



ISSN 0350-9664

UDK 632(05)»540«.1 = 6862

SADRŽAJ:

- GENETSKI PREINAČENE KULTURE
- ŽUTICA VINOVE LOZE
- SUZBIJANJE LOZINIH GRINJA
- ALTERNARIOZA BAMJE
- JASMINOV MOLJAC NA MASLINI
- PEPELNICA VINOVE LOZE
- KRIJESNICA

4. 1998



glasnik
zaštite
bilja

GLASNIK ZAŠTITE BILJA

Glasilo Sekcije za biljnu zaštitu Hrvatskog agronomskog društva

Glavni i odgovorni urednik:

Dr. Milan Maceljski

Uređivački odbor:

Dr. Bogdan Cvjetković, dr. Miroslav Harapin, mr. Goran Hrlec, dr. Jasminka Igrc Barčić, ing. Stjepan Keglević, dr. Milan Maceljski, dr. Jože Maček, dr. Zvonko Ostojić, dr. Tanas Trajčevski

SADRŽAJ

Zvonko Ostojić: Genetski preinačene kulture na herbicide	189
Mladen Krajačić, Dijana Škorić, Ana Šarić: Žutica vinove loze uzrokovana fitoplazmama - pojava bolesti u Hrvatskoj	199
Željko Budinščak, Radoslav Masten: Istraživanje novih mogućnosti suzbijanja lozinih grinja	203
Tanas Trajčevski: Alternarioza bamije	207
Miro Katalinić, Sonja Kačić, Katja Žanić: Jasminov moljac <i>Palpita</i> (<i>Margaronia</i>) <i>unionalis</i> Hübner (Lep.: Pyralidae) - manje poznati štetnik masline	212
Ivan Mikec: Pepelnica vinove loze (f. asc. <i>Uncinula necator</i> (Schw.) Burr; f. con. <i>Oidium tuckeri</i> Berk.)	214
Branko Britvec: Krijesnica - još jedan kukac kojeg je opjevao pjesnik	218
Branko Britvec: <i>Lema</i> ili <i>Oulema</i>	222
Akademik Milan Maceljski - dobitnik Državne nagrade za popularizaciju i promidžbu znanosti u 1998. godini	224
IN MEMORIAM: prof. dr. Ivanka Milatović	226
NOVI PROPISI, SKUPOVI, NOVA IZDANJA, NOVOSTI IZ INDUSTRIJE	227

Izdavač: »Zadružna štampa« d.d.

Slog i tisak: »MAXPRINT«, Zagreb

Direktor: Nevenka Filipović

Zagreb, Amruševa 8/V, tel. 434-552 i 433-582, fax 433-532

Urednik časopisa: Nevenka Filipović

Akontacija pretplate za 1998. g. iznosi 380,00 kn

*Slika na omotu: Žučenje listova i propadanje grozdova - simptomi žutice
vinove loze uzrokovane fitoplazmama na sorti "Chardonnay" u
sjeverozapadnoj Hrvatskoj (foto B. Kozina).*

Mladen Krajačić, Dijana Škorić i Ana Šarić
 Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu

ŽUTICA VINOVE LOZE UZROKOVANA FITOPLAZMAMA - POJAVA BOLESTI U HRVATSKOJ

Uvod

Na nekim sortama vinove loze uzgajanim u Hrvatskoj primijećeni su simptomi koji odgovaraju bolestima poznatim pod nazivom žutice vinove loze (bolesti žućenja vinove loze - engl. grapevine yellows diseases). Uzročnici tih bolesti su patogeni ranije označavani kao organizmi slični mikoplazmama (mycoplasma like organisms - MLOs), a u novije vrijeme poznati pod nazivom fitoplazme. U preliminarnim istraživanjima umnožena je fitoplazmina DNA u lančanoj reakciji polimerazom čime je potvrđena prisutnost ovog patogena u nekim simptomatičnim uzorcima vinove loze. Iako istraživanja fitoplazmi upućuju na njihovu široku rasprostranjenost, njihova prisutnost na vinovoj lozi u Hrvatskoj do nedavna nije bila zabilježena.

Opis bolesti

Simptomi žućenja vinove loze koji se uklapaju u opis bolesti uzrokovanih fitoplazmama, uočeni su u novije vrijeme u vinogradima sjeverozapadne Hrvatske i Istre (slike u boji na naslovnoj stranici). Simptomi se najviše očituju na sortama "Chardonnay" i "Pinot sivi". Simptomi se pojavljuju početkom ljeta, a najizraženiji su u rujnu i listopadu. Rubovi listova se počinju uvijati prema dolje, lisne plojke požute, dok žile na listovima ostaju zelene. Proces ligniziranja je poremećen, izbojci ne odrvenjuju, pa biljke često ugibaju naredne zime zbog smrzavanja. Na zelenim dijelovima stabljike mogu se pojaviti karakteristične pustulozne tvorbe. Bobe ili čak cijeli grozdovi postaju smežurani i suše se (Šarić et al., 1997.). Neki autori opisuju smanjenje uroda kod takvih oboljelih biljaka i do 50 % u prvoj godini nakon pojave simptoma. Do ugibanja oboljele loze obično dolazi dvije do tri godine nakon pojave prvih simptoma. Niti jedna od bolešću zahvaćenih biljaka nije se dosad uspjela oporaviti. Bolest je prisutna u brojnim alternativnim domaćinima i širi se vrlo brzo, pa se u budućnosti mogu očekivati znatni gubici u hrvatskom vinogradarstvu i vinarstvu.

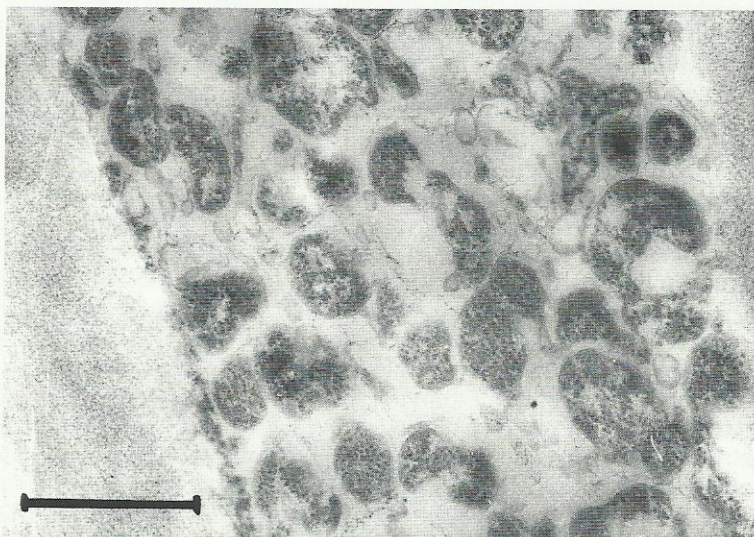
Fitoplazme kao uzročnici bolesti vinove loze

Bolesti vinove loze poznate pod zajedničkim nazivom žutice vinove loze opisane su u Europi, ali i u drugim dijelovima svijeta (Šarić 1977., Daire et al. 1997.). Iako se radi o bolestima gotovo jednake simptomatologije, zabilježene su razlike u epidemiologiji te prihvatljivosti na različitim sortama vinove loze. Najpoznatija od opisanih bolesti općeprihvaćenog naziva "flavescence doree" prvi puta je registrirana u Francuskoj (Caudwell et al. 1971.), a potom u Španjolskoj i Italiji (Belli et al., 1973.). Pojava bolesti redovito je povezana s prisutnošću fitoplazme koja parazitira u provodnom tkivu (floemu), a prenose je kukci iz skupine cikada, najčešće *Scaphoideus titanus* (Caudwell 1990.). I ostale bolesti iz navedene skupine povezuju se s prisutnošću fitoplazmi, što je u mnogim slučajevima evidentirano elektronskom mikroskopijom.

I na drugim poljoprivrednim kulturama kao npr. kruški (Šarić i Cvjetković, 1985.), jabuci, kukuruzu, rajčici (Panjan et al., 1970.), salati, kokosovoj palmi te ukrasnom bilju i

šumskom drveću opisane su diljem svijeta bolesti za koje je općenito prihvaćeno da ih uzrokuju fitoplazme iako se Kochovi postulati nisu mogli zadovoljiti pri utvrđivanju takve etiologije. Fitoplazme su, naime, prokariotski organizmi koji se ne mogu uzgajati na umjetnim hranjivim podlogama pa je nemoguće uzgojiti čistu kulturu patogena. Teško se prenose sa zaraženog tkiva, naročito drvenastih biljaka u kojima se nalaze u vrlo niskoj koncentraciji (Nienhaus i Sikora, 1979.). Kao i mikoplazme od bakterija se razlikuju po još nekim bitnim obilježjima npr. nemaju staničnu stijenku pa su pleomorfne (sl. 1) (Marcone i Ragozzino, 1996.).

Fitoplazme se mogu otkriti elektronskim mikroskopom u floemu domaćina u kojem postižu dovoljno visoku koncentraciju. U drvenastim domaćinima populacija fitoplazmi je slabo i nejednoliko zastupljena, što otežava primjenu elektronske mikroskopije pri



Slika 1. Pleomorfne stanice fitoplazmi u zaraženom biljnom tkivu (elektronsko-mikroskopska snimka, skala označuje 500 nm).

detekciji. Unatoč tome, elektronska mikroskopija zadovoljava kao metoda za proučavanje ultrastrukturnih osobina fitoplazmi. Radi proučavanja bioloških svojstava fitoplazme se obično prenose cijepljenjem, parazitskom biljkom "vilinom kosom" (*Cuscuta campestris*) ili pomoću kukca-vektora, ukoliko je poznat, na pokusnog domaćina *Catharantus roseus*. U eksperimentalnim uvjetima fitoplazma koja uzrokuje bolest "flavescence doree" uspješno se održava na bobu (*Vicia faba*) i prenosi kukcem *Euscelidius variegatus*. Taj domaćin kao i kukac - vektor sadrže relativno veliku količinu fitoplazmi pa su pogodni za djelomičnu purifikaciju tih patogena i pripravljanje specifičnog seruma kojim se fitoplazme mogu dokazati u vektoru *Scaphoideus titanus* sabranom na zaraženim čokotima.

Molekularna detekcija i identifikacija

U posljednjih nekoliko godina za detekciju i identifikaciju fitoplazmi najviše se upotrebljavaju molekularne metode, a posebice lančana reakcija polimerazom (PCR) i elektroforetska analiza fragmenata dobivenih djelovanjem restrikcijskih endonukleaza

na dijelove fitoplazmine DNA umnožene PCR-reakcijom (restriction fragment length polymorphism - RFLP). Ovaj izbor metoda ima nekoliko važnih prednosti pred ostalim npr. visoku osjetljivost, razmjernu jednostavnost, mogućnost primjene na veliki broj uzoraka, te mogućnost detekcije različitih skupina fitoplazmi. PCR-metoda osjetljivija je od elektronske mikroskopije, serologije i molekularne hibridizacije, što je čini izrazito pogodnom za detekciju pri niskim koncentracijama fitoplazmi u drvenastim biljkama.

Nakon izolacije ukupne DNA iz tkiva loze, specifični parovi DNA-klica primjenjuju se za umnožavanje fitoplazmatskih nukleotidnih slijedova i identifikaciju fitoplazmi. Lančanom reakcijom polimerazom najčešće se umnožava konzervirana regija gena za 16S-ribosomsku RNA koja se nalazi u genomu svake fitoplazme, a razlikuje se od DNA ostalih organizama. Tehnika RFLP zajedno s PCR-umnožavanjem, što se temelji na upotrebi DNA-klica specifičnih za određenu filogenetsku skupinu fitoplazmi (nested-PCR), omogućuje razlikovanje i identifikaciju pojedinih skupina i podskupina fitoplazmi koje parazitiraju na vinovoj lozi (Alma *et al.*, 1996.; Vibio *et al.*, 1996; Marcone *et al.*, 1996.).

Elektronska mikroskopija i nadalje osigurava podatke o morfologiji kao i brojnost te distribucije stanica fitoplazmi u zaraženom tkivu loze.

Zaključak

Fitoplazmoza na vinovoj lozi nije više ograničena samo na zemlje zapadne i jugozapadne Europe. Zabilježeno je njeno širenje prema srednjoj i istočnoj Europi (Honetšlegerova *et al.*, 1996.; Seljak i Osler, 1997.), pri čemu niti Hrvatska nije zaobiđena (Šarić *et al.*, 1997.).

Širenju bolesti pogoduje promet sadnim materijalom. Zato je i u Hrvatskoj potrebno razvijati relevantnu metodologiju kakvu pri detekciji i identifikaciji fitoplazmi koriste najrazvijeniji svjetski laboratoriji. Ta bi metodologija ubuduće mogla biti korištena za rutinsko testiranje sadnog materijala loze. Osim toga, dobio bi se uvid u rasprostranjenost bolesti te zastupljenost i rasprostranjenost vektora. Dobiveni rezultati bili bi polazište u borbi protiv navedene bolesti jer bi omogućili najefikasnije suzbijanje kukca-vektora te pravovremenu eliminaciju zaraženih biljaka kao izvora širenja zaraze.

Budući da fitoplazme zaražavaju i druge poljoprivredne kulture, sustavna istraživanja temeljena na molekularnim metodama imala bi u hrvatskoj poljoprivrednoj praksi značenje koje prelazi okvire vinogradarstva i vinarstva.

Literatura

- Alma A., Davis R.E., Vibio M., Danielli A., Bosco D., Arzone A. and A. Bertaccini (1996.). Mixed infection of grapevines in Northern Italy by phytoplasmas including 16S rRNA RFLP subgroup 16Srl-B strains previously unreported in this host. *Plant Disease* 80: 418-421.
- Belli G., Fortusini A., Osler R. e A. Amici (1973.). Presenza di una malattia del tipo "Flavescence dorée" in vigneti dell'Oltrepò pavese. *Rivista di Patologia Vegetale, Serie IV, (Suppl.)*, 51-56.
- Caudwell A., Gianotti J., Kuszala C. and Larrue J. (1971.). Etude du rôle de particules de type mycoplasme dans l'étiologie de la Flavescence dorée de la vigne. Examen cytotologique des plantes malades et des cicadelles infectieuses. *Annales de Phytopathologie* 3: 107-123.

-
- Caudwell A. (1990.). Epidemiology and characterization of Flavescence dorée (FD) and other grapevine yellows. *Agronomie* 10: 655-663.
- Daire X., Clair D., Boudon-Padieu L. and E. Boudon-Padieu (1997.). Survey for grapevine yellows phytoplasmas in diverse European countries and Israel. *Vitis* 36 (1): 53-54.
- Honetšlegrova J., Vibio M. and A. Bertaccini (1996.). Electron microscopy and molecular identification of phytoplasmas associated with strawberry green petals in the Czech Republic. *European Journal of Plant Pathology* 102: 831-835.
- Marcone C. and A. Ragozzino (1996.). Comparative ultrastructural studies on genetically different phytoplasmas using scanning electron microscopy. *Petria* 6: 125-136.
- Marcone C., Ragozzino A., Credi R. and E. Smuller (1996.). Detection and characterization of phytoplasmas infecting grapevine in southern Italy and their genetic relatedness to other grapevine yellows phytoplasmas. *Phytopathologia mediterranea* 35: 207-213.
- Nienhaus F. and R.A. Sikora (1979.). Mycoplasmas, spiroplasmas, and rickettsia-like organisms as plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 17: 37-58.
- Panjan M., Šarić A. und M. Wrischer (1970.). Mycoplasmaähnliche Gebilde in Tomatenpflanzen nach Infektion mit Kartoffelgelbsucht. *Phytopathologische Zeitschrift* 69: 31-35.
- Seljak G. i R. Osler (1997.). Potrditev trsne rumenice vrste "črni les" (stolbur) na Primorskem. 3. Slovensko posvetovanje o varstvu rastlin (sažeci str. 5), Portorož.
- Šarić A. (1977.). Neke mikoplazmoze voćaka i vinove loze. *Biljna zaštita* 6: 253-257.
- Šarić A. i B. Cvjetković (1985.). Nalaz mikoplazmama sličnih organizama u jabuci sa simptomima proliferacije i kruški sa simptomima propadanja. *Poljoprivredna znanstvena smotra* 68: 61-67.
- Šarić A., Škorić D., Bertaccini A., Vibio M. and E. Murati (1997.). Molecular detection of phytoplasmas infecting grapevines in Slovenia and Croatia. 12th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus Diseases of the Grapevine (ICVG). Extended abstracts (in press). Algés, Portugal.
- Vibio M., Bertaccini A., Lee I.-M., Davis R. E. and M.F. Clark (1996.). Differentiation and classification of aster yellows and related European phytoplasmas. *Phytopathologia mediterranea* 35: 33-42.