

VIRUS ŽUTE KRŽLJAVOSTI CRVENOG LUKA
U JUGOSLAVIJI

With Summary in English

ZLATA ŠTEFANAC

(Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb)

Primljeno, 1. 2. 1977.

Uvod

Donedavno se u Jugoslaviji nisu istraživale virusne bolesti vrsta *Allium*, iako je proizvodnja najvažnijih kultiviranih vrsta, tj. crvenog luka (*Allium cepa* L.), češnjaka (*A. sativum* L.) i poriluka (*A. porrum* L.), dosta velika. Prva kratka priopćenja o virozama tih vrsta objavljena su tek 1976. g. (Štefanac 1976, Šutić i Tošić 1976, Tošić i Šutić 1976). Budući da se radi o važnim povrtarskim i farmaceutskim biljkama na kojima virusi izazivaju znatne ekonomski štete, započeti rad je koristan. Osim toga uzročnici najvažnijih virusnih bolesti luka, tj. žute kržlavosti crvenog luka (onion yellow dwarf), žute prugavosti poriluka (leek yellow stripe) te mozaika češnjaka, nisu dovoljno proučeni niti što se tiče međusobnog odnosa niti s obzirom na druga svojstva (usp. Bos 1976), pa se u rješavanju tih problema mogu očekivati rezultati.

Virusna bolest žuta kržlavost crvenog luka poznata je već dugo u svijetu. Zapažena je još 1927. g. na crvenom luku u državi Iowa, SAD (usp. Smith 1972) te je dosad opisana u većem broju zemalja. Tipični simptomi bolesti jesu jače ili slabije kržlavljenje, žuta ispruganost, koja se osobito ističe u donjoj polovici cjevastog lista, te različiti stupnjevi deformacije lista (Smith 1972). Napadnute biljke daju mnogo manji urod od zdravih pri proizvodnji glavica luka i u proizvodnji sjemena i lučica. Budući da zaraze često dostižu velike razmjere (50% zaraženih primjeraka pa i više), gubici su veliki. Prema podacima koje navodi Härdtl (1972) gubici u sjemenu na pojedinim zaraženim plohamama u Njemačkoj iznosili su do 70%. Kod zaraženih lukovica veće su štete i u

toku uskladištavanja negoli kod zdravih, jer klijaju ranije i lakše se kvare.

Virus žute kržljavosti crvenog luka (VŽKCL; onion yellow dwarf virus) pripada virusima iz skupine Y-virusa krumpira. Eksperimentalno se prenosi sokom, a prirodni vektori su mu mnoge vrste lisnih ušiju. Izgleda da se ne prenosi sjemenom crvenog luka, iako je Härdtl (1972) na osnovu zapažanja na otvorenom zabilježio prenošenje sjemenom sa 6—29% kod cv. »Stuttgarter Riesen«. Osim crvenog luka zaražava kozjak (*Allium ascalonicum* L.), na kojem također uzrokuje zнатне gubitke. Budući da se kozjak u praksi razmnožava vegetativno, često je napadnut virusom i predstavlja izvor s kojeg lisne uši prenose virozu na crveni luk (Stuart 1947, Chamberlain i Baylis 1948).

Sимптоме жуте kržljavости запазила sam први пут почетком 1976. на неколико примјерака crvenog luka koji je potjecao iz Turopolja, ali nemam točnih podataka o varijetetu. Kasnije sam уstanovila да naš crveni luk prilično često pokazuje simptome žute kržljavosti. Da bi se sa sigurnošću уstanovio uzročnik bolesti, izvršeni su inokulacijski pokusi u stakleniku i analizirana neka druga svojstva virusa. U radu iznosim podatke o identifikaciji virusa te zapažanja i podatke o njegovoj raširenosti u okolini Zagreba i nekim drugim područjima Jugoslavije.

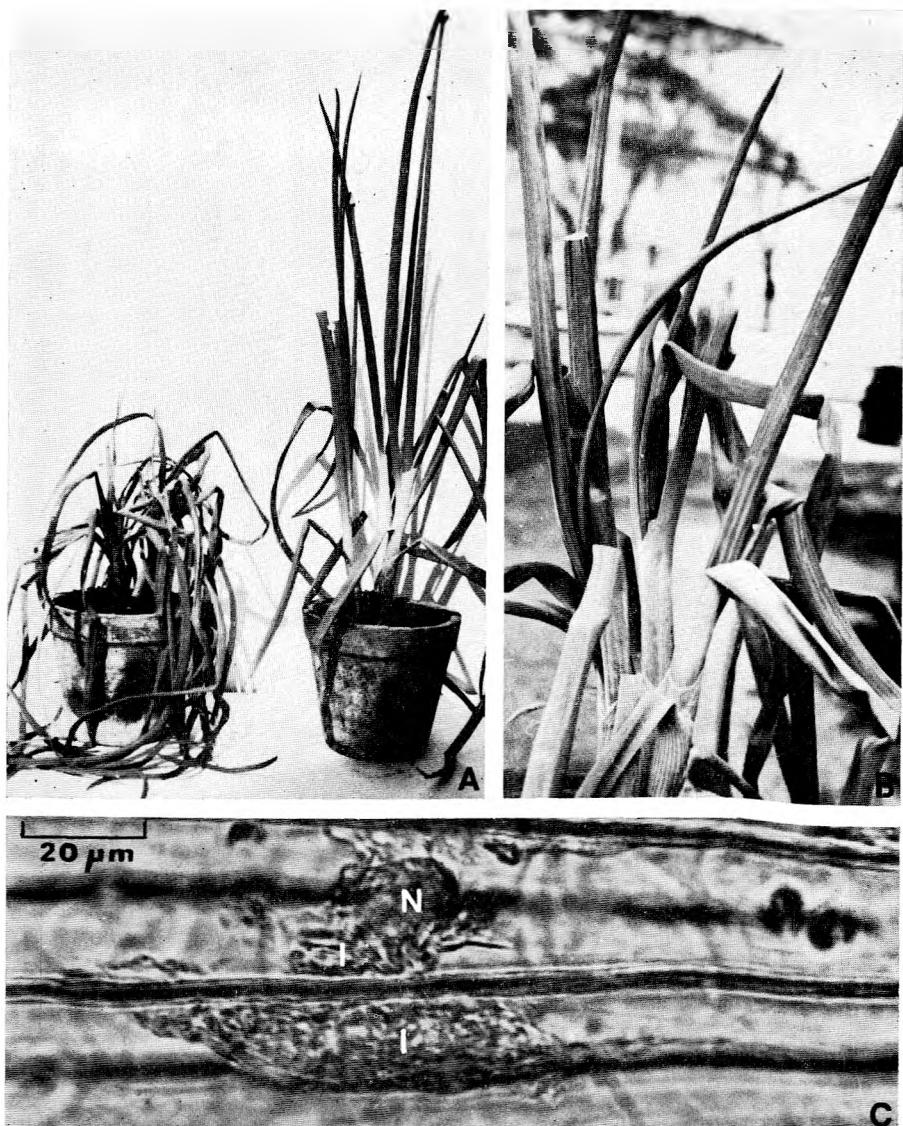
Materijal i metode

Točnije sam ispitala izolat IT koji potječe iz crvenog luka iz Turopolja. Izvorna biljka pokazivala je tipične simptome žute kržljavosti. Na crveni luk i poriluk virus sam prenosila mehaničkom inokulacijom koja se sastojala od jačeg trljanja bazalnih dijelova listova prstima namočenim u infektivni sok i zatim karborundum (Louie i Lorbeer 1966). Za dobivanje inokuluma dodavala sam listovima prije gnieženja 0,06 M fosfatni pufer pH 7,1 koji je sadržavao 0,1% tioglikolne kiseline. Za mehaničko prenošenje na crveni luk koristila sam se biljkama uzgojenim iz glavica luka koje su potjecale iz okolice Sombora. Biljke su inokulirane kada su listovi bili dugi 7—10 cm. Za prenošenje virusa na poriluk (»Carentan«) upotrebljavala sam biljke uzgojene u stakleniku iz sjemena. Prije upotrebe ispitala sam tako uzgojen poriluk inokulacijom na *Chenopodium quinoa* Willd. kako bih bila potpuno sigurna da je zdrav, tj. da ne sadrži virus koji uzrokuje žutu prugavost poriluka (Štefanac 1977).

Pokuse prenošenja lisnim ušima vršila sam na neperzistentan način s pomoću zelenе breskvine lisne uši (*Myzus persicae* Sulz.); nakon 3—4 sata gladovanja uši su se hranile 1—2 min. na zaraženoj biljci, a zatim su bile prenesene na zdrave biljke s kojih su uklonjene idući dan. Crveni luk kojim sam se koristila za ove pokuse uzgojen je iz lučica. Lučice su također potjecale iz okolice Sombora.

Temperature u pokusnom stakleniku kretale su se između 10—28°C, ali su najčešće bile između 16—24°C.

Preparati virusnih čestica priređeni su metodom uranjanja u 2% fosfornovolframsku kiselinu.



Sl. 1. Virus žute kržljavosti crvenog luka na vrsti *Allium cepa* L. A. Lijevo, tipični simptomi uznapredovale zaraze na biljci uzgojenoj iz prirodnog zaražene lukovice; desno, zdrava biljka. B. Žute pruge na listovima eksperimentalno zaraženog crvenog luka. C. Stanice epiderme lista. Virusne uklopine (I), jezgra (N).

Fig. 1. Onion yellow dwarf virus on *Allium cepa* L. A. Left, typical symptoms of the advanced infection in plant grown from naturally infected bulb; right, healthy plant. B. Yellow streaks in leaves of experimentally infected onion. C. Leaf epidermal cells. Inclusion bodies (I), nucleus (N).

Rezultati i diskusija

Simptomi u stakleniku na prirodno zaraženom crvenom luku

U toku istraživanja učestalosti VŽKCL na uzorcima luka i lučica mogla sam u stakleniku pratiti razvoj simptoma bolesti na biljkama koje su rasle iz prirodno zaraženih lukovica. Prvi znaci bolesti bile su kratke žute crtice koje su se javljale pri bazi prvog i nekoliko slijedećih listova ili nešto kasnije u toku razvoja biljke. Tokom rasta na žučkastoželenim listovima javljale su se duže žute pruge. S vremenom su čitavi listovi postajali žuti, nabirali se, spljošnjavali i prelamali prema dolje (sl. 1 A). Zastoj u rastu i kržljavost bili su očiti. Zaražene biljke evale su nešto kasnije od zdravih. Cvjetne stapke većinom su bile isprugane žutim linijama, savijene i deformirane.

Prenošenje virusa na pokušne biljke

Mehaničko prenošenje izolata IT s izvorne biljke na zdrave primjerke crvenog luka bilo je uspješno, a nastali simptomi karakteristični za VŽKCL (sl. 1 B), tj. jednaki kao na izvornoj bolesnoj biljci. Prvi simptomi javljali su se već tjedan poslije inokulacije. Kontrolne biljke nisu pokazivale znakove zaraze. Mehaničkom inokulacijom izolat IT nije prelazio na poriluk, a simptomi se nisu javili niti na inokuliranim primjercima vrsta *Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn., *Ch. foetidum* Schrad., *Ch. murale* L., *Ch. quinoa* Willd. i *Nicotiana megalosiphon* Heurck et Muell. Drugi izolati iz crvenog luka sa simptomima žute kržljavosti, koje sam ispitala prenošenjem na pokušne biljke, vladali su se jednako kao izolat IT, tj. prelazili su samo na crveni luk. Navodim da se poriluk češće spominje kao domaćin VŽKCL, ali postoje također podaci o teškoćama ili nemogućnosti prenošenja izolata VŽKCL na poriluk (H a v r á n e k 1973. B o s 1975). Ostale pokušne vrste koje su ostale zdrave nisu domaćini VŽKCL, ali se mogu zaraziti nekim drugim virusima vrsta *Allium* kao i nepovirusima, koji su u više navrata bili utvrđeni u lukovima (G r a i c h e n 1975). Prema tome istraženi materijal sadržavao je samo VŽKCL.

Osim mehanički, izolat IT prenesen je na crveni luk i s pomoću lisne uši *Myzus persicae*, i to na neperzistentan način. U pokušu je na zdrave biljike stavljano po 10 lisnih uši koje su se prethodno hranile na zaraženoj biljci. Simptomi su se razvili na 11 od 12 pokušnih primjeraka. Dvanaest kontrolnih primjeraka, na kojima su se hranile zdrave lisne uši, nije pokazalo simptome bolesti niti 40 dana nakon postavljenja pokuša.

Izolat IT nije prenesen na poriluk niti s pomoću *Myzus persicae*. U pokušu prenošenja na poriluk na svaku od 10 zdravih biljaka stavljeno je po 20 zaraženih uši. Ocjena zdravstvenog stanja poriluka bila je izvršena vizuelnim promatranjem i reinfečijskim prenošenjem na crveni luk 40 dana nakon postavljanja pokuša.

Fizička svojstva

Pri određivanju fizičkih svojstava pojedini uzorci bili su inokulirani na po 10 primjeraka crvenog luka. Po 10 zdravih primjeraka ostavljano je za kontrolu.

Sokom razrijedjenim s pomoću pufera za inokulaciju 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1 000 i 1 : 10 000 dobilo se 2, 1, 1 i 0 zaraženih biljaka. Sok koji je bio razrijeden destiliranom vodom 1 : 5 i zagrijan na 40, 50, 60 i 70°C dao je 3, 3, 0 i 0 zaraženih biljaka. Prilikom određivanja postojanosti virusa pri sobnoj temperaturi sok je bio razrijeden puferom za inokulaciju 1 : 10.

Nakon stajanja od 1, 2, 3, 4, 5 i 6 dana prouzročio je zarazu na 4, 2, 2, 3, 1 i 0 biljaka od po 10 inokuliranih. U svim pokusima kontrolni primjerici ostali su zdravi.

Svjetlosna mikroskopija

U prirodno i eksperimentalno zaraženim primjercima crvenog luka mogle su se vidjeti u epidermskim stanicama listova velike virusne uklopine sastavljene od mnogobrojnih dužih ili kraćih većinom nepravilno razbacanih iglica (sl. 1 C). Takve uklopine svojstvene su za VŽKCL (usp. Bos 1972, Edwardson 1974).

Oblik i veličina čestice

U preparatima priređenim metodom uranjanja zapažale su se tu i tamo produžene savitljive virusne čestice koje su bile većinom bočno agregirane. Mjerenjem manjeg broja čestica dobivena je vrijednost od 780 nm, što se podudara s podacima za VŽKCL (Edwardson 1974).

Podaci o raširenosti virusa

Kako bi se dobila približna slika o raširenosti VŽKCL na crvenom luku kod nas, ispitala sam nekoliko uzoraka lukovica koje su potjecale sa tri od većeg broja područja gdje se uzgaja ta kultura. Napominjem da nemam točnih podataka o varijetetima istraženog materijala osim za lučice s otoka Raba koje su pripadale rapskoj populaciji. Radi ispitivanja lukovice su sađene pojedinačno u lonce i tokom razvoja praćena je pojava simptoma. Dobiveni rezultati navedeni su u tablici 1. Podaci uneseni u tablicu vjerojatno ne odražavaju u cijelosti zdravstveno stanje ispitnog materijala, jer je poznato da crveni luk može biti zaražen sa VŽKCL latentno, tj. bez pojave vanjskih simptoma, osobito u prvoj i drugoj godini razvoja (Härdtl 1972). Prema tome ovim testiranjem nisu utvrđene moguće latentne infekcije.

Tablica 1. Pojava VŽKCL u uzorcima crvenog luka (*Allium cepa* L.)

Table 1. Occurrence of OYDV in samples of onion

Porijeklo uzorka Provenance of sample	Razvojni stadij* Developmental stage*	Broj zaraženih / broj ispitanih primjeraka Number of plants diseased/tested
Turopolje	G	2/5
Turopolje	G	8/20
Sombor	G	2/154
Sombor	G	0/60
Sombor	G	1/170
Sombor	G	0/85
Sombor	L	0/140
Rab	L	2/230
Rab	L	1/98

*G — glavice luka (onion bulbs), L — lučice (onion sets).

Na osnovi ovih istraživanja izgleda da je VŽKCL vjerojatno prisutan u svim područjima gdje se kod nas uzgaja crveni luk jer smo ga našli i u materijalima iz Turopolja, okolice Sombora i otoka Raba. Dobiveni podaci međutim upućuju na to da postoje i znatne razlike u jačini zaraze crvenog luka u različitim krajevima. Da je virus veoma raširen u okolici Zagreba, pokazao je i pregled nekoliko manjih parcela zasađenih lukom srebrencom u mjestu Botincu u studenom 1976. Na gotovo svim primjerima bili su vidljivi simptomi VŽKCL. Navodim da se simptomi žute kržljavosti mogu također često vidjeti na mladom luku koji se na zagrebačke tržnice doprema krajem zime i u rano proljeće iz okolice Zagreba i drugih mjesta. U okolici Zagreba može se, doduše, naći i potpuno zdravih nasada crvenog luka kao što je bila npr. velika površina zasađena lukom srebrencom u vrtlarskom kombinatu »Žitnjak« u Brezovici, koji smo nasad pregledali u ožujku 1977. Nasad u Brezovici bio je veoma udaljen od drugih nasada luka, pa je bila isključena mogućnost unošenja i širenja virusa vektorima.

U toku rada ustanovila sam također zarazu luka kozjaka (*A. ascalonicum* L.) s VŽKCL. Gotovo polovina primjeraka kozjaka, kojim je bila zasađena manja ploha vrta u Slunju, imala je žute i slabo razvijene listove. S primjerka s izrazitim simptomima izvršen je prijenos na pokusne biljke u stakleniku. Na crvenom luku koji je bio inokuliran mehanički ili lisnim ušima razvili su se simptomi svojstveni za VŽKCL. Kozjak je bio zaražen još i nekim drugim virusom ili virusima, najvjerojatnije uzročnikom žute prugavosti poriluka ili (i) još nedovoljno istraženim virusom koji je veoma raširen kod nas na češnjaku (Štefanac 1976), budući da su se na inokuliranim listovima *Ch. quinoa* razvijale lezije kakve stvaraju spomenuti virusi.

Mjere suzbijanja

Prve uspješne mjere u suzbijanju viroze crvenog luka uveo je Guterman 1928. (usp. Härdtl 1972) koji preporučuje uništavanje zaostalih lukovica u polju koje predstavljaju izvor virusa. U svrhu suzbijanja te bolesti danas se provodi niz kontrolnih mjera koje uključuju proizvodnju sjemena i zdravih lučica u područjima gdje bolest nije česta, provjeravanje zdravstvenog stanja sadnog materijala i nasada i uklanjanje zaraženih biljaka. U blizini nasada crvenog luka također se ne preporučuje uzgoj kozjaka koji je redovito izvor virusa. U svrhu suzbijanja viroze u literaturi se navodi još niz drugih mjera. Tako je prema započetima Rusta (1952) luk zaražen u mnogo manjoj mjeri ako se sadi u jesen negoli u proljeće. Uzrok tome vjerojatno je višestruk. Tako se npr. može u spremištima tokom zime povisiti temperatura pa lučice proklijaju i eventualno prisutne uši mogu proširiti zarazu već u samom skladištu.

Zaključak

Utvrđeno je da je u našoj zemlji raširen na crvenom luku (*Allium cepa* L.) i kozjaku (*A. ascalonicum* L.) uzročnik veoma štetne bolesti tih vrsta, virus žute kržljavosti crvenog luka (VŽKCL). Pregled većeg broja naklijalih lukovica crvenog luka nasumice uzetih uzoraka iz Turopolja, okolice Sombora i otoka Raba, koji su krajevi poznati po uzgoju crvenog luka, pokazuje da je virus prisutan u svim ispitivanim područjima, ali da

postoje znatne razlike u obimu zaraze (usp. tablicu 1). Na nekim pre-gledanim parcelama u okolini Zagreba simptome žute kržljavosti poka-zivalo je preko 50% biljaka.

Mehaničkom inokulacijom i lisnim ušima VŽKCL lako se prenosio iz crvenog luka na crveni luk, ali se nije mogao prenijeti iz crvenog luka na poriluk (*A. porrum* L.).

Navedene su i mjere kojima se koristimo u suzbijanju bolesti.

*

Najljepše zahvaljujem dr N. Ljubešiću (Institut »Ruđer Bošković«, Zagreb) za elektronskomikroskopski pregled materijala te prof. P. Pavlek (Poljoprivredni fakultet, Zagreb) za ljubazno ustupljene uzorke lučica rapske populacije.

Literatura

- Bos, L., 1975: Yellow stripe of leek (*Allium porrum*). II Intern. Conf. Vegetable Virus Res., Avignon-Montfavet 1975 (Abstracts), pp. 27.
- Bos, L., 1976: Onion yellow dwarf virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses 158.
- Chamberlain, E. E., G. T. S. Baylis, 1948: Onion yellow dwarf. Successful eradication. New Zealand J. Sci. Tech. A29, 300—301.
- Edwardson, J. R., 1974: Some properties of the potato virus Y-group. Florida Agricultural Experiment Stations Monograph Series No. 4.
- Graichen, K., 1975: Allium-Arten als natürliche Wirte nematodenübertragbarer Viren. Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz, Berlin 11, 399—403.
- Härdtl, H., 1972: Die Übertragung der Zwiebelgelbstreifigkeit durch den Samen. Z. PflKrankh. PflSchutz 79, 694—701.
- Havránek, P., 1973: Occurrence of viruses in the genus *Allium* and virus-free clones of common garlic (*Allium sativum*). Plant Virology, Proc. 7th Conf. Czechosl. Plant Virologists, High Tatras 1971, 133—138.
- Louie, R., J. W. Lorbeer, 1966: Mechanical transmission of onion yellow dwarf virus. Phytopathology 56, 1020—1023.
- Rust, G., 1952: Verbesserung der Lagerfähigkeit von Konsumzwiebeln durch Änderung der Umweltbedingungen bei Samenträgern während der Entwicklung. Dt. Landwirtsch. 6, 29—47.
- Smith, K. M., 1972: A textbook of plant virus diseases. Longman, London.
- Stuart, G. M., 1947: The Shallot. Scot. J. Agric. 27, 92—95.
- Štefanac, Z., 1976: Virusi na vrstama roda *Allium* u Jugoslaviji. Radovi 3. kongresa mikrobiologa Jugoslavije, Bled 1976, str. 182—183. Partizanska knjiga, Ljubljana.
- Štefanac, Z., 1977: High incidence of yellow stripe of leek in Yugoslavia. Plant Virology, Proc. 8th Conf. Czechosl. Plant Virologists, Bratislava 1976 (u štampi).
- Šutić, D., M. Tošić, 1976: Virozna infekcija belog luka u našoj zemlji. Radovi 3. kongresa mikrobiologa Jugoslavije, Bled 1976, str. 184—185. Partizanska knjiga, Ljubljana.
- Tošić, M., D. Šutić, 1976: Prouzrokovac žute kržljavosti crnog luka. Radovi 3. kongresa mikrobiologa Jugoslavije, Bled 1976, str. 190—191. Partizanska knjiga, Ljubljana.

S U M M A R Y

ONION YELLOW DWARF VIRUS IN YUGOSLAVIA

Zlata Štefanac

(Institute of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb)

Onion yellow dwarf virus (OYDV), the cause of a harmful disease of onions (*Allium cepa* L.) and shallots (*A. ascalonicum* L.) was found and identified on these species in Yugoslavia. The survey of samples of onion bulbs and onion sets from Turopolje, Sombor (Bačka) and the island of Rab on the presence of symptoms during growth has shown that OYDV occurs in all these onion growing regions but that differences in the rate of infection are considerable (cf. Table 1). In some inspected onion plots in the vicinity of Zagreb more than 50% of the plants were infected.

By mechanical inoculation and by *Myzus persicae* (Sulz.) OYDV was easily transmitted from onion to onion but it could not be transmitted from onion to leek (*A. porrum* L.).

The paper includes information concerning control of the disease.

Doc. dr Zlata Štefanac
Botanički zavod
Prirodoslovno-matematički fakultet
Marulićev trg 20
Yu 41000 Zagreb (Jugoslavija)