

Säker diagnos och utbredning av rostringar i potatis

I ett nyligen avslutat projekt, finansierat av Stiftelsen Lantbruksforskning, har kvalitetsproblemet rostringar i potatis studerats. Sjukdomen är framförallt ett problem i matpotatis för direktkonsumtion men också för industripotatis, då knölar med symptom inte kan användas till chips eller pommes frites. Rostringar och rostfläckar, nekrotiska eller färgförändrade bågar och fläckar inuti potatisknölar, är orsakade av två virus: *Potatis mopp-topp virus*, PMTV och *Tobak rattel virus*, TRV. Vilket av virusen som orsakar symptomen går inte att avgöra med blotta ögat och en väl fungerande diagnosmetod är därför nödvändig.

Båda virusen är vitt spridda i potatisproducerande områden i världen. I USA och Kanada har rostringar ”corky ring spot” varit associerade med TRV men PMTV har också identifierats under senare år. I Europa detekterades PMTV först på Irland, i England och i Skottland och har också påvisats i Nederländerna men har aldrig officiellt rapporterats därifrån. I de nordiska länderna har PMTV förekommit under de senaste trettio åren och konstaterades för första gången i Norge redan i slutet av 60-talet. I början av 1990-talet genomfördes en inventering av PMTV-förekomst i Sverige och resultaten visade en riklig förekomst, framförallt i de västra och södra delarna av landet. Rostringar orsakade av TRV är sedan länge kända i Sverige men någon regelrätt inventering har inte utförts tidigare.

Biologi

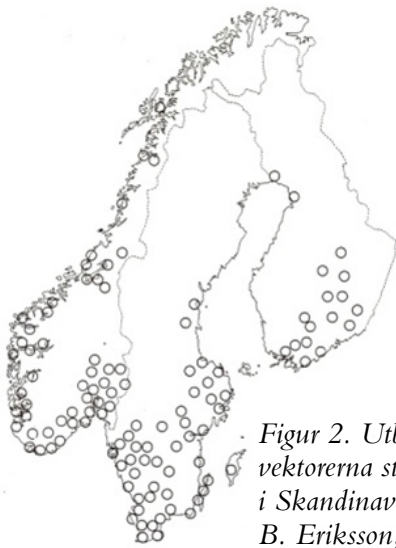
PMTV: Virusets vektor är den jordburna potatispatogena *Spongospora subterranea* som orsakar pulverskorv, vars tjockväggiga vilsporer med PMTV i kan överleva mycket länge i marken. Fuktiga och svala förhållanden under växtsäsongen gynnar pulverskorvens möjlighet att angripa plantor och därmed också överföra PMTV virus. Jordprov lagrat i +4°C i mer än 16 år har visat smittöverföring. PMTV har få värdväxter förutom potatis men ogräs inom släktet *Solanaceae* är mottagliga, såsom nattskatta *Solanum nigrum* och bägarnattskatta *S. physalifolium* som börjar spridas i Sverige. PMTV sprids via utsäde som är den allvarligaste spridningsformen, smitta kan finnas i knölarerna men också utanpå i vidhäftande pulverskorvsporer.

TRV: Detta virus vektorer är stubbrotsnematoder, så kallade migrerande nematoder, inom släktena *Trichodorus* och *Paratrichodorus*. Dessa nematoder är vanliga och frekvent förekommande i hela Norden (Fig. 2).

Nematoderna migrerar med vattennivån i marken och tar sig till djupare lager när det blir torrt. TRV blir också ett jordburet virus genom att det lever kvar i stubbrotsnematoderna. TRV överförs dock inte till nematodernas avkomma. Man vet inte hur gammal en nematod kan bli men troligen kan TRV överföras av en nematod i



Figur 1. Exempel på rostringsymptom i potatis. Knölprover inskickade till projektet. Från vänster till höger: 2-Bintje, Maritema och Berber.



Figur 2. Utbredning av TRV-vektorerna stubbrotsnematoder, i Skandinavien (efter professor B. Eriksson, SLU).

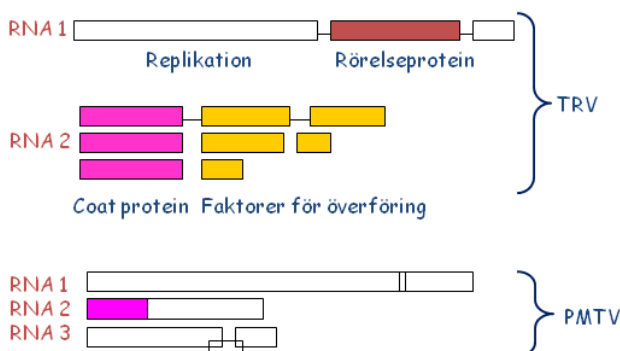
minst två växtsäsonger. Till skillnad från PMTV har TRV mängder av värdväxter som det kan uppföras i. Mycket mottagliga TRV växter är de vanliga ogräsen våtarv, lomme och kvickrot. Nematoderna trivs och uppföras särskilt väl på rajgräs och korn.

Virusens sammansättning

Både TRV och PMTV består av RNA partiklar (Fig. 3). Två stycken för TRV och tre för PMTV. PMTV partiklarna finns alltid tillsammans medan TRVs båda partiklar ofta är separerade. Det är vanligt att RNA 1-partikeln är ensam förekommande, till exempel i en knöl. TRV-viruset kan med denna enda partikel förflytta sig och även ge upphov till symptom. Detektion av TRV virus måste därför fokuseras på RNA 1-partikeln för att få en korrekt bild av förekomsten av viruset. För att kunna vara överförare av TRV virus måste dock nematoderna ha båda partiklarna i sig.

Diagnosmetoden - Realtids PCR

Diagnos av rostringssymptom på knölar och detektion av virusförekomst i växtvävnad har i projektet utförts med molekylär analysmetodik



Figur 3. Virusens sammansättning.

så kallad realtids PCR, polymerase chain reaction. Denna metod gör det möjligt att kvantifiera det DNA/RNA som studeras och dessutom är det möjligt att analysera flera patogener samtidigt. Steg ett i analysen är extraktion av virus-RNA från knöl och plantmaterial. Steg två är själva realtids PCR reaktionen som kräver specifika DNA strängar för att kunna genomföras. I vårt fall har vi använt PMTV och TRV specifika DNA strängar utvecklade i Storbritannien. Eftersom PMTV och TRV består av RNA måste dessa med enzymet transkriptas först överföras till komplementär cDNA, på grund av att PCR reaktionen kräver DNA för att kunna genomföras. Efter extraktionen av RNA ur prover kan emellertid hela reaktionen utföras i ett steg.

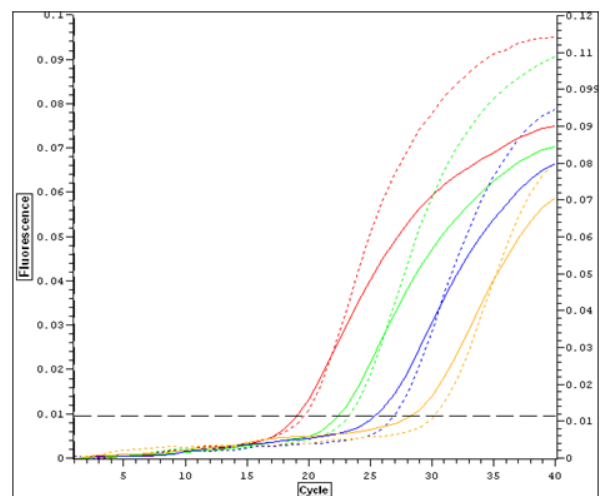
Hela analysen, från knöl till färdigt resultat, tar ca tre timmar. Analyserna ger ett tydligt svar och antyder också hur mycket virus ett prov innehåller. Resultatet visualiseras i form av en s-kurva (Fig. 4 och 5).

Knölprover med symptom

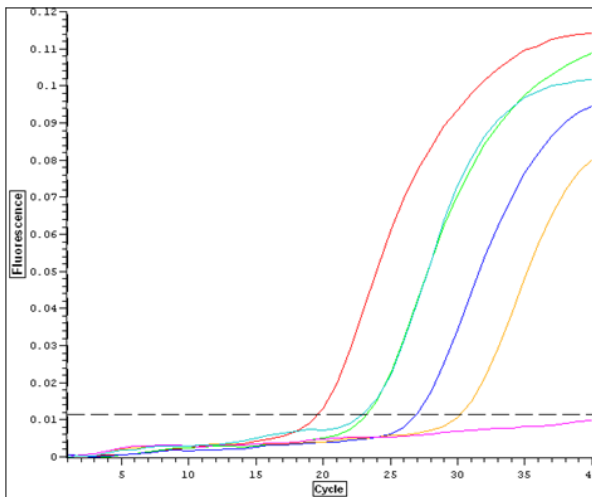
Efter kontakt med rådgivare, lantbrukare och potatisorganisationer har knölprover med synliga symptom av rostringar skickats in till laboratoriet i Uppsala. Knölna lagrades i +4 - fram till analys. Vid provberedning skars kubikcentimeter stora prover ut från knölvävnad i anslutning till symptom och extraherades för RNA.

Totalt har knölprover från 120 fält, från olika platser i landet analyserats. Den helt övervägande delen av de analyserade knölproverna visade någon typ av rostrings/rostfläck symptom.

- Jämn fördelningen mellan TRV och PMTV (55% PMTV och 45% TRV positiva prover).

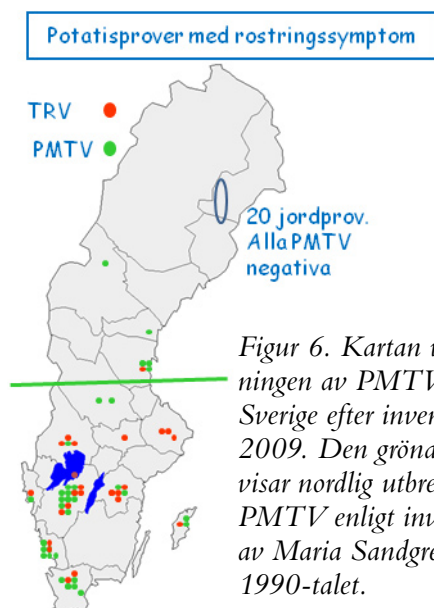


Figur 4. Analysresultat från växtmaterial infekterat med TRV (heldragna linjer) och PMTV (streckade linjer) i fyra koncentrationer. Röd kurva utgör den högsta koncentrationen virus.



Figur 5. Två okända prover tillsammans med en koncentrationsstege av PMTV kontroller. Ljusgrön kurva som sammanfaller med näst högsta koncentrationen är ett PMTV positivt prov medan den lila, raka linjen i botten är ett negativt, icke smittat prov.

- Ett fåtal prover, 5%, visade infektion av både TRV och PMTV.
- Latent infektion (symptomfri) av PMTV konstaterades i sorten King Edward VII (KE) och latent TRV konstaterades i Pentland och Folva.
- Följande sorter visade positiv reaktion för PMTV: Sava, Fakse, Matilda, Berber, Jutlandia, Lady Rosetta, Saturna, van Gough, Triumph, Inova, Folva, King Edward (utan symptom).
- Följande sorter visade positiv reaktion av TRV: King Edward, Nicola, Vitess, Cherie, Ukama, Amandine, Matilda, Isle of Jura, Princess, Terra Gould, Maritema, Inova, Lady Balfour, Mandel, Verity, Bintje, Challenger, Folva (utan symptom), Pentland (utan symptom).



Figur 6. Kartan visar utbredningen av PMTV och TRV i Sverige efter inventering 2006-2009. Den gröna vågräta linjen visar nordlig utbredningen av PMTV enligt inventering utförd av Maria Sandgren i början av 1990-talet.

Jordprover

Vid analys av rostringsvirus i inkomna jordprover planterades tre tobaksarter, kända för att vara mycket mottagliga för TRV och PMTV, i dubbelprover av de insända proverna. Efter 7 veckor tvättades rötterna och analyserades för smitta. Fyrtioåtta jordprover analyserades, främst på grund av misstanke om PMTV. Resultaten visade 17 positiva PMTV prover och 5 TRV positiva prover. Samtliga 20 jordprover uttagna från utsädesdistrikt i Väster- och Norrbotten visade negativa PMTV resultat.

Erfarenhet av symptom/latent infektion

Resultaten från insända prover visar en jämn fördelning mellan rostringar orsakade av TRV och PMTV. Detta talar för att båda virusen kan ha spridits med utsäde. Utsädesmitta är känd som en allvarlig spridningskälla för PMTV, men anses vara mindre trolig, men möjlig, för TRV. Latent, icke synlig smitta, har i detta projekt konstaterats för både PMTV och TRV och sådana knölar bidrar också till spridning av virusen till nya områden. Finska undersökningar har påvisat hög latent PMTV-smitta i flera potatissorter.

Studier av symptomen hos insända knölar visar att det inte går att avgöra okulärt om symptomen är orsakade av TRV eller PMTV. Några iakttagelser har dock gjorts:

- Mycket kraftig nekros har i PCR analysen visat positiv reaktion för TRV i samtliga fall. Denna typ av symptom noterades i tre sorter Bintje, Amandine och Inova (Fig. 1 Bintje).
- Sorten KE verkar inte utveckla symptom av PMTV men däremot av TRV. Analyserade inkomna KE prover med rostringssymtom visade i samtliga fall smitta av TRV. Det motsatta gällde sorterna Fakse och Sava. Av båda dessa sorter analyserades flera prov med symptom som samtliga fall visades vara PMTV infekterade.
- I de analyser av rostringssymptom som gjorts har näst intill samtliga visat positiv reaktion av antingen PMTV eller TRV. I några fall har båda virusen varit närvarande samtidigt. Rostfläckar var också ett symptom som förekom i flera insända prover. Man har tidigare spekulerat om orsaken till dessa symptom är patogen eller fysiologisk. I detta projekts analyser fanns alltid rostringsvirus med vid analysen.
- Knölar från odling med importerat utsäde av KE, som utvecklade kraftig pulverskorv men inga rostringssymptom, analyserades för eventuell virussmitta. Resultaten visade

PMTV infektion i samtliga knölar trots att inga problem tidigare hade funnits med pulverskorv vid odling i samma fält. Ny smitta av två allvarliga potatispatogener med lång överlevnadstid i jorden hade därmed via utsädet introducerats till nya fält.

- Tre insända prov av KE knölar med rostringar orsakade av TRV hade vuxit i tre olika fält där potatis inte odlats tidigare eller sedan mycket länge. Symptomen kan ha orsakats av smitta från utsädet men TRV kan också ha varit närvarande i fälten, i stubbrotsnematoder som tagit upp TRV smitta från någon av dess många värdväxter.

Att döma av den långa listan av potatissorter som skickats in till projektet, odlas det många sorter i Sverige som utvecklar rostringssymptom. Några

sorter förefaller inte utveckla symptom vid smitta av det ena eller det andra viruset med det kan ändå vara närvarande.

Vi ser för PMTV, med detta projekts inventering, att smittan rör sig norrut. Tidigare inventering, från början av 90-talet, visade inga PMTV-smittade partier norr om linjen som kartan visar (Fig. 6). Nu har vi funnit PMTV i Hälsingland, Medelpad och norra Jämtland. Det är dock tillfredsställande att ingen PMTV-smitta kunnat påvisas i de 20-tal jordprover från utsädesodlande distrikt i Väster- och Norrbotten. Projektresultaten visar att rostringar orsakade av TRV är mycket vanliga och att det nordligaste provet påvisades från odling i Hälsingland.

Paula Persson

Läs mer

Santala, J. et al., 2010. Detection, distribution and control of Potato mop-top virus, a soilborne virus in northern Europe. *Annals of Applied Biology* 157, 163-178 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1744-7348.2010.00423.x/abstract>

Övriga i projektet

Lena Färeby, institutionen för växtproduktionsekologi, SLU

Anders Kvarnheden & Ulrike Beuch, institutionen för växtbiologi och skogsgenetik, SLU

Kontakt

Paula Persson

Adress: Institutionen för växtproduktionsekologi, Sveriges lantbruksuniversitet, Box 7043, 750 07 Uppsala

E-post: paula.persson@slu.se

Telefon: 018 672358

Hemsida: <http://www.slu.se/sv/fakulteter/nl/om-fakulteten/institutioner/institutionen-for-vaxtproduktionsekologi/kontakt/personal/paula-persson/>

Citera gärna, men ange källan: Växtskyddsnotiser 66: 4-7