

УДК 632.38 : 633.49.1 + 632.93

Мильви АГУР

## О ВОСПРИИМЧИВОСТИ К ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ СОРТА 'ЙЫГЕВА КОЛЛАНЕ', ОЗДОРОВЛЕННЫХ МЕТОДОМ АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ

В настоящее время основным способом получения безвирусного семенного картофеля является оздоровление его методом апикальной меристемы. Оздоровленный материал семенного картофеля при выращивании в полевых условиях, несомненно, в большей или меньшей мере снова заражается. По данным Э. Висасте (Võsaste, 1985), в клубневых репродукциях меристемного материала сорта 'Андо' заражение вирусами возросло от 6,8% в III клубневом поколении до 9,9% в V. По данным П. Н. Трофимеца и сотрудников (1985), при соблюдении правил изоляции и применении мер защиты от заражения зараженность меристемного материала не превышает 5%. В литературе не имеется данных о степени восприимчивости (устойчивости) к вирусной инфекции меристемного материала на разных стадиях после оздоровления, от чего зависит скорость повторного заражения этого материала.

В отделе вирусологии Института экспериментальной биологии АН Эстонии (ИЭБ АН Эстонии) с целью выявления наиболее восприимчивых к повторному заражению вирусами стадий оздоровленного материала картофеля и охарактеризования динамики вирусной инфекции в них и их клубневых репродукциях были проведены опыты с районированными в Эстонии сортами 'Йыгева коллане', 'Олев' и 'Сулев'. Исследовались восприимчивость их к Х-, М-, У- и N-вирусам картофеля (ХВК, МВК, УВК и NBK) в течение пяти лет, т. е. всего периода, требуемого для выращивания семенного картофеля по новой системе семеноводства, разработанной В. Розенберг (1984; Rosenberg, Kotkas, 1989) в Эстонском НИИ земледелия и мелиорации (ЭстНИИЗиМ).

В настоящей статье рассмотрен сорт 'Йыгева коллане'.

### Материал и методика

Опыты проводили в трех вариантах с растениями картофеля 'Йыгева коллане' после оздоровления их методом апикальной меристемы: растения, высаженные из пробирок (в дальнейшем — меристемные), и их II и V клубневые поколения, а также две клубневые репродукции каждого варианта. Пробирочные растения получены из лаборатории оздоровления и биотехнологии сельскохозяйственных культур ЭстНИИЗиМ, дальнейшее выращивание и размножение их проведены в отделе вирусологии ИЭБ АН Эстонии.

Растения картофеля в фазе 4—5 листьев инфицировали механически инокуляцией соком, содержащим следующие вирусные формы: ХВК — изолят Х<sub>3</sub>ВК из гибридного сеянца 'Камераз' × 'Агрие V 1957', МВК — изолят из сорта 'Йыгева коллане', УВК — изолят из сорта 'Олев', NBK — изолят N<sub>ТА</sub>ВК из гибридного сеянца 'Тальвик' × 'Агрие IV 1954'. Инокулированные растения проверялись на зараженность вирусами индикаторным (использовались виды *Nicotiana tabacum* L. 'Samsun', *Lycopersicon*



*persicon esculentum* Mill. 'Nevski', *Physalis floridana* L., *Cucumis sativus* L. 'Неросимый') и серологическим (капельная агглютинация, иммуноферментный анализ) методами, а также с помощью электронного микроскопа (TESLA 613). Для серологического анализа использовались антисыворотки к ХВК, МВК и УВК, произведенные в ИЭБ АН Эстонии и НИИ картофельного хозяйства. Количество растений в каждом варианте было 8.

Во второй и третий год исследования определялась зараженность вирусами клубневых репродукций инокулированных растений. Из каждого гнезда был посажен один клубень.

В инокулированных растениях картофеля по ранее описанной методике (Агур, 1985; Агур, 1988) определяли относительную концентрацию инфекционного начала (ОКИН) и антигена (ОКАГ).

Растения выращивали по одному в горшках в теплице в условиях изоляции и регулярного опрыскивания против насекомых на стерилизованной путем прогревания (при 80—100 °С в течение 2 ч) почве.

### Результаты исследования и их обсуждение

На основе проведенных опытов и анализа полученных результатов сделаны следующие выводы.

К ХВК растения картофеля всех вариантов оказались восприимчивыми, однако степень восприимчивости меристемных растений превышала таковую у растений II и V клубневых поколений. Так, в растениях II и V клубневых поколений в год инокуляции ХВК был определен лишь с помощью биотеста и серологического метода, но не с помощью электронного микроскопа. Во второй и третий год опыта в их клубневых репродукциях число зараженных растений увеличивалось и вирус был определен с помощью всех использованных диагностических методов, что свидетельствует о более медленном характере процессов инфекции ХВК в этих вариантах.

Степень восприимчивости растений измеряется интенсивностью синтеза в них определенного вируса, т. е. концентрацией вируса в зараженных растениях (Агур, 1987). Чтобы охарактеризовать степень восприимчивости растений к ХВК разных стадий после оздоровления в них определяли ОКИН и ОКАГ. Полученные результаты (рис. 1, 2) подтвердили наличие различий в степени восприимчивости к ХВК у растений изучаемых вариантов. Наиболее высокая концентрация ОКИН и ОКАГ зарегистрирована в меристемных растениях. В растениях II и V клубневых поколений ОКИН и ОКАГ уступали в два и более раза таковым в меристемных растениях. Во всех случаях динамика ОКИН и ОКАГ имела скачкообразный характер, как это ранее было отмечено в некоторых индикаторных видах (Агур, 1974). Динамика ОКИН и ОКАГ в изучаемых растениях картофеля была практически одинаковой, отличаясь от динамики синтеза этого вируса в растениях *N. tabacum* L. (Агур, 1988).

Типы реакций и интенсивность признаков заболевания, вызванных ХВК у изучаемых растений, также различались по вариантам опыта. Самые яркие признаки заболевания в виде крапчатой мозаики отмечены у меристемных растений в год инокуляции. У растений II и V клубневых поколений, а также у растений клубневых репродукций всех вариантов они оставались слабо выраженными.

К МВК оздоровленные растения картофеля сорта 'Йыгева коллане' оказались слабо восприимчивыми. В год инокуляции в меристемных растениях вирус используемыми тремя методами не был определен, из растений II и V клубневых поколений оказались зараженными единичные и



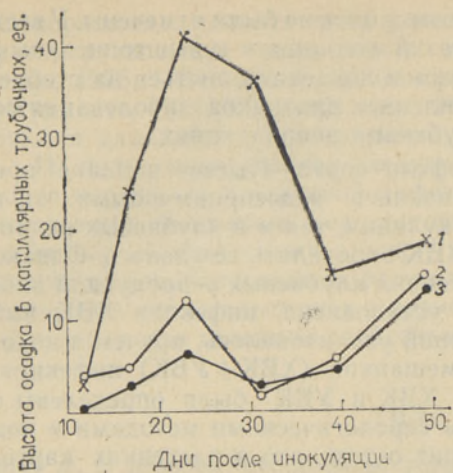


Рис. 1. Динамика относительной концентрации антигена ХВК в верхушечных листьях оздоровленных растений сорта картофеля 'Йыгева коллане' (1 — меристемные растения, 2 — растения II клубневого поколения, 3 — растения V клубневого поколения).

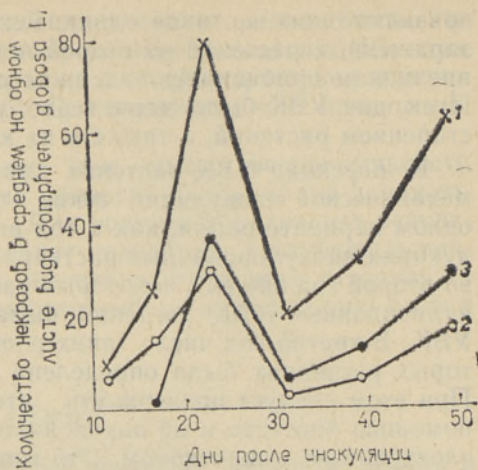


Рис. 2. Динамика относительной концентрации инфекционного начала ХВК в верхушечных листьях оздоровленных растений картофеля сорта 'Йыгева коллане' (1 — меристемные растения, 2 — растения II клубневого поколения, 3 — растения V клубневого поколения).

вирус в них был определен лишь с помощью серологического анализа индикаторных растений, т.е. при использовании комбинированного метода (Агур, 1987). В клубневых репродукциях II клубневого поколения и меристемных растений число зараженных МВК растений несколько увеличивалось. Вирус в них был определен серологически и с помощью электронного микроскопа.

Признаки заболевания в виде системной мозаики во всех случаях на зараженных МВК растениях оставались слабыми.

Относительно низкая восприимчивость к МВК растений картофеля сорта 'Йыгева коллане' при искусственном заражении инокуляцией соком и широкое распространение этого вируса в полевых условиях Эстонии (Рандалу, 1972; Randalu, 1972) говорят о том, что у этого сорта преобладают другие способы инфекции МВК. Такими могут являться эндогенная инфекция (Нурмисте, 1974) и распространение вируса при помощи тлей-переносчиков (Шмыгля, Абрамова, 1971; Касс, 1984).

К УВК растения сорта 'Йыгева коллане' оказались восприимчивыми, однако характер развития инфекции в них имел своеобразный характер. В год инокуляции во всех вариантах опыта на ряде растений (на семи меристемных, пяти II и трех V клубневого поколения) появились яркие признаки заболевания, а число растений, в которых вирус был определен (при этом лишь биотестом), оказалось небольшим. Во всех вариантах во второй, и особенно в третий год опыта, в клубневых репродукциях инокулированных растений число зараженных растений резко возросло и вирус в них был определен не только биотестом, но и другими методами. В течение всего опытного периода наиболее высокое число зараженных растений установлено у меристемных растений.

Признаки заболевания УВК на растениях разных вариантов опыта различались по типу и интенсивности. Так, у меристемных растений на инокулированных листьях проявлялись коричневые некрозы (2—3 мм), на верхушечных листьях — мозаика и морщинистость, на листьях среднего яруса — некроз жилок на нижней стороне листовой пластинки. На растениях II и V клубневых поколений проявились менее интенсивные



признаки таких же типов, однако некрозы жилок не были отмечены. У всех зараженных растений во второй и третий год опыта к вышеописанным признакам прибавились задержка роста и повисание листьев на стебле. Итак, для УВК было характерно усиление признаков заболевания со старением растений, а также в их клубневых репродукциях.

К инфекции NBK растения картофеля сорта 'Йыгева коллане' при механической инокуляции соком оказались невосприимчивыми: ни в одном варианте опыта, как в год инокуляции, так и в клубневых репродукциях инокулированных растений NBK определить не удалось. Однако во второй год опыта в некоторых растениях клубневых репродукций инокулированных NBK растений была установлена инфекция ХВК или УВК. В третий год число таких растений увеличивалось, причем в некоторых растениях была определена смешанная (ХВК+УВК) инфекция. При этом следует подчеркнуть, что ХВК и УВК были определены с помощью биотеста и не определялись серологическими методами и под электронным микроскопом. Это говорит о том, что в растениях картофеля концентрация вируса очень низкая или же вирус находится в них в состоянии, в котором невозможно его связывание с антителами. Кроме того, при пассаже на индикаторы на одном виде (*N. tabacum* L. 'Samsun') проявилась инфекция ХВК и/или УВК, на другом (*P. floridana* L.) нет, хотя оба вида восприимчивы к этим вирусам. В растениях контрольных вариантов вирусная инфекция (ХВК, МВК, УВК, NBK) ни в одном случае не была установлена. Полученные данные говорят о том, что из картофеля на индикаторное растение было перенесено некое начало, которое в табаке, но не в *P. floridana*, превращается в интактный вирус (ХВК и УВК) или же под действием которого в табаке активизируется инфекционное начало. Проявление в растениях вида *N. tabacum* L. «новорожденного» вируса отмечено и ранее (Агур и др., 1985). Это явление еще раз указывает на роль индикаторного вида в качестве индуктора вирусной инфекции. Механизм проявления такой инфекции остается пока невыясненным, хотя феномен индукции одним вирусом эндогенной инфекции другого вируса известен у зоопатогенных онковирусов (Ева и др., 1979; Wigdahl и др., 1982). Полученные данные свидетельствуют о том, что NBK следует считать потенциальным биологическим индуктором эндогенной вирусной инфекции, промежуточные этапы которой можно выявить при помощи определенных видов растений, в частности *N. tabacum* L.

Исходя из сказанного, можно заключить, что при механической инокуляции растений картофеля сорта 'Йыгева коллане', оздоровленных методом апикальной меристемы, восприимчивость к вирусной инфекции, характер развития инфекции в них и проявление признаков заболевания на них зависели не только от вируса, но и от того, на какой стадии после оздоровления растения инфицировали. Изучаемые растения заражались легко ХВК, с некоторым трудом УВК и МВК и практически не заражались NBK. Развитию вирусной инфекции в оздоровленных растениях изучаемого сорта был свойствен заторможенный характер, выражающийся в росте длительности инкубационного периода и повышении определяемости вирусов в клубневых репродукциях инокулированных растений. Так, в год инокуляции инфекция УВК оставалась локальной и инфекция МВК — неопределимой, переход в системную наблюдался лишь в клубневых репродукциях инокулированных растений. Об этом свидетельствует также тот факт, что число зараженных ХВК, МВК и УВК растений в клубневых репродукциях в большей или меньшей мере превышало число таковых у инокулированных. Достоверного объяснения этому явлению пока мы дать не можем. Можно лишь предположить, что в год инокуляции концентрация вируса в растениях картофеля остается на таком уровне, что методами диагностики, имеющимися в нашем



распоряжений, уловить ее не удастся. Также можно предположить, что фитовирусы могут находиться в ингибированном состоянии (Шмыгля и др., 1975, 1984) или быть интегрированы с геномом растения-хозяина (Нурмисте, 1974; Хёдреярв и др., 1986). Для выяснения этих причин требуются дальнейшие исследования.

Из полученных данных следует, что при оценке восприимчивости сорта картофеля к вирусной инфекции проверка растений на зараженность в год инокуляции недостаточна. Для получения надежных результатов вирусологическому анализу следует подвергать и клубневые репродукции инокулированных растений. Выявленные при этом различия по растениям свидетельствуют о возможности выбора из мериклона особей с ценными для селекции свойствами.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Агур М. О динамике относительной концентрации некоторых мозаичных вирусов и интенсивности симптомов заболевания. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1974, 23, № 3, 233—245.
- Агур М. Восприимчивость сортов томата к инфекции М и S вирусов картофеля. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1987, 36, № 4, 306—312.
- Агур М., Виллемсон С., Тарасова К. Характеристика вирусных форм, изолированных из индикаторного вида *Nicotiana tabacum* L. III. Трансмиссия семенами. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1985, 34, № 2, 150—160.
- Касс Х. Вирофорные свойства крушинниковой и обыкновенной тлей. — В кн.: Защита растений. Научн. тр. ЭстНИИЗиМ, LIII. Таллинн, 1984, 55—70.
- Нурмисте Б. К проблеме селекции вирусоустойчивых сортов картофеля. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1974, 23, № 4, 313—316.
- Розенберг В. Технология оздоровления и размножения семенного картофеля, разработанная в Эстонском НИИ земледелия и мелиорации. — В кн.: Защита растений. Научн. тр. ЭстНИИЗиМ, LIII. Таллинн, 1984, 70—89.
- Рандалу И. М. Болезни картофеля в Эстонской ССР и борьба с ними. — В кн.: Докл. на совместном симп. по картофелеводству, провод. в рамках научн.-техн. сотруди. между Советским Союзом и Финляндией. Саку, 1972, 57—62.
- Хёдреярв У., Нурмисте Б., Агур М., Тийтс А. Исследования по эндогенной вирусной инфекции у растений. — В кн.: Академия наук Эстонской ССР 1980—1985. Таллинн, 1986, 208—215.
- Трофимец Л. Н., Бойко В. В., Шнейдер А. Ю., Зейрук Т. В. Использование оздоровленного исходного материала в семеноводстве картофеля на безвирусной основе. — В кн.: Современные проблемы семеноводства картофеля на безвирусной основе. Владивосток, 1985, 77—83.
- Шмыгля В. А., Макаев С. Ш., Актаа С. Особенности диагностики вируса табачной мозаики при передаче его семенами томатов и табака. — С/х биология, 1984, 11, 60—62.
- Шмыгля В. А., Русинова Е. Я., Лодочкин П. И. Диагностика вируса М картофеля. — Докл. ВАСХНИЛ, 1975, 6, 13—15.
- Шмыгля В. А., Абрамова Р. Н. К изучению вируса М картофеля. — Тез. докл. VI Всес. сов. по вирусн. бол. растений. Ч. II. М., 1971, 54.
- Agur, M. A simple method for the quantitative serological assay for plant viruses. — ENSV TA Toim. Biol., 1985, 34, N 3, 188—191.
- Eva, A., Vareso, L., Cavallo, G. RNA tumor viruses and transforming genes. — Giorn. Vact., Virol. et Immun., 1979, 72, N 7—12, 273—278.
- Randalu, I. Katseandmeid Eestis enamlevinud kartuliviiruste kahjustuse kohta rajoonitud sortidel. — EMMTUI Teaduslike tööde kogumik, 1972, XXVI, 82—89.
- Võsaste, E. Viirushaiguste esinemine kartulisordi 'Ando' meristeemist pärinevas materjalis. — Rmt.: Sordiaretus ja seemnekasvatust. EMMTUI tead. tööd. Tallinn, LIX, 1985, 101—106.
- Wigdahl, B. L., Isom, H. C., de Clercq, E., Rapp, F. Activation of herpes simplex virus (HSV) type 1 genome by temperature-sensitive mutants of HSV type 2. — Virology, 1982, 116, N 2, 468—479.
- Rosenberg, V., Kotkas, K. The technique of disease eradication and rapid propagation of seed potato. — The new technologies of potatoes production. Poprad-Svit, 1989, 159—165.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонии

Поступила в редакцию  
1/XI 1989

Переработанный вариант  
21/VI 1990



## MERISTEEMMEETODIL TERVENDATUD KARTULITAIMEDE (SORT 'JÕGEVA KOLLANE') VASTUVÕTLIKKUS VIIRUSNAKKUSELE

On võrreldud kartulisordi 'Jõgeva kollane' apikaal-meristeemmeetodil tervendatud taimede vastuvõtlikkust kartuli X-, M-, Y- ja N-viiruse nakkusele tervendamisjärgselt sõltuvalt staadiumist (meristeemtaimed, nende II ja V mugulpõlvkond) ning iseloomustatud nimetatud viiruste nakkuse dünaamikat taimedes ja nende muguljärglastes.

Kartulisordi 'Jõgeva kollane' taimed nakatusid kergesti KXV-ga, mõningase raskusega KMV-ga ja KYV-ga ning ei nakatunud KNV-ga. KNV-ga inokuleeritud taimede muguljärglastes tehti kindlaks KXV ja/või KYV nakkus. Eeldatakse, et induktsioonilise faktorina toimis KNV.

KXV-le ja KYV-le osutusid kõige vastuvõtlikumaks meristeemtaimed, KMV-le II mugulpõlvkonna taimed. On iseloomulik, et tervendatud taimedes oli viirusnakkuse kulg aeglane, eriti KYV ja KMV puhul; nimetatud viirused olid raskesti või üldse mitte määratavad inokuleeritud taimedes ja suhteliselt kergesti leitavad nende muguljärglastes. Viroloogiline kompleksanalüüs biotesti, seroanalüüsi ja elektronmikroskoopia abil näitas, et esimesena ilmus inokuleeritud taimedesse infektsiooniline alge; antigeeni ja virionide määratavus suurenes infektsiooni vananedes inokuleeritud taimedes või nende muguljärglastes.

Kartulisordi viirusvastuvõtlikkuse üle otsustamisel ei soovitata võtta aluseks mitte ainult inokuleeritud taimede, vaid ka nende muguljärglaste virooloogilise analüüsi tulemused.

Põllumajanduspraktika seisukohalt tuleb kõige ohtlikumaks pidada meristeemtaimede nakatumist, mugulpõlvkondade nakatumise osatähtsus seemnekartuli saastumises/uusnakatumises väheneb järk-järgult.

## SUSCEPTIBILITY TO VIRUS INFECTION OF MERISTEMIC-ORIGIN POTATO PLANTS CV. 'JÕGEVA KOLLANE'

The susceptibility to potato viruses X, M, Y and N (PVX, PVM, PVY, PVN) of meristemic-origin potato plants cv. 'Jõgeva kollane' was investigated. The susceptibility depended on the virus used for sap inoculation, and the stage of plants (plants obtained from meristem, second-generation plants, fifth-generation plants). The inoculated plants of the three stages mentioned and their two vegetative reproductions were studied by a biotest, serological methods (drop-agglutination, ELISA-test), and electronmicroscopy to determine virus infection.

The potato plants of all stages studied were highly susceptible to PVX. Their infection with PVY and PVM succeeded. The plants studied were unsusceptible to PVN, but when analyzing the vegetative reproductions of the PVN-inoculated plants the infection with PVX and/or PVY was detected. The most susceptible to the infection with PVX and PVY were the plants obtained from meristem, and the plants of second generation showed the highest susceptibility to PVM. The dynamics of virus infection, especially that of PVY and PVM, had a prolonged/inhibited character in plants of meristemic origin. The virological analysis with simultaneous use of the three methods shows that the infective agent appears first in inoculated plants, and the antigen and virions are more easily detectable in the vegetative reproductions of the inoculated plants.

It is recommended that for the estimation of the susceptibility of potato plants to virus infection not only the data got by analyzing the inoculated plants but also those on their vegetative reproductions be used.