

Dr Milan Panjan,
Institut za zaštitu bilja Zagreb

MIKOPLAZMAMA SLIČNI ORGANIZMI KAO UZROČNICI BILJNIH BOLESTI

Donedavna se smatralo da kod biljaka mogu uzrokovati bolesti samo gljivice, bakterije i virusi. Međutim 1967. godine Japanci (Doi i dr.) publiciraju rad u kojem navode da su kod slijedećih bolesti biljaka — zakržljalost dudu, »vještčina metla« krumpira, žutica astre i »vještčina metla« kod Paulownie biljke, našli mikroorganizme koji naliče mikoplazmama ili PLT organizmima (= Psittacosis, Lymphogranuloma, Trachoma organizmi = Bedsonia bolesti). Danas je već poznato oko 50 bolesti kod kojih su utvrđeni ovi uzročnici (Hull 1972).

U nas je o mikoplazmama kod biljaka pisala Šarić (1969), a Panjan i dr. (1970) opisuju mikoplazmama slične organizme koje su pronašli kod rajčice zaražene žuticom krumpira (Stolbur krumpira) u floemskim dijelovima zaražene biljke.

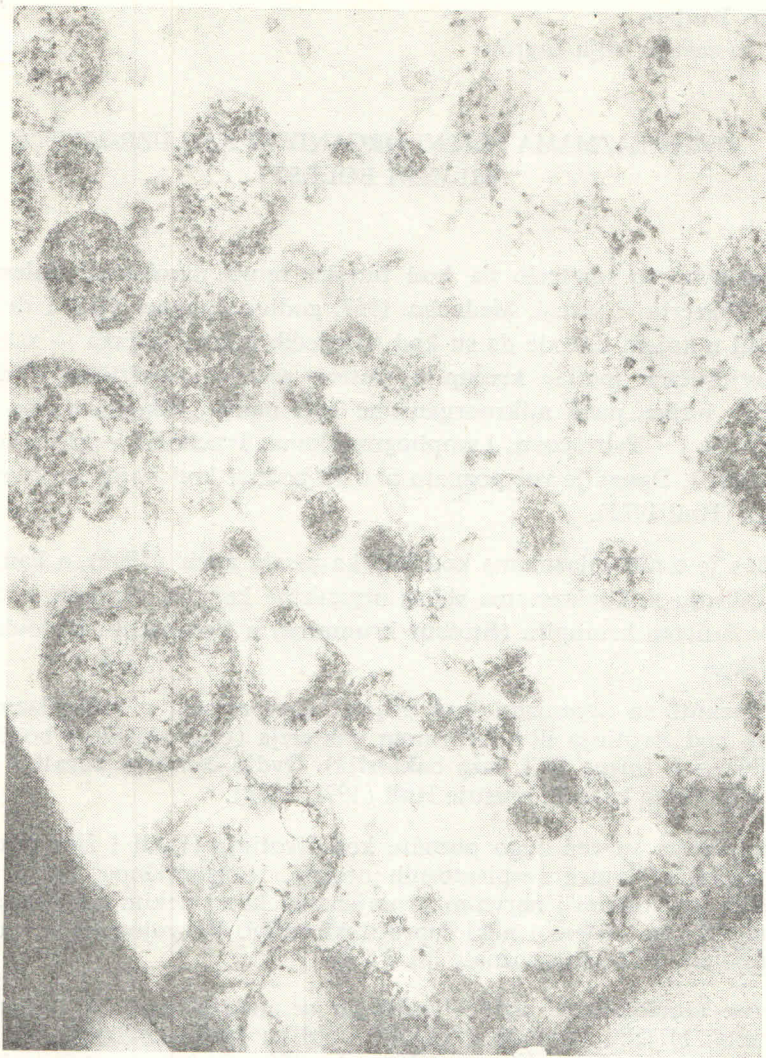
Spomenuti su organizmi kod biljaka komparirani s mikoplazmama ili Bedsonia kod životinja ili s L-formom bakterija (engleski large bodies = široka tijela = L forme ili L faza bakterija). Ovdje ćemo se ukratko osvrnuti na ove organizme kako ih opisuje Hull (1971, 1972).

Mikoplazme su već dugo poznate kod životinja (ljudi i životinje), a napadaju epitelne stanice respiratornih organa, urogenitalnog trakta i u vezi su s nekim artritičnim i nervnim promjenama kao i nekim tumorima. Treba spomenuti da su nađeni i neki saprofitski oblici. Razvojem elektronske mikroskopije one su bolje upoznate (sl. 1 i 2).

Prema morfološkom obliku razlikuju se mikoplazme od većine drugih organizama: 1) jako variraju u veličini i obliku (pleomorfizam), pa tako varira od malog sferičnog oblika veličine oko 100 nm (nanometar = 10^{-9} m = 1 milimikron) do velikog iregularnog tijela veličine 1 mikron ili više u promjeru, koje tijelo sadrži jednu ili više elementarnih čestica. Ima ih i produženog oblika.

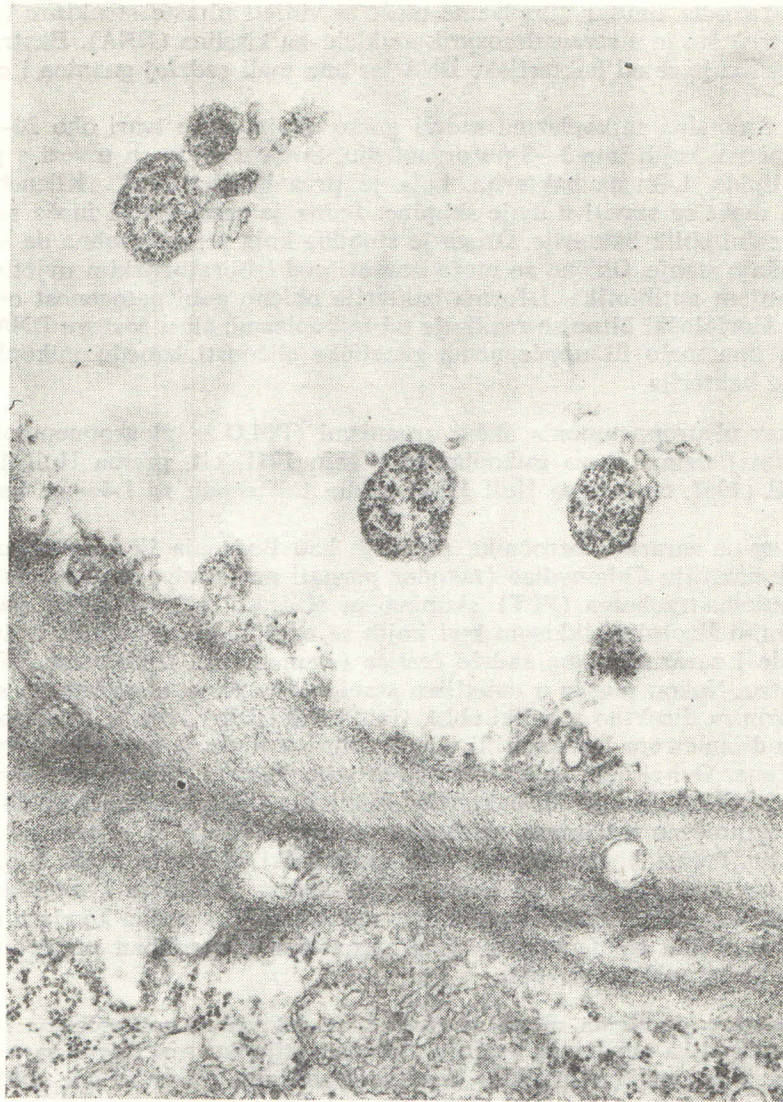
2) Većina mikoplazma opkoljena je membranom debljine 10 nm. Neki speciji mikoplazme imaju dobro izraženu površinu koja naliči nekim pripadnicima mixovirus skupine (kao influenza), dok drugi speciji imaju glatku membranu.

3) Unutar citoplazme nalaze se ribosomi koji su slične veličine (14 nm dijametar) onima kod bakterija. U ribosomima se vrši sinteza proteina, a zrnatog su oblika.



*Sl. 1. Mikoplazmama slični organizmi-pleomorfizam —
(Elektronmikroskopska snimka iz stolbura krumpira 1:50.000)*

Foto: M. Wrischer — Ruđer Bošković



*Sl. 2. Mikoplazmama slični organizmi (uveć. 1:40.000)
(Elektronmikroskopska snimka iz stolbura krumpira)*

Foto: prof. M. Wrischer — Ruđer Bošković

4) Također unutar citoplazme može se vidjeti nitaste strukture (3 nm u dijimetru) što je u stvari desoxyribonukleinska kiselina (DNA). Ekstrahirana DNA razlikuje se od bakterijske DNA jer ima mali sadržaj guanina i citosina.

5) Animalna mikoplazma sadrži gusto obojadicane tvari oko 20—60 nm u dijimetru, kojih ima 3—5 po organizmu. Smatra se da su u vezi s produkcijom lipida. L-forma bakterija, koja je prva izolirana od Klienebergera (1935), može se staviti u dvije skupine. Jedna je nestabilna i može se vratiti u originalni oblik bakterije. Druga je stabilna koja nije sposobna da se vraća u prijašnje stanje. Obično se može izazvati pod laboratorijskim uvjetima npr. djelovanjem antibiotika. L-forma bakterija obično gubi patogenost originalne forme. Morfološki bitno se razlikuje od mikoplazmi, ali u sastavu DNA i DNA—RNA ima malo ili uopće nema genetičke sličnosti između mikoplazme i L-forme bakterija.

Izraz pleuropneumonia slični organizmi (PPLO = pleuropneumonia like organisms) uzima se za mikoplazme (Sabin 1941, cit. prema Hull 1971), a Edward (1967, cit. prema Hull 1971) uzima taj termin za L-forme bakterija.

Skupina zaraznih uzročnika poznatih kao Bedsonia ili kako se u novije vrijeme nazivaju Chlamydiae (također poznati pod nazivom psitacosis-lymphogranuloma-trachoma (PLT) skupina su obligatni intracelularni paraziti s regularnim životnim ciklusom kod kojih se organizmi pojavljuju u dva oblika. Male i zarazne forme sadrže čestice (elementarna tijela) oko 300 nm u dijimetru. Nakon ulaska u osjetljivu stanicu domaćina, elementarno se tijelo transformira direktno u veliki oblik (inicijalno tijelo) koje je ovoidno ili sferično s dijametrom 1 mikron ili više. Inicijalno tijelo je omeđeno s dva sloja membrana. Ovi slojevi naliče staničnim stijenkama i citoplazmatskim membranama rickettsia i nekih bakterija. Inicijalno tijelo razmnaža se fisijom unutar ograničene zatvorene, mjehuriću slične inkluzije u citoplazmi stanice domaćina. Prema koncu ciklusa rasta morfološki se čestica vraća k onoj formi elementarnog tijela, kod kojeg jezgra sadrži nuklearni i citoplazmatski materijal zajedno s citoplazmatskom membranom u nešto kondenziranijem stanju. U obliku elementarnog tijela organizam je sposoban preživjeti izvan stanice za ograničeno vrijeme.

Bedsonia uzročnici mogu se razlikovati od većina mikoplazma i drugih PPLO uzročnika što imaju krajnju staničnu stijenku senzitivnu na penicilin, imaju jednostavni životni ciklus, a nemaju značajne pleomorfične oblike i što su obligatni celularni paraziti koji zavise od domaćina.

Prema Maramoroschu i dr. (1970) mikoplazme se sada smatraju kao članovi odijeljene klase mikroorganizama koji sadrže kiseline DNA i RNA, a nemaju staničnu stijenku već su opkoljeni s jako elastičnom membranom koja im omogućava pleomorfični izgled.

Što se tiče klasifikacije red Mycoplasmatales spada u razred Mollicutes ali odijeljeno od razreda Schizomycetes. Prema Hullu (1972) postoje dva roda mikoplazma. Rod Mycoplasma sadrži više od 30 speciesa koji za svoj rast trebaju kolesterol dok Rod Acholeplasma ne trebaju za rast kolesterol.

RAZMNAŽANJE MIKOPLAZMA

Prema Maramoroschu i dr. (1970) razmnažanje mikoplazma može biti; putem binarne fisije, elementarnih tijela, filamentoznog rasta, te pupanjem.

Binarna fizija je u stvari razdvajanje, kod čega se obje stanice drže jedno vrijeme putem izraštaja.

Elementarna tijela su veličine oko 100 nm u dijametru, mogu se vidjeti u stanicama i kod biljnih mikoplazma. Isto se mogu naći i u kulturama na agaru animalnih mikoplazma. Međutim, sa sigurnošću se ne zna još njihova uloga. Moglo bi se također postaviti da one predstavljaju degenerativne produkte ili poprečne sekcije preko filameta, ili su to možda spore formirane za izvjesnih stanja itd.

Filamentozni rast utvrđen je u nekih mikoplazma u kulturi tj. da stvaraju micelija ili filamente (niti).

Pupanje kao način razmnažanja nije potpuno utvrđeno. Ono se vidi u elektronskom mikroskopu. Radovi s animalnim, zaraznim ili slobodnoživućim mikoplazmama, ne potvrđuju postojanje pupanja kao načina razmnažanja. Možda je to inicijalni stadij stvaranja filameta što se vidi na elektron mikroskopskoj snimci.

Unatoč već do sada utvrđenim oko 50 oboljenja kod biljaka kod kojih su nađene mikoplazmama slični organizmi, kao i pokušaja uzgoja tih organizama u čistoj kulturi, do sada nisu sa sigurnošću potvrđeni Kochovi postulati kojima bi se potvrdilo uzročna veza između izoliranih organizama i bolesti. Kako je poznato Kochovi su postulati definirani na slijedeći način:

- 1) da je neki agens uzrok nekog oboljenja mora ga se uvijek nalaziti u prisustvu kod tih bolesnih promjena;
- 2) uzročni agens mora se izdvojiti u čistoj kulturi tj. može ga se staviti da raste neovisno od organizama u kojem se razvijao;
- 3) umjetnim zarazama moraju se izazvati identična oboljenja na bilju iste vrste i sorte kao što je bilo na onoj iz koje je izoliran;
- 4) iz umjetne se zaraze ponovno izolira uzročnik i komparira makroskopski i mikroskopski razvoj s prvom izolacijom.

Prema radovima Chena i dr. (1970 cit. prema Hullu 1971) izgleda da su kod bolesti »zakržljaloš kukuruza« (corn stunt) kojeg prenosi cikada *Dalbulus elimatus*. ispunjeni Kochovi postulati. Oni su izolirali uzročnika (mikoplazma), uzgajali na umjetnom supstratu, nakon čega su injicirali mikoplazme u cikadu *D. elimatus*, te ih stavili na zdravi kukuruz. Nakon određene inkubacije pojavili su se simptomi na kukuruzu, a uzročnik je bio reizoliran iz tih umjetno zaraženih biljaka.

Hampton i dr. (1969) opisuju jednu mikoplazmu kod prirodno zaraženog graška (618 M), koja se može prenijeti mehanički. Autori su uzgajali uzročnika ove bolesti na tekućem i krutom supstratu. Mehanički su ga prenosili na grašak, vignon i bob. Dobili su međutim blaže simptome nego na originalnoj biljci koja je osim mikoplazme bila zaražena i virusom mozaika lucerne. Prema tome, ovdje bi se radilo o sinergizmu između mikoplazme i virusa. Zanimljivo je da je ta mikoplazma bila serološki srodna sa *Mycoplasma salivarum* (humana) i *M. gallisepticum* i *M. meleagridis* (ptica). Elektronski snimci pokazuju da su te mikoplazme manje (15–230 nm) nego što su organizmi koji pripadaju redu *Mycoplasmatales*. Najmanja »elementarna« tijela reda *Mycoplasmatales*, uključujući i vrste koje parazitiraju u životinjama,

imaju mijametar oko 80 nm (Maramorosch i dr. 1970). Prema tome nije sigurno da se u ovom radu radi o istim uzročnicima, odnosno ovi radovi traže još daljnju potvrdu.

Na sličnom problemu tj. sinergizmu između virusa i mikoplazma rade Casper i Lesemann (1971) kod jednog oboljenja kaktusa.

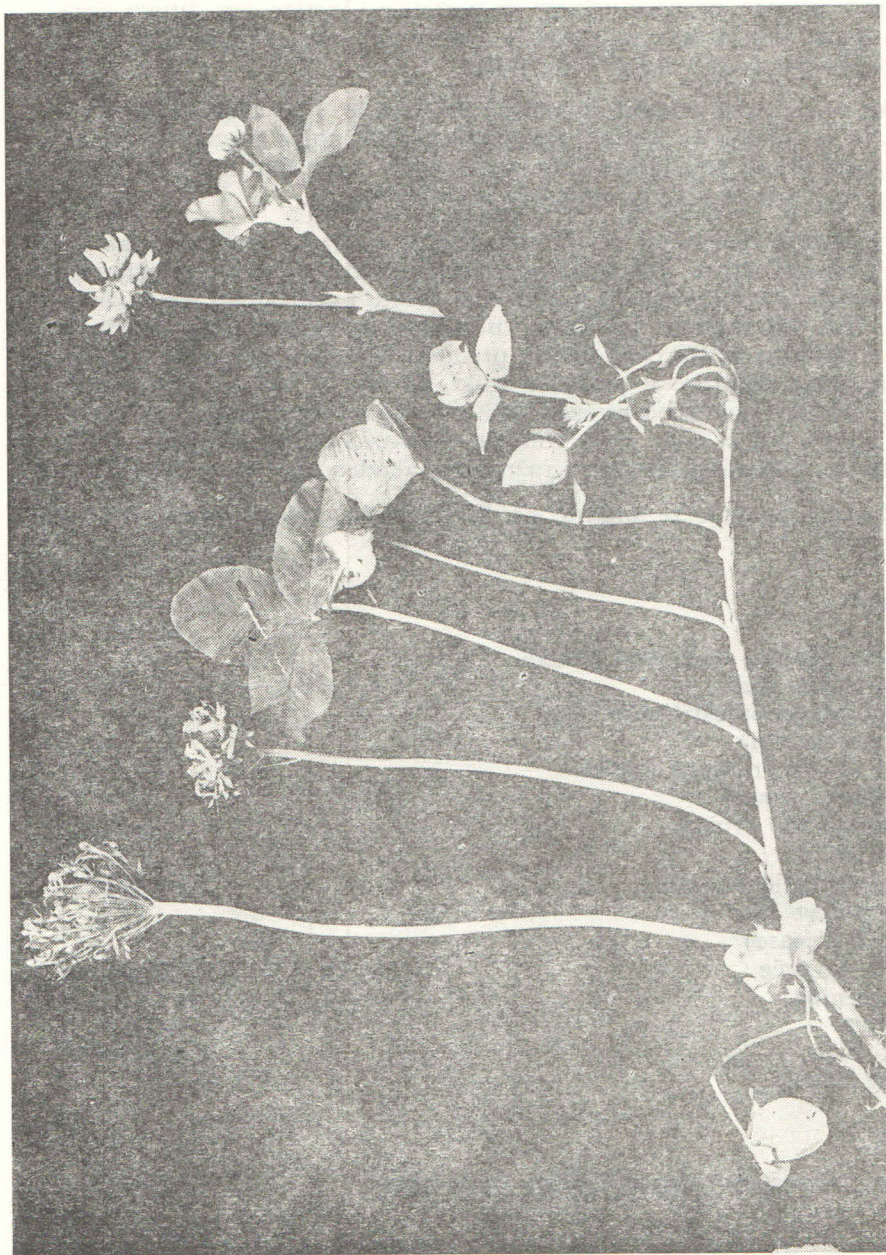
Postoji također pretpostavka da su mikoplazme samo simbionti stanica, ali da mogu služiti kao vektori virusa slično kao nematode, gljive itd. (Atanasoff 1969).

Dosada utvrđene mikoplazme pretežno su nađene kod oboljenja tipa žutica (yellows) koje bolesti prenose cvrčci (Cicadellidae) a mogu se prenesti i transplantacijom, a neke vilinom kosom (*Cuscuta* spp.). Karakteristično je za ove bolesti da se ne prenose mehanički sokom i da im je opća simptomatika bolesti kloroza lista, abnormalnosti u rastu (»vještčina metla«), abnormalnosti floralnih dijelova (proliferacija, virescencija cvijeta, filodija, akarpija) itd. (sl. 3 i 4).



Sl. 3. Rajčica zaražena stolburom krumpira

Foto: Dr Panjan — orig.



Sl. 4. Proliferacija cvijeta djeteline (*Trifolium hybridum*) uslijed zaraze mikoplazmama sličnim organizmima lijevo — bolesni cvijet, desno — zdravi cvijet
Foto: Dr Grancini — orig.

Neke mikoplazme prenose vektori iz porodice Cixiidae tzv. žuticu lista *Phormium tenax*, dok propadanje kruške (»pear decline«) i pozelenjenje naranče (»orange greening«) prenose Psyllidae.

Iznimku dosada čini da afide prenose mikoplazme, što navodi Hampton i dr. (1969) za uzročnika na grašku označenog 618 M kojeg prenosi lisna uš *Ascyrthosiphon pisum* koji je uzročnik bio zajedno s virusom mozaika lucerne. Postoje oboljenja za koje do sada nije utvrđen vektor.

Kod cvrčaka utvrđeno je da se mikoplazme nalaze u insektu vektoru. Hull (1971) navodi, da su kod *Dalbulus elimatus*, koji prenosi zakržljalost kukuruza, utvrđene mikoplazme u probavnom traktu i ventralnim ganglialnim stanicama. Kod *Macrosteles fascifrons* utvrđene su mikoplazme u slinim žlijezdama i masnom tkivu. Ovaj cvrčak prenosi tzv. žuticu astre. Izgleda, da mikoplazme dolaze najprije u probavni trakt, prelaze u žljezde slinovnice i tada postaje insekat potpuno zaražen. Mikoplazme se razmnožavaju u insektu. Noviji radovi (Dale, Kim 1969, Hibben, Wolanski cit. prema Hull 1971) smatraju da se uzročnik žutice astre razmnaža također i u vilinoj kosici.

Neke bolesti za koje se smatra da ih uzrokuju mikoplazmama slični uzročnici:

Voćarstvo

	Vektor
Atrofija ploda jabuke, mali plod jabuke (engl. apple chat fruit)	—
Proliferacija jabuke »vještčina metla« (apple proliferation)	—
Gumolikost drveta »mekane grane« (apple robbery wood)	—
Propadanje uginuće kruške (pear decline)	Psyllidae
Venuće i propadanje breskve »zapadna bolest X« (Western X disease)	Cicadellidae
Pozelenjenje naranče (Citrus greening)	Psyllidae
Citru stubborn	—
Patuljavost duda (Mulberry dwarf)	Cicadellidae

Vinova loza

Žućenje loze (flavescence dorée, Golden flavescence)	Cicadellidae
--	--------------

Ratarstvo

Zakržljalost kukuruza (Corn stunt)	Cicadellidae
Pozelenjenje cvijeta pamuka (Cotton virescence)	Cicadellidae
Parastolbur krumpira	Cicadellidae
»Vještčina metla« krumpira	Cicadellidae

Rice »giallume« (žutica riže)	—
Zakržljajlost riže (Rice grassy stunt)	Cicadellidae
Rice »padi jantan«	Cicadellidae
Žuta zakržljajlost riže (Rice yellow dwarf)	Cicadellidae
Bijeli list šećerne trske (Sugar-cane white leaf)	Cicadellidae
Mali list slatkog krumpira (Sweet potato little leaf)	Cicadellidae
Sterilna patuljavost zobi (Oat sterile dwarf/a)	Cicadellidae
»Vještičina metla« lucerne (Lucerne »witches' broom«)	Cicadellidae
Legume little leaf	Cicadellidae
Filodija djeteline (Clover phyllody)	Cicadellidae
Evropska patuljavost djeteline (European clover dwarf)	Cicadellidae

Povrtlarstvo

Žutica astre (američka, evropska, japanska)	Cicadellidae
Virescencija boba	—
Cheiranthus virescence	—
Mali list plavog patlidžana (Eggplant (brinjal) little leaf)	—
Grašak 618 M	Aphidae
Rajčica debeli pup (Tomato big bud)	Cicadellidae
Tomato »mal azul«	Cicadellidae
Stolbur rajčice	Cicadellidae

Razno

Lavender yellow decline	Cicadellidae
»Vještičina metla« jasena (Ash witches' broom)	—
Papaw bunchy top	Cicadellidae
Paulownia witches' broom	—
Phormium yellow leaf	Cicadellidae
Filodija na Carthamus tinctorius (Safflower phyllody)	Cicadellidae
Sandal spike	Cicadellidae
Cactus witches' broom	—

Ovdje bi se mogla uvrstiti jedna bolest na repi tzv. »venuće repe« u Čileu, koju prenosi cvrčak *Patanus exitiosus*. Dosada kod ove bolesti nisu vršene elektronsko-mikroskopske snimke, ali je utvrđeno da se bolest može tretiranjem klortetraciklin hidrokloridom (100 ppm) smanjiti. Uronjavanjem repe s korijenjem u otopinu nestaju simptomi bolesti za izvjesno vrijeme, što je karakteristično za mikoplazme.

Serološka dijagnostika

Prema dosadašnjim ispitivanjima aglutinacija i kompletarna fiksacija nisu senzitivne za identifikaciju mikoplazme. Latex aglutinacija, neutralizacija u životinji, serološki test u staničnoj kulturi, fluorescentna fokus inhibicija, manje su osjetljive. Najbolje su se pokazale ove metode dijagnostike;

imunoflorescencija, inhibicija rasta na agar ili tekućem mediu, te metabolička inhibicija. Ove metode ne samo da su senzitivne već su i specifične. Metabolička inhibicija može utvrditi serološke razlike unutar speciosa mikoplazma, pa se smatra kao najboljom metodom za dijagnostiku mikoplazma (Maramorosch i dr. 1970).

Suzbijanje biljnih mikoplazma

Poznato je da su mikoplazme osjetljive na neke antibiotike. Postoji već nekoliko radova (Maramorosch i dr. 1970, Hull 1971) u kojima se opisuju rezultati primjene nekih antibiotika (tetraciklini, kolortetraciklini, dimetil-kloratetraciklini i oksitetraciklini). U većini slučajeva dobiveni su oslabljeni simptomi, dok trajno izliječenje nije dosada postignuto. Najbolji su dosada postignuti rezultati s klortetraciklinom, oksitetraciklinom i tetraciklin s kloramfenicolom. Ledermicin i metaciklin daju slabiji efekat. Primijena antibiotika putem uronjavanja korijenja i držanjem reznice u otopini daje bolje rezultate nego prskanjem lista ili zalijevanjem zemlje (cit. prema Hull 1970).

Aleksić i dr. (1970) vršili su pokuse s aureomicinom na stolbur rajčice i utvrdili su: supersiju simptoma stobura. Ona se očituje prije svega u produženoj inkubaciji bolesti. Aureomicin u dozi od 200 ppm ima jače djelovanje na supersiju simptoma od doze 100 ppm. Zanimljivo je da su kod ovih autora bili bolji rezultati prskanjem nego zalijevanjem inficiranih biljaka.

LITERATURA:

1. Aleksić Z., D. Šutić. D. Aleksić (1970): Utjecaj aureomicina na prigušivanje simptoma stolbura paradajza. *Zaštita bilja XXI*, 110—111, 315—318, Beograd
2. Atanasoff D. (1969): The Role of Mycoplasma in Pathology (a hypothesis). *Biol. Zbl.* 88: 571—574 (1969)
3. Casper R., D. Lesemann (1971): Mykoplasmen in kranken Pflanzen Um-schau in Wissenschaft und Technik, H. 6./1971.
4. Hampton R. O., Stevens J. O., Allen T. C. (1969): Mechanically transmissible mycoplasma from naturally infected peas. *Pl. Dis. Reporter* 53: 499—503.
5. Hull R. (1971): Mycoplasma-like organisme in plantes *Review of plant pathology* Vol. 50 No 3, pp 121—130
6. Hull R. (1972): Mycoplasma and Plant Diseases. *PANS* Vol. 18 No 2. June 1972.
7. Maramorsch K., R. R. Granades and Hiroyuki Hirumi (1970): *Mycoplasma Diseases of Plants and Insects.* *Advances in Virus Research*, Vol. 16 pp. 135—193. New York and London.
8. Panjan M., A. Šarić, M. Wrischer (1970): Mycoplasmaähnliche Gebilde In *Tomatenpflanzen nach Infektion mit Kartoffelgelbsucht.* *Phytopath. Z.* 69, 31—35, 1970.
9. Šarić A. (1969): Mikoplazme kao uzročnici biljnih bolesti. *Zaštita bilja XX* (105), 245—248, Beograd.