

19910101

INŠTITUT ZA GOZDNO IN LESNO GOSPODARSTVO
PRI BIOTEHNIŠKI FAKULTETI V LJUBLJANI

Ekspertiza

ODC: 176.1 Robinia pseudoacacia l.
:416.15(497.12x01)

RUMENENJE ROBINIJE (ROBINIA PSEUDOACACIA L.) NA GORIŠKEM

Alenka MUNDA

Ljubljana, 1991

Z gozdnega gospodarstva v Tolminu ste nas opozorili, da na Goriškem v velikem obsegu in zelo hitro propada robinija (*R.pseudoacacia* L.). Sušenje robinije ste prvič opazili pred vsaj štirimi leti v okolici kraja Števerjan ob italijanski meji. Pojav nikakor ni le lokalnega značaja in je v naslednjih letih zajel že večji del Goriške. Lansko pomlad smo si ogledali eno od prizadetih lokacij v okolici vasi Hum. Najbolj izrazit bolezenski znak, ki smo ga opazili na prizadetem drevju je bilo porumenelo listje. Že zgodaj poleti se je pojavila kloroza najprej na listnih žilah in postopoma na celi listni ploskvi. Prizadeta drevesa so se v letu ali dveh posušila. Težko je bilo zaslediti kakšno logiko ali zakonitost v širjenju tega pojava. Kljub temu, da je bilo rastišče na opazovani lokaciji dokaj izenačeno, so ponekod porumenele cele skupine dreves, drugod pa so le posamezna živo rumena drevesa izstopala iz ozadja zelenih, navidez povsem zdravih dreves.

Na listih, vejah in deblu nismo našli nobenih poškodb, ki bi jih mogli povzročiti škodljivci in tudi nobenih znakov okužbe z glivami. Nabrali smo vzorce in pri tem poskušali zajeti različne stopnje in oblike porumenelosti in propada dreves. Iz obolelega rastlinskega materiala smo v laboratoriju naredili dvajset izolacij na malt agar. Vse izolacije so ostale sterilne. S tem smo možnost, da rumenenje robinije povzročajo glive, izključili.

Ker je tip rumenenja spominjal na mozaik, ki je eden od zankov okužbe z virusi, smo sumili, da so povzročitelji organizmi iz širše skupine virusov, mikoplazem in rikecij.

Virusni delci so premajhni, da bi jih lahko videli pod svetlobnim mikroskopom, zato smo za njihovo detekcijo uporabili enostavno virološko tehniko - mehanični prenos virusov na testne rastline. Porumenele liste robinije smo strli in s sokom okužili serijo testnih rastlin. Testne rastline smo pred tem vzgojili iz brezvirusnega semena v primernih pogojih v rastlinjaku. Uporabili smo standardne testne rastline iz rodov *Chenopodium* (*C.quinoa*, *C.amaranticolor*), *Nicotiana* (*N.tabacum*, *N.rustica*, *N.clevelandii*), *Phaseolus* (*P.vulgaris* cv. Top crop), *Cucurbita* (*C.pepo* cv. Vegetable marrow) in *Zinnia* (*Z.elegans*). Sok iz listov porumenelih robinij smo ekstrahirali v različnih ekstrakcijskih pufrih (Tris-HCl, GVF, nikotinski, fosfatni in boratni pufer). Različne načine ekstrakcije smo uporabili zato, da bi čim bolj ohranili infektivnost virusnih delcev. Po inkubacijski dobi, ki traja od nekaj dni do treh tednov, naj bi se na testnih rastlinah pokazali značilni znaki okužbe z virusi: najprej primarni znaki - klorotične in nekrotične pege in čez čas tudi znaki sistemske okužbe - progavost, mozaik, deformacije listov in poganjkov itd. (Metodo za mehanični prenos virusov smo povzeli po priporočilih iz knjige: D.G.A. Walkey, Applied plant virology).

Pričakovani simptomi so se pokazali pet dni po okužbi. Izraziti so bili le na eni testni rastlini (*Chenopodium quinoa*), pa še tam le, če smo pri ekstrakciji uporabili boratni pufer. S sokom te rastline smo ponovno okužili vso serijo testnih rastlin in dobili enake rezultate. Ker so se simptomi pojavili le na eni testni rastlini, domnevi, da gre za virusno obolenje robinije ne moremo pritrditi. Ne moremo pa je tudi povsem ovreči. Pred dokončnim dokazom bi morali še natančno pregledati sok iz porumenelih lističev pod elektronskim mikroskopom in morda uporabiti še katero od metod za detekcijo virusov.

Z iskanjem vzrokov rumenenja robinije moramo nadaljevati in kot možne povzročitelje vključiti tudi mikoplazme, ki lahko povzročijo zelo podobne simptome kot virusi. Tako so doslej že štirideset bolezni, ki povzročajo rumenenje listja (t.i. yellow diseases), za katere so domnevali, da so virusnega izvora, pripisali mikoplazmam. V to skupino sodi tudi ena prvih opisanih virusnih bolezni „čarovniška metla“, na robiniji. Opisali so jo že leta 1898, leta 1972 pa so ugotovili, da njeni povzročitelji niso virusi, temveč mikoplazme. Značilni znaki te bolezni so metlasto razrasle korenine in koreninski poganjki, redkeje tudi poganjki v krošnji. Listi na deformiranih poganjkih so precej manjši od normalnih, imajo značilno porumenele listne žile, listna ploskev pa ostane zelena. Obolele rastline so veliko bolj občutljive na zimski mráz in pogosto pozebejo.

Mikoplazme se od virusov ločijo po dveh lastnostih: občutljive so na antibiotike tetraciklinskega tipa in imajo drugačno zgradbo genoma (vsebujejo obe vrsti nukleinskih kislin DNA in RNA). Rastlinske mikoplazme so velike 60-1000 nm in obdane z enojno membrano. Za razliko od drugih prokariotov, nimajo celične stene. Njihovo strukturo lahko vidimo le pod elektronskim mikroskopom. Večinoma se zadržujejo v sitastih ceveh floema, včasih tudi v obdajajočih parenhimskih celicah. Večkrat so jih našli v celicah kalusa in apikalnega meristema. Nekatere vrste mikoplazem žive v koreninah, druge v poganjkih, na njihovo razporeditev vplivajo tudi zunanji dejavniki, zlasti temperatura.

Mikoplazem večinoma ni mogoče gojiti na umetni hranilni podlagi in zato izolacija iz rastlinskih tkiv skoraj nikoli ne uspe. Izjema so le spiroplazme (družina Spiroplasmataceae). Patogenih mikoplazem ni mogoče prenašati mehanično. Mnogo vrst prenaša predenica (*Cuscuta* sp.). njihovi glavni vektorji pa so sesajoče žuželke. Kot prenašalce največ navajajo cikade, pa tudi pršice, bolšice in uši. Nekatere mikoplazme prenaša več vrst vektorjev, druge so omejene le na specifične prenašalce. Mikoplazme se v vektorju namnožijo in ti ohranijo sposobnost okužbe rastlin vse svoje življenje.

Simptomi, ki jih povzroči okužba z mikoplazmami so zelo značilni. Navadno izzovejo deformacije v rasti (zakrneli poganjki, kratki internodiji, metlasta razrast), sterilnost cvetov, spremembo cvetov v vegetativne organe, nekroze floema, hipertrofije tkiv floema, nekroze cvetov, plodov in korenin ter rumenenje listja, ki se začne z bledenjem žil.

Za detekcijo mikoplazem je na voljo več metod. Tako kot pri virusih je tudi tu najbolj učinkovit elektronski mikroskop. Edina ovira pri tem je, da patogen ni enakomerno razporejen po rastlini in pogosto se zgodi, da v majhnem vzorcu, ki ga vzamemo za pripravo mikroskopskega preparata mikoplazem sploh ni, tehnike za pripravo preparatov pa so zelo zahtevne. Pri mikoplazmah, ki povzročajo histološke spremembe, v diagnostične namene lahko uporabimo tudi svetlobni mikroskop, zlasti, če hkrati uporabimo barvalne tehnike. Uporabljajo tudi fluorescenčno mikroskopijo: iz lubja okuženih rastlin z mikrotomom pripravijo reze, jih obarvajo in nato v sitastih ceveh opazujejo fluorescenco. Na ta način so odkrili že več mikoplazem na sadnem drevju, priporočajo pa jo tudi kot rutinsko metodo za detekcijo parazitskih mikoplazem na okrasnem drevju. V ta namen preizkušajo različna barvila, odkrili pa so tudi efekt autofluorescence v floemu inficiranih rastlin. Ena od metod je tudi merjenje električne prevodnosti okuženih poganjkov - tu je prevodnost višja kot pri zdravih poganjkih.

Tako kot pri virozah, so tudi pri zatiranju mikoplazem najpomembnejši preventivni ukrepi in vzgoja rezistentnih rastlin. Mikoplazme je mogoče zatirati tudi kemično, z uporabo preparatov, izdelanih na osnovi tetraciklina. Tretiranje z antibiotiki je treba nekajkrat ponoviti, sicer se na rastlinah ponovno pojavijo znaki obolenja.

S proučevanjem propadanja robinije moramo torej nadaljevati. Sklep, da rumenenje povzročajo mikoplazme, bi bil zaenkrat še prehiter in ne dovolj utemeljen. V veliko pomoč, bi nam bilo, če bi bolje poznali epidemiologijo obolenja. Zato predlagamo sistematično opazovanje izbranih in označenih dreves, ki naj natančno zabeleži simptome in razvoj bolezni (kdaj se simptomi pojavijo, kdaj pride do defoliacije drevja in kako hitro se drevesa posušijo, ali razvoj bolezni poteka le preko rumenenja listja ali se morda pojavijo tudi drugi opisani simptomi, zlasti deformacije korenin, katere vrste insektov žive na prizadetem drevju, kako hitro se rumenenje širi, na kakšen način je povezano ali odvisno od talnih razmer in klimatskih posebnosti ter podobno). Omenila sem že, da nas simptomi pri patogenih kot so mikoplazme zlahka zavedejo. Za zanesljiv dokaz bomo zato uporabili zgoraj navedene specifične metode za detekcijo mikoplazem.

Literatura:

- NEMETH M., 1986: Virus, micoplasma and rikettsia diseases of fruit trees
SELISKAR C.E. in sod., 1973: Mycoplasmalike bodies found in phloem of black locust affected with witches'-broom, Phytopathology 63, str. 30-34
WALKEY D.G.A 1984: Applied plant pathology

File Check