

KARTULISORTIDE, MERIKLOONIDE, KALLUS-SOMAKLOONIDE JA SEEMIKUTE VIIRUSRESISTENTSUSANALÜÜS

M. Agur, E. Tikk, Ü. Kollist, K. Soon

Kartul on viirushaiguste poolt üks enam kahjustatavaid põllukultuure. Viirusnakkus muudab taime ainulaadseks patosüsteemiks, mille vabastamine viirusest ei ole võimalik kemoterapeutiliste tõrjevõtetega, mis on üldkasutatavad seen- ja bakternakkuse puhul. Viirustõrje probleem on siiani lahendamata ja aktuaalne. Viirusvaba kartuli kasvatamise tagab viirusresistentsete sortide olemasolu ja seemnekartuli tervendamine biotehnoloogiliste meetoditega. Viimastest on kogu maailmas laialdast kasutamist leidnud apikaal-meristeemmeetod, millega on võimalik kartul vabastada viiruse aktiivvormist muutmata sordi spetsiifilist viirusresistentsust. Tervendatud materjal nakatub põllutingimustes uuesti. Reinfektsiooni kiiruse määrab kasvatatava sordi resistentsusaste viirusnakkusele, st. see on otseses sõltuvuses viirusresistentsus-aretuse tulemustest. Kartuli viirusresistentsus-aretus ei ole siiani soovitud tulemusi andnud. Seda on tinginud ühelt poolt sobiva kartuliviiruste suhtes resistentsusgeene omava aretus-lähtematerjali (*Solanum*-liigid ja kultuurkartuli sordid) vähesus ja teiselt poolt viirusresistentsuse mehhanismide mitteküllaldane tundmine. Metsikute *Solanum*-liikide kasutamisel aretus-lähtematerjalina tuleb arvestada, et üheaegselt resistentsusgeeniga viiakse hübriidtaime majanduslikult mittesoovitavaid omadusi determineerivaid gene, mille elimineerimine pikendab aretusprotsessi. Seetõttu peetakse ökonoomsemaks kasutada aretus-lähtematerjalina vajalike omadustega kultuursorte (Ross, 1986). Selliste sortide väljaselgitamisega tegeldakse kõigis kartulikasvatustes. Meie vabariigis tegelevad kartuli viirusresistentsuse probleemiga Jõgeva Sordiaretuse Instituut (sordiaretus, sealhulgas viirusresistentsus-aretus), Eesti Taimebiotehnika Uurimiskeskus EVIKA (seemnekartuli tervendus), Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituut (transgeenete taimede rekonstrueerimine) ja Eksperimentaalbioloogia Instituudi (EBI) viroloogia osakond (viiruste, viirushaiguste ja viirus-peremeestaim interaktsiooni uurimine), kusjuures nimetatud uurimisasutuste vahel on välja kujunenud tihe koostöö. EBI viroloogia osakonnas on viimastel aastatel asunud välja töötama viirusresistentsu materjali saamise tehnoloogilisi ja teoreetilisi aluseid, et kaasa aidata kartuli sordiaretuse ja seemnekasvatuse efektiivsuse tõusule Eestis, tõstes nende lähtematerjali kvaliteeti (eelkõige viirusresistentsust) ja viies see vastavusse kaasaja nõuetega, mis tulenevad virooloogilise uurimistöö tulemustest viirus-peremeestaim interaktsiooni ja viirusresistentsuse alal. Seejuures juhendatakse seisukohast, et aretus-lähtematerjal peab olema resistentsus mitte ainult eksogeensele, vaid ka endogeensele, pärlilikule viirusnakkusele (Nurmiste jt., 1983, Nurmiste, 1990, Agur, 1993).

Eksogeense nakkuse selgitamiseks viidi läbi kartulisortide ja neist biotehnika meetoditega saadud materjali – merikloonide ja kallus-somakloonide viirusanalüüs. Katsetaimed nakatati kartuliviirusega (KV) mahl-inokulatsiooni teel. Inokuleeritud taimedel (1. katseaasta) ja nende muguljärglastel (2. katseaasta) viidi läbi täiustatud viirusresistentsusanalüüs (Agur, 1994, 1995): määrati vastuvõtlikkuse/resistentsuse aste, viiruse biosünteesi intensiivsus (antigeeni kontsentratsioon ELISA-testi abil, A₄₉₀) ja tunnusreaktsioon. Endogeense nakkuse kindlakstegemiseks allutati kartuliseemikud virooloogilis-geneetilisele analüüsile (Tiits, 1986).

Kartulisortide viirusresistentsusanalüüs on läbi viidud Eesti sordilehele kantud sortidel. 12 sordi kohta on saadud andmed K VX, K VS, K VM, K VY ja K VN nakkuse suhtes (Agur, 1995) ning 9 sordi kohta K VX kolme isolaadi suhtes (Agur, trükis). Perspektiivseteks osutusid sordid 'Vigri', 'Timate', 'Sarme', 'Sante' ja 'Prevalent' K VX suhtes, 'Premiere' K VY suhtes, 'Vigri' ja 'Premiere' K VM suhtes, 'Eba' K VS suhtes ja 'Mats' K VN suhtes. Selgus, et sordi vastuvõtlikkuse/resistentsuse aste, viiruse biosünteesi intensiivsus ja tunnusreaktsioon sõltus nii kombinatsioonist sort-viirus kui ka sort-viirusisolaat, millest tõstataks vajadus kasutada sordile viirusresistentsushinnangu andmisel rohkem kui üht viiruse isolaati.

Kartulisordist apikaal-meristeemmeetodil saadud merikloonide viirusresistentsuse/vastuvõtlikkuse võrdlus on näidanud, et sama sordi merikloonides toimub viiruse, nii infektsioonilise alge kui ka antigeeni biosüntees erineva intensiivsusega, s.t. relatiivne resistentsus viirusnakkusele neis erineb. Tulemused on saadud kolme sordi 17 meriklooniga K VX ja nelja sordi 27 meriklooniga K VM suhtes. Perspektiivseks osutusid K VX suhtes merikloonid 'Premiere 804', 'Eba 3/3373' ja 'Kondor H 1065' (Agur, 1994) ning K VM suhtes – 'Premiere 316', 'Eba 1000', 'Kondor H' ja 'Vigri 918', milles viiruse antigeeni suhteline kontsentratsioon jäi madalamaks kui ülejäänud katses olnud merikloonides. Merikloonide saagikuse ja tärgluse sisalduse uuringutest on selgunud, et ka need näitajad sama sordi

merikloonides erinevad (Rosenberg, Kotkas, 1989). Saadud tulemused võimaldavad seemnekartuli tervendatud algmaterjali hulgast välja selekteerida perspektiivsemaid merikloone edasiseks masspaljundamiseks ja väljastamiseks tarbijale. Merikloonide majanduslike omaduste ja viirusresistentsuse võrdlevad uuringud on maailmas esmakordselt läbi viidud Eestis.

Kallusregenerantide ja nende somakloonide viirusresistentsusanalüüs on läbi viidud 11 sordilehele kantud ja 11 aretuses perspektiivsel sordil K VX js K VY suhtes. Tehti kindlaks 26 somaklooni, mis olid regenerandifaasis K VX-resistentsed: sordist 'Adretta' – 8, 'Agra' – 5, 'Clue' – 4, 'Diamant' – 2, 'Olev' – 2, 'Premiere' – 2, 'Eba' – 1, 'Hertha' – 1, 'Sulev' – 1. Osa somakloonide puhul oli K VX-resistentsus inokuleeritud taimede muguljärglastes taandunud. Kõik katses olnud kallus-somakloonid olid regenerandifaasis vastuvõtlikud K VY-le.

Nii kartuli sortide kui ka merikloonide ja kallus-somakloonide viirusresistentsuseanalüüsi kahe aasta tulemuste võrdlusest selgus, et viirusnakkusele vastuvõtlikkus ja viiruse biosünteesi intensiivsus olid tagasihoidlikumad ning tunnusreaktsioon nõrgem inokuleeritud taimedes ja kõrgem teisel katseaastal inokuleeritud taimede muguljärglastes. Kõigi nimetatud uurimisobjektide puhul avaldus geneetiline varieeruvus, mis võimaldab resistentse materjali saamiseks edasi töötada kombinatsioonidega, mille vastuvõtlikkuseaste viirusnakkusele on alla 100 %, kasutades kloonvalikut ja retsiprookanalüüsi.

Eelkirjeldatud viirusresistentsusanalüüsiga saadi andmeid kartulisortide, merikloonide ja kallus-somakloonide resistentsuse kohta eksogeensele nakkusele. Seemikute viroloogilis-geneetilise analüüsiga tehti kindlaks seemikliinid, mis on resistentseid nii eksogeensele kui ka endogeensele viirusnakkusele, s.t. milles pärilik nakkus ei avaldu või milles genoomse viiruse aktivatsioon on pärsitud. Analüüsi on läbinud 15 sordi ja 5 aretusnumbri seemikud, töös on neli sorti ('Sarme', 'Quarta', 'Ando', 'Ants'). Senistel andmetel oli viiruse ekspressiooni tase eriti kõrge sordis 'Agra' ja suhteliselt madal sortides 'Amex', 'Gitte' ja 'Jõgeva kollane' (Tiits, 1983; 1986).

Tulevikus nähakse ette eelnimetatud meetodite kooskasutamist, et ühitada kahe resistentsustüübi analüüs. Seejuures peetakse vajalikuks päriliku nakkuse uurimisel võtta kasutusele uus meetod kartuliseemikute kasvatamiseks katseklaasis toitesegul (Agur, Rosenberg, 1986) ja selle nakkustüübi induktsioonilise fooni uuringud, et leida faktorid, mis soodustavad genoomse viiruse aktivatsiooni ja lühendavad sellega seemikute analüüsi aega.

Kokkuvõte

Saadud uurimistulemustest järeldeb:

- 1) kartulisortide, merikloonide, kallus-somakloonide ja seemikute viirusresistentsusanalüüsiga on võimalik välja selekteerida kombinatsioone, mis on perspektiivseks lähtematerjaliks kartuli sordiaretuses ja seemnekasvatuse,
- 2) viirusresistentsus sõltub nii peremehe kui ka viiruse genotüübist,
- 3) kartulisortidele ja neist biotehnika võtetega saadud materjalile (merikloonid, kallus-somakloonid) viirusresistentsushinnangu andmisel on vajalik kasutada vähemalt kahe põlvkonna (inokuleeritud taimed, nende muguljärglased) kompleksse viirusresistentsusanalüüsi tulemusi.

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 kartuliviirustele X,Y,S,M ja N nakkusele. – Agraarteadus, VI, nr. 2, lk. 152...159, 1995.
- Agur, M. Kartulisortide resistentsusanalüüs kartuliviirus X isolaatide (K VX₁₇, K VX_{Olev}, K VX_{Sulev}) nakkusele. – Agraarteadus (trükkis).
- Agur, Rosenberg; Агур М., Розенберг В. Метод выращивания сеянцев картофеля на питательной среде. – Изв.АН ЭССР, биол., № 35, 1, с. 27...32, 1986.
- Nurmiste jt.: Нурмисте Б. Х., Агур М. О. Тийтс А. А. Новые представления в селекции картофеля на вирусоустойчивость. - Вестник сельскохозяйственной науки. – Москва, № II, с. 31...38, 1983.

- Nurmiste, B. Uued rajad kartuli viirusresistentsuse aretuses. – Sordiaaretus ja seemnekasvatuse. EMMI Tead. tööd, LXIX, lk. 87...94, 1990.
- Rosenberg, V., Kotkas, K. The technique of disease eradication and rapid propagation of seed potato. – The New Technologies of Potato Propagation, Poprad – Svit, p. 159...165, 1989.
- Ross, H. Potato Breeding. – Problems and Perspectives. – Berlin-Hamburg, Verlag Paul Parey, 1986. – 183 S.
- Tiits A. Viirusnakkuste esinemine kartuli seemik- ja muguljärglaskonnas. 3. Kartulisordi 'Amex' isetolmlemisseemikute viirusresistentsusest. – ENSV TA Toimetised, Biol., 32, nr. 4, lk. 261...263, 1983.
- Tiits: Тийтс А. А. Вирусолого-генетический анализ в селекции безвирусных сортов картофеля. - Сельскохозяйственная биология, № 9, с. 46...50, 1986.

Virus Resistance Analysis of Potato Cultivars, Meristemic Clones, Callus-Somaclones and Seedlings

M. Agur, E. Tikk, Ü. Kollist, K. Soon

Summary

In the Department of Virology, Institute of Experimental Biology, the theoretical and technological basis of producing virus resistant initial material for potato breeding and seed production is investigated. Virus resistance analysis of potato cultivars more cultivated in Estonia and prospective for breeding, their seedlings, meristemic clones and callus somaclones is carried out. The degree of susceptibility/resistance to potato viruses (PV), the symptoms of infection and the intensities of virus biosynthesis in sap inoculated plants and their tuber progeny are determined. As a result of our infection tests by sap inoculation, the virus resistant virus-cultivar combinations have been found (PVX – 'Sarme', PVX – 'Sante', PVX – 'Timate', PVX – 'Vigri', PVX – 'Prevalent', PVY – 'Premiere', PVM – 'Vigri', PVM – 'Premiere', PVS – 'Eba' and PVN – 'Mats'). The expression of endogenous, hereditary infection has also been shown to depend on cultivar genotype: this expression is high in cv. 'Agra' and low in 'Amex', 'Gitte' and 'Jõgeva kollane'. The intensities of PVX and PVM biosynthesis in meristemic clones showed differences in resistance to virus infection between the meristemic clones of the same cultivar. The highest relative resistance to PVX was found in 'Eba 3/3373', 'Premiere 804' and 'Kondor H 1065' and to PVM in 'Premiere 356', 'Eba 1000', 'Kondor H' and 'Vigri 918'. In callus somaclones differences in susceptibility/resistance to PVX were notable. In all combinations studied (virus-cultivar, virus-meristemic clone, virus-callus-somaclone) the virus resistance characteristics determined differed in the inoculated plants and their tuber reproduction. The degree of susceptibility to virus infection and intensity of virus biosynthesis were higher and symptoms more severe in the plants of second generation than in the inoculated plants. For estimation of the resistance of the potato cultivars it was recommended to use data of the analyses from at least two generations.

Our research is carried out in collaboration with Jõgeva Plant Breeding Institute and Estonian Plant Biotechnical Research Centre EVIKA in order to facilitate the technology of potato seed production and breeding for virus resistance.