

REZULTATI DOSEDANJIH TESTIRANJ KOŠČIČARJEV NA OKUŽBO S ČEŠPLJEVO ŠARENKO (PPV) V SLOVENIJI

Vojko Škerlavaj¹

IZVLEČEK

Od leta 1987 naprej, po pojavu češpljeve šarenke (PPV, Plum pox potyvirus) v matičnih in pridelovalnih nasadih koščičarjev v različnih delih Slovenije, smo vsako leto preverjali okuženost izbranih vzorcev koščičarjev. Z ELISA tehniko smo preverjali okuženost vzorcev matičnih dreves, pridelovalnih nasadov, sadik iz drevesnic, solitarnih dreves in uvoženih koščičarjev. Okužba s češpljevo šarenko je bila potrjena na vzorcih sliv (*P. domestica*), marelic (*P. armeniaca*), breskev (*P. persica*) in nektarin (*P. persica* var. *nectarina*). Primerjali smo rezultate testiranj v rastni dobi in mirovanju. Testiranja smo opravljali na vzorcih listov in enoletnih poganjkov. Z imunoserološkim testiranjem smo v Sloveniji doslej ugotovili na slivah, češpljah in marelicah viruse PPV (*Plum pox potyvirus*), CLSV (*Chlorotic leaf spot virus*), PNRSV (*Prunus necrotic ring spot virus*), PDV (*Prune dwarf virus*) in ApMV (*Apple mosaic virus*). Pri breskvah in nektarinah smo doslej ugotovili viruse PPV, CLSV, PNRSV in PDV, pri češpljah in višnjah PNRSV in PDV, pri mandlju pa PDV.

Ključne besede: virusi, koščičarji, češpljeva šarenka (PPV)

ABSTRACT

RESULTS OF PREVIOUS TESTS MADE ON STONE FRUIT FOR INFECTION WITH PLUM POX POTYVIRUS (PPV) IN SLOVENIA

Infection of selected stone fruit samples was tested every year since 1987, i.e. the incidence of plum pox potyvirus (PPV) in stock and production plantations situated in different parts of Slovenia. ELISA technique was used to test the infection of samples of parent trees, production plantations, nursery plants, solitary trees and imported stone fruit. PPV infection was confirmed on samples of plums (*P. domestica*), apricots (*P. armeniaca*), peaches (*P. persica*) and nectarines (*P. persica* var. *nectarina*). Testing results were compared in growth period and in dormancy. Tests were made on leaf and one-year shoot samples. Immunoserologic tests helped to detect presence of PPV (*Plum pox potyvirus*), CLSV (*Chlorotic leaf spot virus*), PNRSV (*Prunus necrotic ring spot virus*), PDV (*Prune dwarf virus*) and ApMV (*Apple mosaic virus*) in plums and apricots grown in Slovenia. In peaches and nectarines until now the viruses PPV, CLSV, PNRSV and PDV, in plums and sour cherries PNRSV and PDV and in almonds PDV were detected.

Key words: stone fruit, viruses, plum pox potyvirus

1 UVOD

V obdobju šestdesetih let se je na območju južnega dela Jugoslavije, katere sestavni del je bila tedaj tudi Slovenija, z napravo plantažnih češpljevih nasadov močno razširila češpljeva šarenka (*Plum pox potyvirus* - PPV) (M. Jordović, 1990). V Sloveniji smo ugotovili njene močnejše pojave na območju Posavja (Brežice) v letu 1987 in sicer v matičnjakih, v proizvodnih nasadih in v drevesnicah na breskvah,

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

marelicah, slivah in češpljah. Po tem letu je Kmetijski inštitut Slovenije začel z imunoserološkim testiranjem (ELISA) preverjati okuženost koščičarjev v pridelavi sadik, v pridelovalnih nasadih, na solitarnih drevesih in pri sadikah koščičarjev iz uvoza.

Poleg češpljeve šarenke smo pri koščičarjih vzporedno spremljali še okuženost z drugimi virusi. Uporabljali smo reagente za določanje virusa pritlikavosti koščičarjev (*Prune dwarf virus* - PDV), virusne obročkaste nekroze koščičarjev (*Prunus necrotic ring spot virus* - PNRSV), jablanovega mozaika (*Apple mosaic virus*) in virusne klorotične listne pegavosti (*Chlorotic leaf spot virus* - CLSV).

Možnosti uporabe ELISA tehnike pri odkrivanju češpljeve šarenke (Roggero, Lorenzi, 1982 in S. Paunović, M. Marković, I. Dulić, 1985) v skorji poganjkov smo pri testiranju koščičarjev uporabljali tudi pri našem delu.

Uporaba ELISA tehnike pri preverjanju okuženosti koščičarjev s češpljevo šarenko, ki jo uvrščamo med najnevarnejša virusna rastlinska obolenja, ne daje dovolj zanesljivih rezultatov, vendar je njena stalna uporaba pri preverjanju zdravstvenega stanja na zastopnost virusov pomembna zaradi svoje enostavnosti in dokaj hitre izvedbe.

2 MATERIAL IN METODE DELA

Poleg vizualnega spremljanja okuženosti koščičarjev s češpljevo šarenko (PPV) v pridelovalnih nasadih, v matičnih nasadih, na solitarnih drevesih, v drevesnicah, smo za ugotavljanje okuženosti koščičarjev (marelice, slive, češplje, breskve, nektarine, mandelj, češnje, višnje), uporabljali za preverjanje okuženosti imunoserološki test (ELISA). Vzorce smo vzporedno testirali na viruse PNRSV, PDV, ACLSV in APMV. Uporabljali smo reagente firme Sanofi, Boehringer ali Bioreba. Rezultate reakcij smo odčitavali na spektrofotometru firme Dynatech pri $A_{405\text{ nm}}$. Pri testiranju smo uporabljali homogenizirane vzorce listov koščičarjev ali enoletnih poganjkov. Sveže vzorce koščičarjev smo testirali skozi vse leto razen v obdobjih, ko so dalj časa prevladoval visoke temperature ali temperature pod ničlo.

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Prva imunoserološka testiranja (ELISA) na vzorcih listov koščičarjev iz Posavja, Primorske in iz območja Ljubljane in Gorenjske v obdobju 1988 do 1990 (preglednica 1) so pokazala, da so koščičarji najbolj okuženi s češpljevo šarenko (PPV) na območju Posavja. Polovica testiranih vzorcev sliv oziroma češpelj je bila s češpljevo šarenko okužena tudi na območju Ljubljane oziroma Gorenjske. V vseh območjih je testiranje pokazalo tudi okuženost tolerantne češpljeve sorte stanley, ki je bila v 60-ih letih predvidena kot nadomestna sorta za domačo češpljo in po naših ocenah tudi pomembnejši izvor širjenja češpljeve šarenke v Sloveniji.

Imunoserološko testiranje (ELISA) vzorcev listov različnih koščičarjev oziroma njihovih sort z znamenji češpljeve šarenke (PPV) oziroma s slabo izraženimi znamenji je v juliju 1994 pokazalo, da vsi okuženi vzorci presegajo prag negativne kontrole (2-kratna vrednost negativne kontrole). Nižje vrednosti odčitkov so bile pri vzorcih z manj izraženimi znamenji (zeleni ringlo, čačanska debeloplodna, stanley). Višje

REZULTATI DOSEDANJIH TESTIRANJ KOŠČIČARJEV NA OKUŽBO... 317

vrednosti odčitkov so bile pri sadikah z močno izraženimi znamenji češpljeve šarenke - Vangenheim, domača češplja (preglednica 2).

Preglednica 1: Imunoserološko določanje (ELISA) češpljeve šarenke (PPV) v triletnem obdobju na različnih sortah sliv in češpelj (*Prunus domestica* L.), breskev (*P. persica* L.) in marelic (*P. armeniaca* L.) v različnih območjih Slovenije (1988-1990).

Table 1: Immunoserological determination (ELISA) of plum pox potyvirus (PPV) on various plum (*Prunus domestica* L.), peach (*P. persica* L.) and apricot (*P. armeniaca* L.) varieties grown in different regions of Slovenia in a three-year period (1988-1990)

P. domestica L.

Območje	Skupno število testiranih vzorcev	% okuženih vzorcev
Posavje	111	68,4
Primorska	201	9,9
Lj.-Gorenjska	33	51,5

P. persica L.

Območje	Skupno število testiranih vzorcev	% okuženih vzorcev
Posavje	92	46,7
Primorska	172	8,7
Lj.-Gorenjska	4	0

P. armeniaca L.

Območje	Skupno število testiranih vzorcev	% okuženih vzorcev
Posavje	147	63,3
Primorska	85	14,1
Lj.-Gorenjska	42	19,0

Preglednica 2: Imunoserološko testiranje (ELISA) na listih vzorcev koščičarjev z znamenji češpljeve šarenke (PPV), v juliju 1994

Table 2: Immunoserological testing (ELISA) on leaves of stone fruit samples showing signs of plum pox potyvirus (PPV) in July 1994

Testirani vzorec	Zastopanost znamenj PPV	Povprečne vrednosti odčitkov A _{405 nm} treh ponovitev
Breskev-drevo (Armovo selo) - 1	+	0,225
" " - 2	+	0,566
" " - 3	+	0,191
" " - 4	+	0,304
" " - 5	+	0,627
Mirabolana-drevo (Škofja Loka)	+	0,329
Zeleni ringlo-drevo (Ljubljana)	+ ?	0,271
Vangenheim-sadika (Dorfarji)	+	0,720
Čačanska debeloplodna-drevo (Ljubljana)	+ ?	0,305
Stanley-drevo (Ljubljana)	+ ?	0,213
Domača češplja-sadika (Trzin)	+	1,316
Ogrska-drevo (Ljubljana)	+	0,656
Negativna kontrola -	-	0,095

V obdobju mirovanja smo v letih 1994 in 1995 večkrat testirali enoletne poganjke dveh s češpljevo šarenko (PPV) okuženih dreves marelice, sorte ogrska. Povprečne absorpcijske vrednosti niso pri vseh testiranjih presegle praga (2 x vrednosti negativne kontrole), kar kaže na lokalizacijo in spremembe v aktivnosti virusa.

Preglednica 3: Povprečne absorpcijske vrednosti ($A_{405 \text{ nm}}$) pri testiranju enoletnih poganjkov dveh, s češpljevo šarenko (PPV) okuženih dreves marelic (ogrska, Ljubljana), v zimskem mirovanju v letu 1994 in 1995 (povprečje treh ponovitev)

Table 3: Average absorption values ($A_{405 \text{ nm}}$) in the testing of one-year shoots of apricot trees (Ogrska, Ljubljana) infected with plum pox potyvirus (PPV) during dormancy period in 1994 and 1995 (average of 3 replicates)

Datum testiranja	Oznaka vzorca - drevesa (ogrska)	Povprečni odčitki pri $A_{405 \text{ nm}}$	Vrednost negativne kontrole
10.2.1994	1	0,168	0,090
	2	0,248	
4.3.1994	1	0,383	0,072
	2	0,496	
16.3.1994	1	0,529	0,094
	2	0,832	
9.11.1994	1	0,245	0,085
	2	0,156	
12.12.1994	1	0,796	0,109
	2	0,607	
3.1.1995	1	0,128	0,087
	2	0,427	
17.2.1995	1	0,142	0,104
	2	0,371	
14.3.1995	1	0,216	0,070
	2	0,354	

Odčitki absorpcije imunoserološkega testiranja (ELISA) enoletnih poganjkov z dveh dreves marelic (ogrska) in njihovih podlag v aprilu 1995 kažejo na razliko v koncentraciji virusa v drevesu marelice in v podlagi. Višje vrednosti odčitkov so bile v obeh vzorcih dreves marelic, nižje pa pri podlagah. (preglednica 4)

Preglednica 4: Imunoserološko testiranje (ELISA) poganjkov dveh, s češpljevo šarenko (PPV) okuženih marelic (ogrska, Ljubljana) in njihovih podlag (Mirabolana) - povprečje 5 ponovitev, 19. aprila 1995.

Table 4: Immunoserological testing (ELISA) of shoots from two apricots (Ogrska, Ljubljana) infected with plum pox potyvirus (PPV) and their rootstocks (Mirabolana) - average of 5 replicates, 19 April 1995

Vzorec	drevo/podlaga	Povprečna vrednost $A_{405 \text{ nm}}$
1. ogrska	drevo	0,622
1. Mirabolana	podlaga	0,492
2. ogrska	drevo	0,770
2. Mirabolana	podlaga	0,691
3. Negativna kontrola		0,082

V obdobju 1987 do 1997 smo z imunoserološkim testiranjem vzorcev koščičarjev odvzetih na matičnih drevesih, v pridelovalnih nasadih, v drevesnicah, pri uvoženih sadikah koščičarjev in pri solitarnih drevesih, preverjali okuženost z virusi PPV, PNRSV, PDV, ApMV in ACLSV. Na slivah, češpljah in marelicah smo doslej ugotovili z uporabo ELISA tehnike vse omenjene viruse. Na breskvah in nektarinah smo ugotovili zastopanost virusa PPV, CLSV, PNRSV in PDV. Češnje in višnje so bile v nekaterih primerih okužene z virusom PDV in PNRSV. Pri mandlju smo doslej ugotovili le virus PDV (preglednica 5).

Preglednica 5: Dosednja določitev virusov koščičarjev v Sloveniji z imunoserološkim testiranjem (ELISA) v obdobju 1987 do 1997 na vzorcih odvzetih na matičnih drevesih, v pridelovalnih nasadih, v drevesnicah in na solitarnih drevesih)

Table 5: Determination of stone fruit viruses in Slovenia using immunoserological tests (ELISA) in the 1987-1997 period, on samples taken from parent trees in production plantations, nurseries and solitary trees

Koščičarji	PPV	CLSV	PNRSV	PDV	ApMV
slive, češplje	+	+	+	+	+
marelice	+	+	+	+	+
breskve	+	+	+	+	
nektarine	+	+	+	+	
češnje			+	+	
višnje			+	+	
mandelj				+	

4 SKLEPI

Imunoserološko testiranje (ELISA) omogoča hitro preverjanje okuženosti koščičarjev s češpljevo šarenko (PPV), vendar ne dovolj zanesljivo. Vizualno pregledovanje in večkratno testiranje istih vzorcev koščičarjev, v različnih obdobjih, prispeva k mozaiku poznavanja epidemiologije tega virusa v Sloveniji. Preverjanje širjenja češpljeve šarenke (*Plum pox potyvirus*) in spremljanje razširjenosti drugih skupin virusov na koščičarjih (ilar virusi - PNRSV, PDV, ApMV in closterovirusa - ACLSV) je prispevek k poznavanju razširjenosti posameznih virusov koščičarjev v Sloveniji.

- Uporaba imunoserološkega testiranja (ELISA) je tudi v Sloveniji možna v različnih letnih obdobjih, vendar zaradi znane lokalizacije in različne koncentracije virusa PPV v rastlini (izrazite razlike so pri marelicah) zahteva uporabo tudi drugih načinov preverjanja.
- Triletno testiranje vzorcev PPV v obdobju 1988 do 1990 kaže, da je PPV v Sloveniji najbolj razširjena v Posavju, kjer je bilo na slivah in češpljah okuženih 68,4 % vzorcev, na marelicah 63,3 % in breskvah 46,7 %.
- Z imunoserološkim testiranjem (ELISA) smo doslej dokazali v Sloveniji na koščičarjih zastopanost virusov PPV, CLSV, PNRSV, PDV in ApMV.

- Pri mandlju smo dokazali PDV, pri višnjah in češnjah PNRSV in PDV, pri nektarinah PPV, CLSV, PNRSV in PDV, pri slivah in marelicah pa vseh pet virusov.

5 LITERATURA

- Jordović M., 1990: Iskustva u prevenciji širenja šarke u plantažama šljive.- Zaštita bilja, vol 41(1), št. 191: 71-80
- Roggero P., Lorenzi, R., 1985: Rilevamento del virus Sharka in albicoco mediante ELISA.- Informatore fitopatologico, št. 5: 33-35
- Paunović S., Ranković M., Dulić, I., 1988: Dalja ispitivanja efikasnosti ELISA tehnike u otkrivanju virusa šarke u kajsiji.- Zaštita bilja, vol. 39 (3), št. 185: 275-278