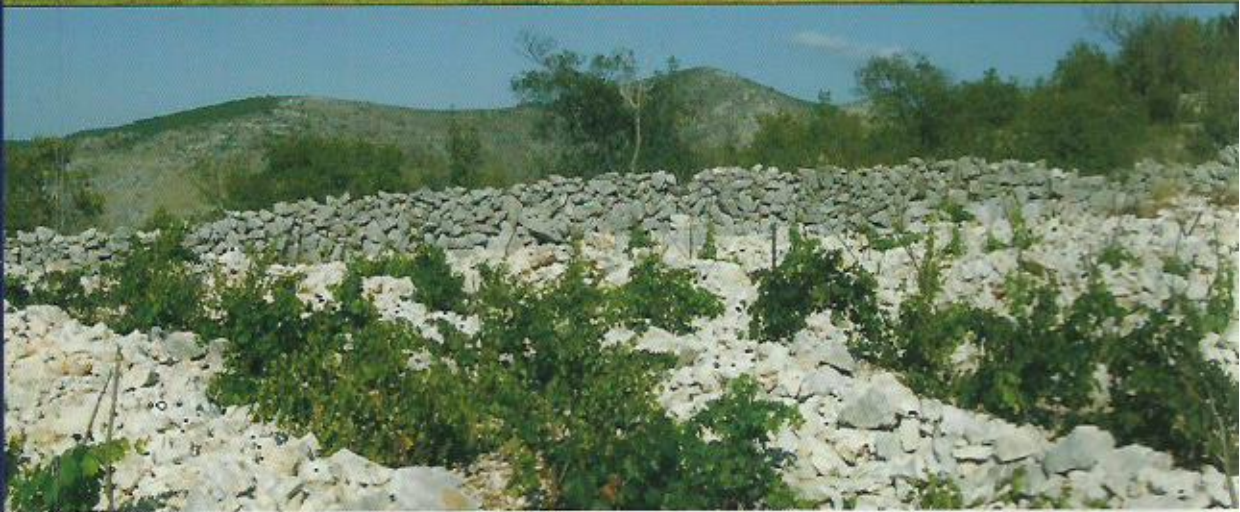




glasilo biljne zaštite



Dijana ŠKORIĆ

Biološki odsjek Prirodoslovno-matematičkog fakulteta

Sveučilišta u Zagrebu

dijana@botanic.hr

FITOPLAZMOZE VINOVE LOZE U HRVATSKOJ

OPĆENITO O FITOPLAZMAMA

Fitoplazme su fitopatogene bakterije koje su zbog svoje morfološke sličnosti s mikoplazmama do 1993. bile nazivane i MLOs (*mycoplasma like organisms*). Još uvijek se ne mogu kultivirati na umjetnim hranjivim podlogama pa su metode njihove identifikacije sličnije onima koje se primjenjuju u virologiji nego u bakteriologiji. Kao unutarstanične pleomorfne parazite nalazimo ih u floemu mnogih biljaka, ali i različitim tkivima kukaca uključujući i ovarije. Kukci, posebno cikade i lisne buhe, su ujedno i prirodni vektori fitoplazmi, a vrlo bitno za poljoprivrednu praksu je prenošenje ovih fitopatogena cijepljenjem i sadnim materijalom. Zabilježen je i prirodan prijenos tzv. korijenskim mostovima, dok prijenos sjemenom nije dokazan. Danas se smatra da fitoplazme uzrokuju na stotine biljnih bolesti u preko tisuću biljnih vrsta od kojih su brojne kultivirane. Posebno je štetna pojava fitoplazmoza na višegodišnjim kulturama, a štete na vinovoj lozi su u porastu. Simptomi ne ovise samo o vrsti fitoplazme, nego i o biljnom domaćinu, te o nekim abiotičkim faktorima. Zabilježene su i asimptomatske infekcije, a pogotovo su česte u zeljastih korova. To je vrlo važna epidemiološka činjenica jer na višegodišnjim korovima fitoplazma može prezimiti u floemu korijena ili u ličinačkim stadijima kukaca-vektora (Bertaccini 2007).

FITOPLAZMATSKJE INFEKCIJE VINOVE LOZE

Infektivne žutice vinove loze (*grapevine yellows*, GY) podrazumijevaju više fitoplazmoza loze, odnosno obuhvaćaju infekcije čiji su uzročnici pripadnici različitih fitoplazmatskih taksona. '*Candidatus Phytoplasma*' je propisan taksonomski status za ove prokariote koje još ne možemo kultivirati na umjetnoj hranjivoj podlozi (IRPCM 2004). Prema simptomima je gotovo nemoguće razlikovati uzročnike bolesti, a među nizom odrednica koje utječu na simptome su i razlike u sortnoj osjetljivosti vinove loze. Zbog toga je za pouzdano dokazivanje i razlikovanje fitoplazme-uzročnika nužno primijeniti laboratorijske metode. Fitoplazme se rutinski detektiraju lančanom reakcijom polimeraze (*polymerase chain reaction*, PCR) i njenim suvremenijim inačicama (*real-time PCR*), a precizna klasifikacija uzročnika provodi se navedenim metodama uz primjenu specifičnih oligonukleotidnih početnica i/ili analizom polimorfizma duljine restrikcijskih fragmenata (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP). Ove metode su osjetljive, specifične, ali i složene za izvođenje tako da masovna testiranja još nisu moguća.

Fitoplazme uzrokuju velike gubitke u vinogradarstvu. Kod oboljele loze već nakon godinu dana od pojave prvih simptoma prema nekim autorima dolazi do gubitka uroda od 50%, a nakon dvije do tri godine biljka obično propada. Kad se jednom zarazi, trs se uglavnom ne oporavlja. Zabilježeni su primjeri oporavka kod pojedinih sorti vinove loze, no oporavljeni trsovi nikada ne dosegnu rodnost koja je postojala prije izbijanja zaraze. Simptomi fitoplazmoza se pojavljuju početkom ljeta, u našim uvjetima je to najčešće u lipnju, a najizraženiji su u rujnu. Rubovi lišća počinju se uvijati prema naličju, a lisna plojka požuti ukoliko se radi o bijelim sortama. Zbog ovih promjena list poprima trokutast oblik (Sl. 1). Kod crnih sorti, list po crveni, osobito uz žile lista (Sl. 2). Lišće je krto, razvija se ranije, ali otpada kasnije od nezaraženog. Patološke promjene vidljive su i na mladricama. Skraćeni su internodiji, pa je lišće gušće raspoređeno. Lignifikacija je poremećena, odnosno mladice početkom jeseni ne odrvenjavaju, pa se tijekom zime smrzavaju i propadnu. Cvatnja i oplodnja također su poremećene. Bobe, ili često cijeli grozdovi, smežuraju se i suše što bitno smanjuje urod i kvalitetu grožđa (Sl. 2).



Slika 1. Fitoplazmatski simptomi na listovima autohtonog bijelog kultivara vinove loze Pošip (snimio Ivan Mikec).



Slika 2. Fitoplazmatski simptomi na listovima i plodovima crnog kultivara vinove loze (snimila Ivana Križanac).

U europskim vinogradima najčešće se susreću dvije fitoplazmatske vrste: *flavescence dorée* (FD) i *bois noir* (BN, *stolbur*, *legno nero*, *Vergilbungskrankheit*) sa sličnim simptomima i posljedicama. Posebnost BN-fitoplazmoze je mogućnost pojave crnih pustula na rozgvi bijelih kultivara loze. Prema donedavno ustaljenoj klasifikaciji, FD pripada ribosomskim podskupinama 16SrV-C i 16SrV-D, a njenim formalnim opisom u najnovijoj klasifikaciji očekuje se da će joj biti dodijeljeno ime '*Candidatus Phytoplasma vitis*' dok se za BN koja pripada ribosomskoj podskupini 16SrXII-A očekuje naziv '*Ca. P. solani*'. Rjeđe se u vinogradima nalaze fitoplazme nekih drugih taksona, a moguće su i miješane zaraze s dvije različite fitoplazme.

Karakteristika bolesti opisane još 1957. koju izaziva fitoplazma FD, karantenski patogen na A1-listi EPPO-a, je njezino epidemijsko širenje. Glavni razlog tome je invazivnost američkog cvrčka, ampelofagne cikade *Schaphorhynchus titanus* Ball. Ona je početkom dvadesetog stoljeća iz Sjeverne Amerike došla u Europu i kasnije se brzo rasprostranila, prvenstveno Francuskom. Fitoplazma FD još nije zabilježena u našim vinogradima iako je prisutna u Sloveniji i Srbiji, no prisutnost američkog cvrčka zabilježena je još 2003. (Budinišćak i sur. 2005). Zabrinjava činjenica da je u pavitini (*Clematis vitalba*) uz vinograde u Istri i Medimurju zabilježen uzročnik FD (Filippin i sur. 2007, Šeruga Musić i sur. 2009), no za sada se smatra da nije prenosiv američkim cvrčkom na vinovu lozu. Izgleda da bi na lozu mogao biti iz pavitine prenosiv nekim alternativnim FD-vektorom (Filippin i sur. 2007). Infektivna žutica vinove loze čiji je uzročnik fitoplazma BN (*stolbur*) nije isprva bila epidemijskih razmjera, a sam patogen se smatrao važnijim uzročnikom bolesti povrća nego vinove loze. Osim toga, ovaj uzročnik je endemičan u Europi, ima mnoštvo vektora, a sama bolest je bila odavno poznata. U posljednja dva desetljeća je porasla opasnost od fitoplazme *stolbur* za vinograde. O tome svjedoče brojne zabilježene epidemijske zaraze s velikim štetama (Bertaccini i sur. 2006). Vjerojatno tome pridonose i brojni polifagni vektori ove fitoplazme. Svakako je važan *Hyalestes obsoletus* Signoret koji omogućuje prijenos fitoplazme u okoliš vinograda i njeno prezimljavanje u rezervoarnim domaćinima, te rasprostranjivanje na druge kultivirane biljke i u nova područja. U njemačkim vinogradima u patosistemu vinova loza-vektor-korov važnu ulogu igraju, osim *H. obsoletus*, vektorska vrsta *Reptalus panzeri*, te korovi slak (*Convolvulus arvensis*) i kopriva (*Urtica dioica*) u ulozi fitoplazmatskih rezervoara.

Prve infektivne žutice vinove loze zabilježene su 1996. u Zagrebu na kultivarima Pinot Gris i Chardonnay (Šarić i sur. 1997, Krajačić i sur. 1998). Molekularnobiološke analize simptomatične loze provode se na Biološkom odsjeku PMF-a u Zagrebu od 1997. (Škorić i sur. 1998). Kontinuirana istraživanja ovog tipa koja su se provodila u suradnji sa stručnjacima Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta u Zagrebu, a u novije vrijeme i sa stručnjacima Zavoda za zaštitu bilja u poljoprivredi i šumarstvu RH pokazuju da je u našim vinogradima najrasprostranjenija fitoplazma stolbur (Šeruga i sur. 2000, Ćurković Perica i sur. 2003). Sporadično je prisutna i fitoplazma *aster yellows* ('*Ca. P. asteris*'). Stolbur nalazimo u svim vinogradarskim regijama u zemlji. U nas su najugroženije introducirane sorte Chardonnay, Pinot, Cabernet Sauvignon, ali zabrinjava trend porasta broja zaraženih vinograda naših autohtonih kultivara (Mikec i sur. 2006). Fitoplazma stolbur nadena je i u nekim uobičajenim korovima, no istraživanja analogna njemačkima koja bi odgonetnula karike patosistema tek su započeta kroz suradnju PMF-a, ZZB-a i stručnjaka iz inozemstva na nacionalnim i međunarodnim projektima (SEE-ERA.NET Network PHYTOPLASMA-EPIDEMIO, COST Action FA0807). Izravno tretiranje fitoplazmi tetraciklinskim antibioticima nije dopušteno, a ni učinkovito. Epidemiologija bolesti je složena i potencijalno uključuje različite uzročnike, vektore i

rezervoarne biljke pa je kontrola bolesti klasičnom primjenom sredstava za zaštitu bilja također neučinkovita. Uz konstantne znanstvene napore u svrhu dobivanja otpornijih sorata na GY, strategije za kontrolu fitoplazmoza loze trebale bi se oslanjati na prevenciju. Uz korištenje sadnog materijala koji nije zaražen fitoplazmama, treba sustavno utvrđivati uzročnike i epidemiologiju jer tek nakon toga se mogu osmisliti učinkovite mjere za kontrolu fitoplazmoza vinove loze.

LITERATURA

- Bertaccini, A.** (2007): Phytoplasmas: diversity, taxonomy and epidemiology, *Frontiers in Bioscience* 12, 673-689.
- Bertaccini A., Paltrinieri S., Botti S., Duduk B., Fiore N., Kölber M., Škorić D., Torres E. & Conti M.** (2006): Diversity of 16SrXII phytoplasmas detected in grapevine growing areas worldwide, *Extended Abstracts of the 15th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG)*, Stellenbosch, 88-89.
- Budinščak Ž., Križanac I., Mikec I., Seljak G. & Škorić D.** (2005): Vektori fitoplazmi vinove loze u Hrvatskoj, *Glasilo biljne zaštite* 4/2005, 240-244.
- Čurković Perica M., Šeruga M., Kozina B., Krajačić M. & Škorić D.** (2003): Grapevine yellows - spread of the disease in Croatia, *Extended Abstracts of the 14th Meeting of the ICVG*, Locorotondo, 95.
- Filippin L., Jović J., Forte V., Cvirković T., Toševski I., Borgo M. & Angelini L.** (2007): Occurrence and diversity of phytoplasmas detected in clematis and their relationships with grapevine „flavescence dorée“ phytoplasmas, *Bulletin of Insectology* 60, 327-328.
- IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team-Phytoplasma taxonomy group** (2004): 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, 1243-1255.
- Krajačić M., Škorić D. & Šarić A.** (1998): Žutica vinove loze uzrokovana fitoplazmama - pojava bolesti u Hrvatskoj, *Glasnik zaštite bilja* 4/1998, 199-202.
- Mikec I., Križanac I., Budinščak Ž., Šeruga Musić M., Krajačić M. & Škorić D.** (2006): Phytoplasmas and their potential vectors in vineyards of indigenous Croatian varieties. *Extended abstracts of the 15th Meeting of the ICVG*, Stellenbosch, 255-257.
- Šarić A., Škorić D., Bertaccini A., Vibio M. & Murari E.** (1997): Molecular detection of phytoplasmas infecting grapevines in Slovenia and Croatia. *Extended Abstracts of the 12th Meeting of the ICVG*, Lisbon, 77-78.
- Šeruga M., Čurković Perica M., Škorić D., Kozina B., Mirošević N., Šarić A., Bertaccini A. & Krajačić M.** (2000): Geographic distribution of Bois Noir phytoplasmas infecting grapevines in Croatia, *Journal of Phytopathology* 148, 239-242.
- Šeruga Musić M., Škorić D., Budinščak Ž., Križanac I. & Mikec I.** (2009): Survey of phytoplasma diversity in heavily grapevine yellows affected areas of Croatia, Special Issue „Proceedings of the 16th Meeting ICVG“ of Le Progrès Agricole et Viticole, in press.
- Škorić D., Šarić A., Vibio M., Murari E., Krajačić M. & Bertaccini A.** (1998): Molecular identification and seasonal monitoring of phytoplasmas infecting Croatian grapevines, *Vitis* 37, 171-175.