

## VIROZE STRNIŠČNE REPE IN NJIHOVI POVZROČITELJI

Miloš Kus<sup>1</sup>

### IZVLEČEK

Jesenji 1993 je na strniščni repi izbruhnila huda virusna bolezen, ki je dobesedno uničila precej posevkov. Znamenja bolezni so zelo huda: mozaik, deformacije listov, rumenenje listnega površja, zaostanek v rasti, predčasno odmiranje rastlin in nekroze v cevnih povezkih, zlasti v korenju.

Za identifikacijo virusov smo uporabili testne rastline, serološko testiranje in elektronsko mikroskopijo. Strniščno repo in ostale testne rastline smo okuževali mehanično z vtiranjem soka, iztišnjenega iz listov ali korenov okuženih rastlin in s hrnanjem sive breskove uši (*Myzus persicae*).

Identificirali smo 2 virusa: virus mozaika strniščne repe (TuMV) in virus zahodne rumenice pese (BWYV). Manjše število naravno okuženih rastlin na njivi je bilo okuženih z obema virusoma hkrati.

Skupina izolatov virusa mozaika strniščne repe povzroča sistemično okužbo metlike (*Chenopodium amaranticolor*); po tej lastnosti se razlikujejo od vseh doslej opisanih različkov tega virusa.

Z elektronsko mikroskopijo so bili na strniščni repi odkriti še delci virusa, ki so po dolžini in obliki podobni delcem virusa rumenice pese (BYV).

Ugotovili smo, da je siva breskova uš najpomembnejša prenašalka obeh identificiranih virusov (TuMV, BWYV). Obstaja namreč tesna povezava med dinamiko poletne selitve sive breskove uši in obsegom nijovega širjenja v posevkih strniščne repe. Strniščna repa, posejana konec julija, se praviloma izogne okužbam, ker vznikne v času, ko je poletna selitev uši - vektorjev že končana.

Ključne besede: strniščna repa, virusi, vektorji virusov

### ABSTRACT

#### PRESENCE OF VIRUS DISEASES ON TURNIP (*Brassica rapa* subsp. *rapa*) IN SLOVENIA

A severe outbreak of virus infections occurred on turnip in 1993. The observed symptoms were: mosaic with leaf distortion, yellowing of the leaf blades, stunting and phloem necrosis. Experimental transmission of the viruses to turnip and experimental hosts was performed mechanically and with *Myzus persicae*. Host range, serology and electronmicroscopy were utilised to identify the viruses. The identified viruses were Turnip mosaic virus (TuMV) and Beet western yellows virus (BWYV). In the fields TuMV and BWYV were often found as mixed infection.

A group of isolates of TuMV was able to infect *Chenopodium amaranticolor* systemically. By this character they were distinguished from other strains of the virus described so far.

By electron microscopy a few virus particles resembling by shape and length the particles of Beet yellows virus (BYV) were found.

<sup>1</sup> M-KŽK Kmetijstvo, Laboratorij za fiziologijo in virusne bolezni krompirja, Kranj

Aphid *M. persicae* was found to be most important vector of both viruses. There is a close connection between the dynamics of the summer migration of *M. persicae* and the rate of the spread of identified viruses. Turnip sown in the last days of July largely avoid the infection as they emerge after most of the aphid flight stops.

Key words: turnip, viruses , vectors

## 1 UVOD

Jeseni 1993 je pridelovalce strniščne repe v Sloveniji presenetila neznana bolezen, ki je dobesedno uničila večje število posevkov, v ostalih pa močno zmanjšala pridelek. Zaradi številnih rjavih peg v notranjosti korenov je bila poleg količine, močno prizadeta tudi kakovost pridelka. Poleg strniščne repe so bili močno prizadeti tudi posevki kitajskega kapusa.

Pomladi 1994 smo pregledali semenjake strniščne repe pri vzgojiteljih semena in med njimi izbrali take, ki so kazali podobna boleznska znamenja, kot smo jih opazili jeseni 1993 na posevkih te poljščine. Začetne raziskave s testnimi rastlinami so potrdile našo hipotezo, da je strniščna repa propadala zaradi okužbe z eno ali več vrstami virusov, ki doslej pri nas še niso bili identificirani in da te viruse prenašajo nekatere vrste listnih uši med njihovo poletno selitvijo.

V Evropi so doslej identificirali in opisali več virusov na strniščni repi:

- Virus strniščne repe (Turnip mosaic virus - TuMV), ki je identičen z virusom črne obročkavosti kapusnic (Cabbage black ringspot virus - CBRSV),
- Virus mozaika cvetače (Cauliflower mosaic virus CMV),
- Virus zahodne rumenice pese (Beet western yellows virus BWYV),
- Virus rumenega mozaika strniščne repe (Turnip yellow mosaic virus - TYMV).

Nobeden od naštetih virusov se ne prenaša s semenom. TuMV, CMV in BWYV prenašajo listne uši., TYMV, ki smo ga v Sloveniji identificirali že leta 1969 pa prenašajo nekatere vrste bolhačev (*Phyllotreta* sp.)

## 2 MATERIAL IN METODE

### 2.1 Rastlinski material

Jeseni 1995 in jeseni 1996 (september, oktober) smo pregledovali posevke strniščne repe na območju Kranjske ravni in kolekcionirali rastline z znamenji virusnih okužb. Kolekcionirali smo tudi sumljive rastline nekaterih drugih vrst križnic.

### 2.2 Določevanje virusov in prenašalcev virusov

**2.2.1 Testne rastline.** Inokulirali smo naslednje vrste testnih rastlin: strniščna repa (*Brassica rapa* subsp. *rapa*), zelje (*Brassica oleracea* var. *capitata*) cv. ljubljansko in modro, cvetača (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bela gorjušica (*Sinapis alba*), in dve vrsti metlik (*Chenopodium amaranticolor* in *Chenopodium quinoa*).

Za inokulacijo testnih rastlin smo kot abraziv uporabili karborund 400, inokulirali pa smo s sokom iztisnjениm iz listov strniščne repe, iz korenov strniščne repe, z mešanicami soka iz listov in korenova strniščne repe, z dodatkom 0,05 M fosfatnega puferja ali brez njega in po metodi list na list.

Poleg mehanske inokulacije smo za prenos virusne okužbe z okuženih na neokužene rastline strniščne repe uporabili še osebke sive breskove uši (*Myzus persicae*).

**2.2.2 Serološko testiranje.** Za serološko testiranje smo uporabili metodo DAS-ELISA. Preverjali smo okuženost z virusoma TuMV in BWYV.

**2.2.3 Elektronska mikroskopija.** Identifikacijo virusov z elektronsko mikroskopijo so opravili na Inštitutu za biologijo v Ljubljani po metodi dekoracije s specifičnimi protitelesi in kombinacijo metod lovljenja virusov in dekoracije s specifičnimi protitelesi.

**2.2.4 Dinamika selitev listnih uši-vektorjev virusov.** Dinamiko selitev listnih uši smo ugotavljali s pomočjo avtomatske lovilne posode (aktafid) v Šenčurju pri Kranju. Vrste listnih uši, ki so znane kot prenašalke virusov križnic, smo iz dnevnih ulovov determinirali v LFVB.

### 3 REZULTATI

#### 3.1 Testne rastline

Jeseni 1995 smo iz kolekcioniranih rastlin strniščne repe izbrali 9 z značilnimi znamenji okužbe (rumenenje in gubanje listnega površja, rjave pege v korenju, zmanjšana rast). Inokulacija testnih rastlin s sokom, iztisnjениm iz njihovih listov ali korenov je dala naslednje rezultate:

Strniščna repa. Prva znamenja sistemične okužbe so se pojavila 15 - 21 dni po inokulaciji, najprej svetlenje in rumenenje listnih žil in gubanje listnega površja, kasneje pa rumenenje listov s pegami temno zelene barve različnih velikosti in oblik, zmanjšana rast in v več primerih tudi prezgodnje odmiranje rastlin.

Na rastlinah, okuženih s pomočjo sive breskove uši so se prva znamenja sistemične okužbe pojavila čez 28 dni.

Bela gorjušica. Prva znamenja sistemične okužbe smo opazili 15 dni po inokulaciji in sicer v obliki svetlejših, vdrtih listnih žil. Temu sledi rumenenje listnih žil in listnega površja, na porumenelem površju pa ostanejo temnozelene pege različnih velikosti in oblik. Listno površje je nagubano, listi so deformirani, rast pa zelo zmanjšana.

*Chenopodium amaranticolor* (metlika). Prva lokalna znamenja v obliki rumenih peg, posutih na inokuliranih listih, smo opazili 14-17 dni po inokulaciji. Nekaj dni kasneje so pege dobole jasno temnordečo obrobo, porumeno tkivo znotraj obrobe pa je sčasoma porjavelo (odmrlo). Znamenja sistemične okužbe v obliki rumenih peg na listnih žilih in ob njih so se pojavila 19-20 dni po inokulaciji.

*Chenopodium quinoa* (metlika). Lokalna znamenja v obliki rumenih peg so se pojavila 14-21 dni po inokulaciji. Rumeno tkivo peg je kasneje odmrlo. Prva znamenja sistemične okužbe, prav tako v obliki rumenih peg, so se pojavila na mladih listih 20-21 dni po inokulaciji.

Zelje, cvetača. Inokulirane rastline niso reagirale z nikakršnimi znamenji.

Jeseni 1996 smo preskušanje s testnimi rastlinami ponovili; v ta namen smo iz kolekcije okuženih rastlin, zbranih na terenu, izbrali 7 z najbolj značilnimi znamenji. Za testne rastline smo ponovno izbrali strniščno repo in metliko (*Chenopodium amaranticolor*). Inokulirane rastline strniščne repe so na okužbo reagirale enako kot v letu 1995.

Inokulirane rastline metlike (*C. amaranticolor*) so se na okužbo odzvale čez 5-11 dni z že opisanimi lokalnimi znamenji. Sistemična znamenja so se pojavila 5-23 dni po inokulaciji: pri treh izolatih v enaki obliki kot v letu 1995, pri dveh izolatih v izjemno hudi obliki (poleg rumenih peg ob žilah še rumenenje posameznih večjih delov žil, hude deformacije listov in zelo zmanjšana rast), dva izolata pa nista povzročila sistemične okužbe, zato so ta znamenja povsem izostala. Enako se je obnašal tudi virusni izolat iz okužene rastline brstičnega ohrovta (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*).

### **3.2 Serološko testiranje**

Serološko testiranje na virus mozaika strniščne repe (TuMV).

Strniščna repa. Vse inokulirane rastline so v obeh letih testiranja reagirale pozitivno.

Metlika (*Ch. amaranticolor*). Z vsake inokulirane rastline smo vzeli 2 vzorca za testiranje; v enem vzorcu smo zbrali liste z lokalnimi znamenji, v drugem pa neinokulirane mlade liste s sistemičnimi znamenji oziroma brez njih. Vsi vzorci inokuliranih listov z lokanimi znamenji okužbe so dali pozitivne serološke reakcije. Vsi vzorci mladih (neinokuliranih) listov z rastlin, ki so reagirale s sistemičnimi znamenji, so tudi dali pozitivne serološke reakcije, vzorci s tistih, ki sistemičnih znamenj niso kazale pa negativne.

Serološko testiranje na virus zapadne rumenice sladkorne pese (BWYV).

V letu 1996 smo 55 kolecioniranih rastlin strniščne repe testirali na okuženost z virusom BWYV; pozitivno jih je reagiralo 8. Na posameznih rastlinah iz kolekcije smo ugotovili hkratno okužbo z obema virusoma TuMV in BWMV.

### **3.3 Elektronska mikroskopija**

V vzorcih posameznih inokuliranih rastlin je bilo ugotovljenih več različnih virusnih delcev, in sicer:

- izometrični (sferični) delci s premerom cca 26 nm
- nitasti delci dolžine 700-800 nm
- nitasti delci dolžine cca 1250 nm in

### **3.4 Ocena okuženosti posevkov strniščne repe v širši okolici Kranja v letih 1993 - 1996.**

Ocena okuženosti je narejena na osnovi vizualnih pregledov posevkov strniščne repe v mesecu oktobru.

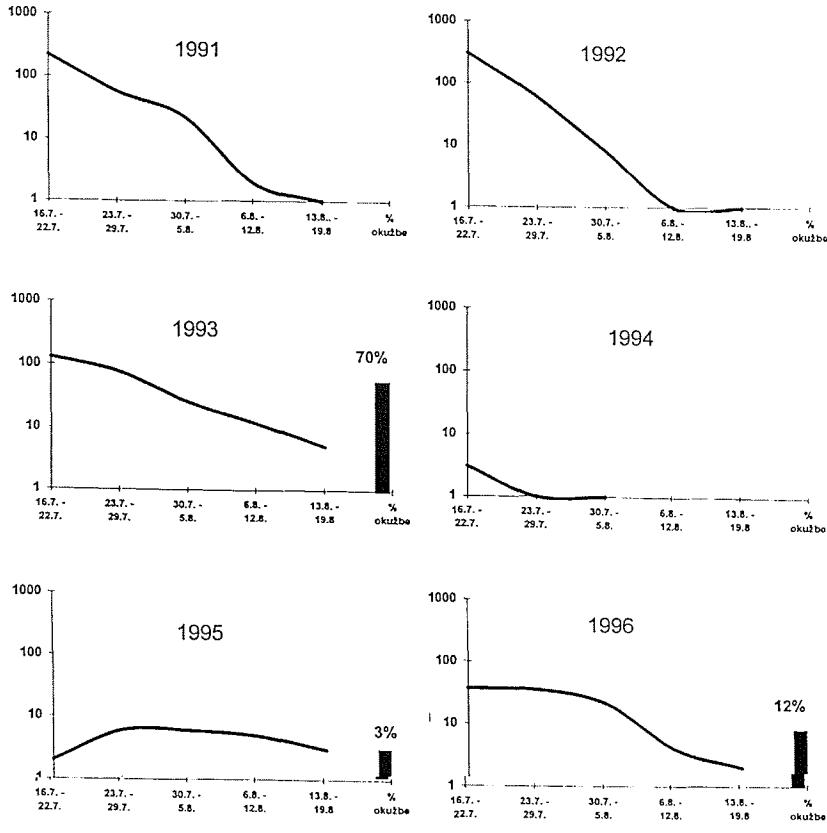
Leto	1993	1994	1995	1996
% okuženih rastlin	50-90	0	0-5	5-16

V letu 1995 smo na posevku strniščne repe, ki je bila izjemoma posejana že v začetku julija, ugotovili blizu 50 % okuženih rastlin.

### 3.5 Dinamika selitev listnih uši - vektorjev virusov

Dinamika selitev sive breskove uši v času od 16. 07. - 20. 08., tj. v kritičnem obdobju za prenos virusne okužbe na mlade rastline strniščne repe in % ugotovljenih virusnih okužb je prikazana grafično za posamezna leta v obdobju 1991 - 1996.

Grafični prikaz selitev sive breskove uši (*M. persicae*) v času od 16. 7. do 20. 8. in % okuženosti posevkov strniščne repe v okolici Kranja v obdobju 1991 - 1996



### 3.6 RAZPRAVA

Z obsežnimi raziskavami s testnimi rastlinami, elektronsko mikroskopijo in s serološkim testiranjem smo na strniščni repi identificirali več vrst virusov.

Glavni povzročitelj težkih bolezenskih znamenj na strniščni repi (rumenenje in deformacije listov, zmanjšana rast) in hkrati najbolj razširjen virus ima fleksibilne nitaste delce dolžine 700-800 nm. Prenaša se s sokom na več vrst testnih rastlin, specifičnih za določanje TuMV, zelo uspešno tudi z listnimi ušmi (npr. *M. persicae*). Virus daje pozitivno serološko reakcijo z antiserumom, ki vsebuje specifična protitelesa za virus TuMV. Te lastnosti se ujemajo z lastnostmi, značilnimi za virus mozaika strniščne repe (TuMV), ki so navedene v strokovni literaturi.

Pri proučevanju naših izolatov virusa, smo opazili, da se med seboj razlikujejo, in sicer po okužbi, ki jo povzročajo na metliki (*Chenopodium amaranticolor*). Tvorijo 2 skupini. Prva povzroča na *C. amaranticolor* samo lokalna znamenja, ne more pa jo okužiti sistemično. Druga skupina izolatov povzroča lokalna in sistemična znamenja, tj. *Ch. amaranticolor* okužuje sistemično, kar smo dokazali tudi z elektronsko mikroskopijo. Izolati oziroma različki TuMV, ki bi povzročali sistemično okužbo testne rastline *Ch. amaranticolor* v tuji literaturi doslej še niso bili opisani. Zato zaslužijo še posebno pozornost in jih je treba še natančneje proučiti.

Drugi virus, ki smo ga odkrili v okuženih rastlinah strniščne repe, povzroča klorozo listnih robov (rumena obroba) in listnega tkiva, nekoliko zmanjšano rast in epinastijo listov. Na inokuliranih testnih rastlinah ni izzval nobenih znamenj, kar je dokaz, da se s sokom ne prenaša. Virusni delci so izometrični, premera 26 nm. Virus daje pozitivne serološke reakcije z antiserumom, ki vsebuje protitelesa za virus zapadne rumenice pese (Beet western yellows virus). Drugi virus smo zato identificirali kot BWYV, saj se njegove fizikalne in biotične lastnosti ujemajo z opisi tega virusa v literaturi. Pomembna lastnost virusa je, da ga prenašajo samo nekatere vrste listnih uši, in sicer perzistentno. Poleg znamenj na listih povzroča virus tudi nekroze v cevnih povezkih. V korenih nastajajo številne večje ali manjše rjave pege iz odmrlega tkiva, s čemer je močno prizadeta kvaliteta pridelka.

Jeseni 1996, tik pred sklepom raziskav, so bili z elektronsko mikroskopijo odkriti še nitasti upogljivi virusni delci, dolgi cca 1250 nm, zelo podobni delcem virusne rumenice pese (Beet yellows virus). Rezultati, dobljeni z elektronsko mikroskopijo, ne zadoščajo za dokončno identifikacijo, zaradi pomebnosti tega virusa pa bi bilo koristno raziskavo nadaljevati do dokončne identifikacije.

Virus mozaika strniščne repe okužuje še vrsto drugih vrtnin in sicer zelje, cvetačo, brstični ohrov, kitajski kapus, redkev, belo gorjušico, hren in rabarbaro, pa tudi nekatere vrste cvetlic, npr. cinije in petunije. Zato ima tudi mnogo sinonimov: *Brassica virus 1*, *Cabbage virus A*, *Cabbage black ringspot virus*, *Marmor brassicae* in *Radish P and R viruses*.

Ker se vse več kmetij v okolici večjih mest preusmerja v pridelovanje pravkar navedenih vrtnin, narašča tudi gospodarska škoda, ki jo virus povzroča, še posebej v letih, v katerih prihaja do množičnih okužb.

Za strniščno repo ni nič manj škodljiv virus zapadne rumenice pese. Povzroča nekroze (rjavenje) cevnih povezkov v korenju in s tem zmanjša ali celo povsem izniči njeni

uporabnost za človeško prehrano. Razen strniščne repe okužuje še slatkorno peso, redkev in še nekatere druge rastline.

Škoda, ki bi jo na strniščni repi utegnil povzročiti virus rumenice pese, ni znana.

Virus zapadne rumenice pese in virus rumenice pese povzročata veliko škodo na slatkorni pesi, saj zmanjšuje pridelek po količini in kakovosti (manjša vsebnost sladkorja). Ker v naslednjih letih pričakujemo naraščanje njiv, posejanih s slatkorno peso in njeno širjenje na nova območja npr. na Gorenjsko, ki je tradicionalno območje pridelovanja strniščne repe, narašča možnost izbruha večjih epidemij navedenih dveh virusov in z njimi povezane znatne gospodarske škode.

Virusi, ki smo jih identificirali na strniščni repi, se ne prenašajo s semenom. Prenašajo jih nekatere vrste listnih uši, in sicer BWYV perzistentno, TuMV in BYV pa neperzistentno. To pomeni, da je širjenje omenjenih treh virusov tesno povezano s selitvami listnih uši v času vznika in začetne rasti strniščne repe (druga polovica julija in prva polovica avgusta). Podatki o dinamiki selitev listnih uši - vektorjev virusov, predvsem pa sive breskove uši (*M. persicae*) in o obsegu okužb v posevkah strniščne repe v obdobju 1993-1996 dokazujejo tako povezano tudi pri nas. V letih, ko se je poletna selitev sive breskove uši končala pred setvijo strniščne repe konec julija, okužb z virusi ni bilo ali pa jih je bilo zelo malo. V letih pa, ko se je poletna selitev sive breskove uši zakasnila in se zavlekla v obdobje po vzniku strniščne repe, je bilo okužb z virusi mnogo. Pri tem so zelo pomembni tudi izvori okužbe. Teh je veliko več v letu, ki sledi množični selitvi sive breskove uši. Posledico koincidence teh dveh pojavov najbolj nazorno potrjuje množična okužba strniščne repe v letu 1993.

Na tem spoznanju smo izdelali model, ki na enostaven in okolju prijazen način onemogoča množično širjenje virusov na strniščni repi. Sloni na monitoring sistemu za listne uši - vektorje virusov, ki v Sloveniji deluje že 7 let. V letih, ko nas sistem opozori, da se je selitev breskove uši časovno zakasnila ali zavlekla, svetujemo kmetom, da setev strniščne repe za nekaj dni odložijo. Odložitev setve za samo 3-4 dni lahko zadostuje, da se izognemo množičnim okužbam z virusi.

#### 4 SKLEP

Z raziskavami, ki smo jih opravili v okviru projekta, smo ugotovili:

- Množično propadanje strniščne repe v l. 1993 je povzročila okužba z virusi, ki okužujejo tudi številne druge križnice. Virusne okužbe se pojavljajo vsako leto, navadno v manjšem obsegu.
- Identificirana sta bila 2 virusa, in sicer virus mozaika strniščne repe (Turnip mosaic virus) in virus zapadne rumenice pese (Beet western yellows virus). Skupina izolatov virusa mozaika strniščne repe povzroča sistemično okužbo metlike (*Ch. amaranticolor*); po tej lastnosti se razlikujejo od vseh doslej opisanih različkov tega virusa.

Z elektronsko mikroskopijo so bili odkriti še delci virusa, ki so po dolžini in obliki podobni delcem virusa rumenice pese (Beet yellows virus).

- Virus zapadne rumenice pese in virus rumenice pese množično okužujeta tudi sladkorno peso, kjer povzročata veliko gospodarsko škodo. Ker se pridelovanje sladkorne pese v Sloveniji širi nasploh in še posebej v tradicionalne predele pridelave strniščne repe, jih je nujno podrobnejše proučiti, še posebej medsebojni odnos strniščna repa - sladkorna pesa, kot rastlin gostiteljic.
- Dokazana je bila ozka povezanost med dinamiko poletne selitve sive breskove uši (*M. persicae*) in obsegom širjenja identificiranih vrst virusov. Na tej osnovi je bil izdelan model za okolju prijazen in enostaven način preprečevanja širjenja teh virusov na strniščni repi.

## 5 LITERATURA

- Broadbent, I., 1957, Virus Diseases of Brassica Crops.- Cambridge;
- Crescenzi, A., Peressini, S., Alioto, D., Ragozzino, A., 1989, Segnalazione di infezioni virali su rapa (*Brassica rapa* subsp. *rapa*) in Friuli-Venezia Giulia.- Informatore fitopatologico, N<sup>o</sup> 4;
- Duffus, J.E., 1972, Beet western yellows virus.- C.M.I./ A.A.B, Description of plant viruses, N<sup>o</sup> 89;
- Kus, M., 1969, Virus rumenega mozaika strniščne repe v Sloveniji.- Zaštita bilja, br. 104, 165 - 167;
- Kus, M., 1993, Opazovalno - svarilni (monitoring) sistem za listne uši - vektorje virusov v Sloveniji in njegov pomen; Zbornik predavanj in referatov s 1. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, 61-66;
- Mamula, Dj., 1968, Virus mozaika postrne repe (Turnip yellow mosaic virus) u Jugoslaviji.- Acta Bot. Croat., XXVI-XXVII, 85-100;
- Matthews, F, 1980, Turnip yellow mosaic virus.- C.M.I./A.A.B. Description of Plant Viruses N<sup>o</sup> 230;
- Miličić, D. et al. 1963, Rasprostranjenost nekih vrsta virusa krucifera u Jugoslaviji, Agronomski glasnik 1-2, 92.-100;
- Russell, G.E., 1970, Beet yellows virus.- C.M.I./A.A.B. Description of Plant Viruses No 13;
- Šutić, D., 1982, Viroze biljaka.- 146-160, 206-214;
- Tomlinson, J. A., 1970, Turnip mosaic virus.- C.M.I./A.A.B. Description of Plant Viruses, No 8.