad seda tunnust edasi ka järgmisele põlvkonnale, uuriti sordi 'Ando' seemnepõllult valitud kolme grupi mugulatega 2000. a. Andmed on toodud tabelis 2.

Tabel 2. Sordi 'Ando' moondumistunnustega seemnemugula mõju selle tunnuse edasikandumisele järgmises põlvkonnas

Table 2. The effect of the variety 'Ando' disfigured-feature seed tuber on transmitting of this feature to the next generation

Värtnakujulisuse tunnustega seemnemugulate grupp <i>The fraction of spindle-shaped seed tubers</i>	Mugulate arv tk <i>The number of tubers</i>		Mugula keskmine mass g <i>The average weight of tuber, g</i>	Värtnakujulisuse tunnustega mugulate % saagis <i>The percentage (%) of the spindle-shaped tubers in yield</i>			Saak lapilt kg <i>Yield per plot, kg</i>	
	lapilt <i>per plot</i>	taime kohta <i>per plant</i>		terved <i>healthy</i>	grupp <i>the fraction</i>			
					1	2		3
1	61 ± 5	7,6	50,7	59,9	23,1	15,4	1,6	3,1
2	46 ± 7	5,8	70,2	52,2	26,1	16,7	5,1	3,2
3	42 ± 6	5,2	66,1	59,2	24,8	12,0	4,0	2,7

Neist andmeist ilmneb, et värtnakujulisuse tunnustega seemnemugulatest kasvanud taimedel oli saagis üle poole mugulatest haigustunnusteta ja seda kõigil mahapandud gruppidel. See ei välista, et ilma väliste haigustunnusteta mugulad on terved. Haigusetekitaja olemasolu diagnoosimiseks on vaja kasutada selleks ette nähtud määramismeetodeid.

On täheldatud, et viroidide kahjustust võib suurendada tema koosinemine teiste taimahaigustega. Meie katsest nähtus, et viroidi kahtlusega taimi kahjustas kartuli lehemädanik tunduvalt tugevamalt, kui terveid taimi. Peale siintoodud kartuli lehemädaniku võib viroidi kahjustus suurenedagi veel koosinemisel viirushaigustega, näiteks kartuli X- ja M-viirusega (Romanova, Ledneva, 1995).

On avastatud seoseid kartuli keerdlehisuse ja viroidi ülekandmisel lehetäide kaudu (Syller, Marczewski, 1996; Querci *et al.*, 1996; Salazar *et al.*, 1996). Nakkust võib sarnaselt mugulatega edasi kanda botaanilise seemnega ja õietolmuteradega. Peamisteks levitajateks peetakse lehetäisi.

Kokkuvõte ja järeldused

Käesolevast uurimisest selgus, et viroidi (PSTV) nakkusega või nakkuskahtlusega kartulitaimed erinesid väliselt märgatavalt tervetest taimedest. Taimed olid tunduvalt madalama kasvuga, põõsad moondunud kujuga, õisikud paiknesid varrel madalamal, õied ei avanenud ja varisesid enneaegselt. Mugulate kuju oli moondunud, esines lõhesid ja värvuse muutust. Haigustunnustega taimede saagikus oli 1,7–5 korda madalam.

Seega on tegemist tõsist kahju tekitava taimahaigusega Eesti tingimustes, mille kohta on vähe teavet. Tõenäoliselt on viroidi nakkus toodud Eestisse seemnekartuli ja aretusmaterjaliga. Viimaste aastate kuumad ja kuivad suved olid soodsad lehetäide levimiseks, mis võis levitada ka viroidi nakkust. On halvenenud ka kartuli seemnekasvatuse olukord.

Tänu sellele, et EPMÜ Taimebiotehnoloogia Uurimiskeskuses EVIKA toimub meristeemkloonide põldvõrdlus enne tervendatud materjali paljundamist seemnekasvatusele, on ära hoitud viitõõri levimine sellisel teel, nagu on juhtunud mujal.

Uurimistööd on vaja jätkata. Oluline on uurida erinevate sortide välistunnuseid, et seemnekasvatajad ja seemnepõldude tunnustajad võiksid neid taimede kasvu ajal ja mugulaanalüüside tegemisel ära tunda. Samuti on vaja uurida PSTV kui haigusetekiitaja levimise teid ja taimede tervendamise võimalusi.

Kirjandus

- Kozlov, Krain: Козлов Л. П., Крайн А. В. Проблемы сертификаций картофеля на вирусную инфекцию. – Защита растений в условиях реформирования агропромышленного комплекса. – Санкт-Петербург, с. 12–13, 1995.
- Mozhaeva jt: Можая К. А., Васильева Т. Л., Кастелева Т. Б. Опасность распространения вириды веретеновидности клубней при получении безвирусного картофеля. – Защита растений в условиях реформирования агропромышленного комплекса. – Санкт-Петербург, с. 67, 1995.
- Musin, S. M., Babosha, A. V., Wojko, V. V., Drygin, Yu. F. Molecular diagnostics of potato spindle tuber viroid (PSTV) infection by non-radioactively Pt(dien)-Labelled DNA-probe. – Breeding research on potatoes. Abstracts of Intern. Symposium. Gross Lüsewitz, Germany, p. 47, 1998.
- Musin jt: Мусин С. М., Бабоша А. В., Кондква О. А., Другин Ю. Ф., Атабеков И. Т. Диагностика и контроль вириды веретеновидности клубней картофеля. – Защита растений, 10 с. 22–23, 2001.
- Querci, M., Owens, R. A., Salazar, L. F. Encapsiration of potato spindle tuber viroid (PSTVd) by potato leafroll virus particles is responsible for aphid transmission of PSTVd. – Abstracts of EAPR Conference. The Netherlands, p. 312–313, 1996.
- Romanova, Ledneva: Романова С. А., Леднева В. А. Вирусные, виридные и микроплазменные болезни, поражающие оздоровленный картофель на Дальнем Востоке. – Защита растений в условиях реформирования агропромышленного комплекса. – Санкт-Петербург, с. 80–81, 1995.
- Rosenberg, V., Talvoja, P. Ohtlik kartulihaguis. – Maamajandus, 10, lk 36, 2001.
- Salazar, L. F., Quersi, M., Bartolini, V., Lazarate, V. Aphid transmission of potato spindle tuber viroid assisted by potato leafroll virus. – Fitopatologia 30 (1), p. 56–58, 1996.
- Syller, J., Marczewski, W. Transmission of potato spindle tuber viroid (PSTVd) by aphids. – Abstracts of EAPR Conference. The Netherlands, p. 306–307, 1996.
- Vlasov, Krasnova: Власов Ю. И., Краснова М. В. О природе некоторых деформаций клубней картофеля (веретеновидность, грушевидность и др.). – Защита растений в условиях реформирования агропромышленного комплекса. – Петербург, с. 569, 1995.

On the Nature of the Alternations (Spindle-, Pear-, etc. -Shaped) in Potato Tubers and the Potato Spindle Tuber Viroid (PSTV) Infection

V. Rosenberg, P. Talvoja

Summary

The pathogen, inducing the spindle shape of a potato tuber, is the low-molecular RNA. Such pathogens were started to be referred to as viroids. Viroids, like viruses, are the smallest pathogens in man, animal and plants. They have no cellular construction and do not grow in artificial environment, multiplying only in the living cell of the host plant.

In the potato plant, the disease is called Gothic due to the specific deformation of the shrub: the leaves become narrow and are fixed to the stem at a sharper angle, than usual. In the haulms with symptoms, the deformation of the symptoms need not always be revealed in the tubers, and vice versa. In the tuber, the viroid induces the shape of a spindle, pear or dumb-bells. Hence, the Potato Spindle Tuber Viroid (PSTV) is of infectious nature and it is highly deleterious. The PSTV-infected potato seed will become inapplicable.

In Estonia, the PSTV-suspected tubers have been revealed in the variety Ando and in the disease-infected variety Kondor. In the latter variety, the pathogen has been determined at the Institute of Chemical and Biological Physics.

In Estonia, it is, as yet, not always possible to determine the presence of the pathogen, so the research was started on the outward symptoms of the deformed tubers during reproductions. The meristem clones of the varieties Ando and Kondor were planted by 40 tubers, into a nine-metre-long furrow, in four replicates. They were compared with the outwardly healthy meristem clones.

The damage, resulting from the disease, may be great. In the disease-suspected variety Ando (Table 1), the surprisingly strongly expressed late blight damage in this variety was observed: from two to four times dropped the number of the tubers per plant, the tuber weight and the yield. The data for the variety Kondor were approximately the same (Table 1).

In another trial (Table 2), the yield of the tubers, grown from the seeds with the spindle-shaped symptoms, was divided into three groups, according to the degree of the damage:

- (1) the tubers with the weakly expressed symptoms of the deformation;
- (2) the cylinder-shaped tubers with the clearly expressed symptoms of the deformation;
- (3) the spindle-shaped, heavily deformed and thin tubers.

The above data reveal, that in the plants, grown from the spindle-shaped-symptom seed tubers, over a half of the tubers in the yield lacked the disease symptoms and this phenomenon was observed in all the planted groups. It does not exclude the possibility, that the tubers without the outward disease symptoms are healthy. To diagnose the presence of the pathogen, the proper methods for its determination should be applied.