

Inž. Andrija Buzančić i
Dr. Milan Panjan
Institut za zaštitu bilja
Zagreb

**NALAZ VIRUSA PJEGAVOSTI I VENUĆA RAJČICE
(TOMATO SPOTTED WILT VIRUS — TSWV) NA DUHANU U SR
HRVATSKOJ**

U V O D

Tomato spotted wilt virus (TSWV) vrlo je proširen virus koji uzrokuje velike štete ne samo na rajčici nego još više na duhanu. Zbog vrlo karakterističnih pjega crvenosmeđe boje na listovima rajčice, u zemljama njemačkog govornog područja nazivaju bolest koju izaziva taj virus »brončana pjegavost rajčice« (Die Bronzefleckenkrankheit der Tomate), dok je engleski naziv za virus tomato spotted wilt virus (TSWV-virus pjegavosti i venuća rajčice).

TSWV je proširen svugdje gdje se uzgaja duhan. U Jugoslaviji je prvi put utvrđen 1964. god. (Mickovski 1969) i to na uskolisnim duhanima u južnoj Srbiji i Makedoniji. 1973. god. utvrđen je ovaj virus i na širokolisnim duhanima u Slavoniji. To je bio prvi nalaz ovog virusa u SR Hrvatskoj. O tom nalazu izvještavamo u ovom radu.

TSWV ima približno izometrične čestice, promjera 70—90 nm (Black, 1963, Ie 1964, 1970; Milne 1969) koje su obavijene membranom. Ima vrlo veliki krug domaćina. Može zaraziti veliki broj vrsta iz različitih familija kako dvosupnica tako i jednosupnica među kojima je velik broj kulturnih i ukrasnih biljaka. Samo iz familije Solanaceae spominje se oko 50 vrsta koje su osjetljive na ovaj virus (Smith, 1957).

TSWV ima veliki broj sojeva koji se međusobno razlikuju po intenzitetu simptoma. Prenosioci virusa u prirodi su nekoliko vrsta Thripsa i to: Thrips tabaci Lind., Frankliniella schultzei Tryb., F. fusca Hinds., i F. occidentalis Perg. (Sakimura, 1963).

Samo oni insekti mogu biti vektori koji su se hranili na zaraženoj biljci u stadiju larve (Bald i Samuel 1931). Retencioni period, izgleda, da je za sve četiri vrste cijeli život tripsa.

Zaraza s ovim virusom primijećena je u Slavoniji u ljetu 1973. i to samo na pojedinim parcelama u blizini naselja na području oko Podravske Slatine (Čađavica, Predrijevo i Starin). Nasad duhana na tim parcelama bio je gotovo 100% zaražen. Zaražene biljke su znatno zaostajale u rastu u odnosu na zdrave biljke. Dok je prosječna visina zdravih biljaka iznosila

60—70 cm, zaražene biljke bile su samo 20—30 cm visoke. Simptomi na listovima bili su najjače ispoljeni na listovima druge etaže. Duž glavnog nerva vidljive su bile nekrotske pjege, a uslijed bržeg rasta internervalnog tkiva lista od listnih žila, plojka lista je naborama i mjehurasta. Listovi treće etaže bili su znatno manji i deformirani, ali bez pjege.

MATERIJAL I METODE

Za pripremu inokuluma poslužio je sok iz listova zaraženih biljaka duhana koje smo sakupili u polju. Donesene uzorke listova s terena temeljito se ispralo u destiliranoj vodi i zatim se iz njih mehanički istisnuo sok. Budući da je TSWV vrlo labilan, soku je dodan 0,01 M Na_2SO_3 da se spriječi inaktivacija virusa. Tim sokom inokulirane su slijedeće test biljke: *Petunia hybrida* Vilm, *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun, *Nicotiana glutinosa* L., *Cucumis sativus* L., *Chenopodium quinoa* Willd, *Chenopodium amaranticolor* Coste i Reyn, *Datura stramonium* L., *Lycopersicum esculentum* Mill, *Capsicum annuum* L., te krumpir A_6 (*Solanum demissum* Lindl. x *Solanum tuberosum* L. var. Aquila).

Ovako velik broj domaćina korišten je zato što se u trenutku ispitivanja nije znalo o kojem se virusu radi te da li je zaraza samo s jednim ili više virusa. Radi prisutnosti tripsa, a i po simptomima, sumnjalo se u zrazu s TSWV ali i na zarazu s drugim virusima kao na Y virus, virus mozaika lucerne, te virus mozaika duhana, koji su inače vrlo česti na duhanu u tom području.

REZULTATI

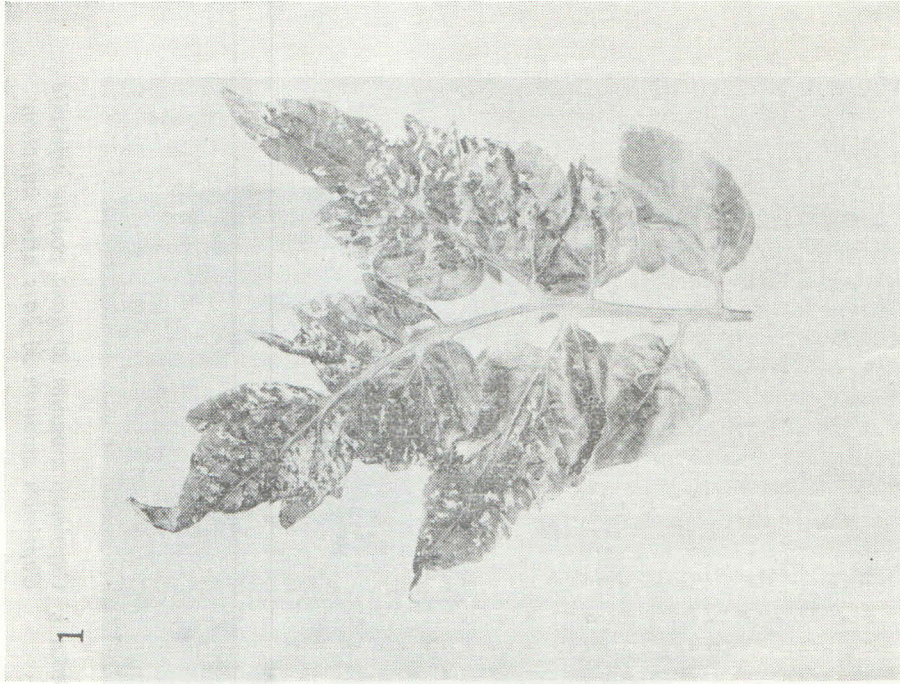
Na inokuliranim biljkama simptomi virusne zaraze pojavili su se u intervalu od 2 do 20 dana zavisno o vrsti.

***Petunia hybrida*:** 2—6 dana nakon infekcije pojavile su se male lokalne nekrotske lezije koje su se postupno spajale i zauzele čitavu površinu lista tako da je list konačno otpao. Sistemskih simptoma nije bilo.

***Nicotiana glutinosa*:** Na inokuliranim listovima 3—4 dana nakon infekcije pojavljuju se lokalne nekrotske lezije. Desetak dana nakon pojave lokalnih simptoma dolazi do pojave žutozelenog sistemskog mozaika.

***Nicotiana tabacum* var. Samsun:** Lokalni simptomi u vidu nekrotskih lezija pojavljuju se također nakon 3—4 dana. Sistemski mozaik i prosvjetljavanje nervature primjećuje se 12—15 dana nakon pojave lokalnih simptoma. Klonotična područja uz glavni nerv postupno nekrotiziraju i stvaraju sve veće nekroze, a dolazi i do nekroze vrha. Mladi listovi su deformirani.

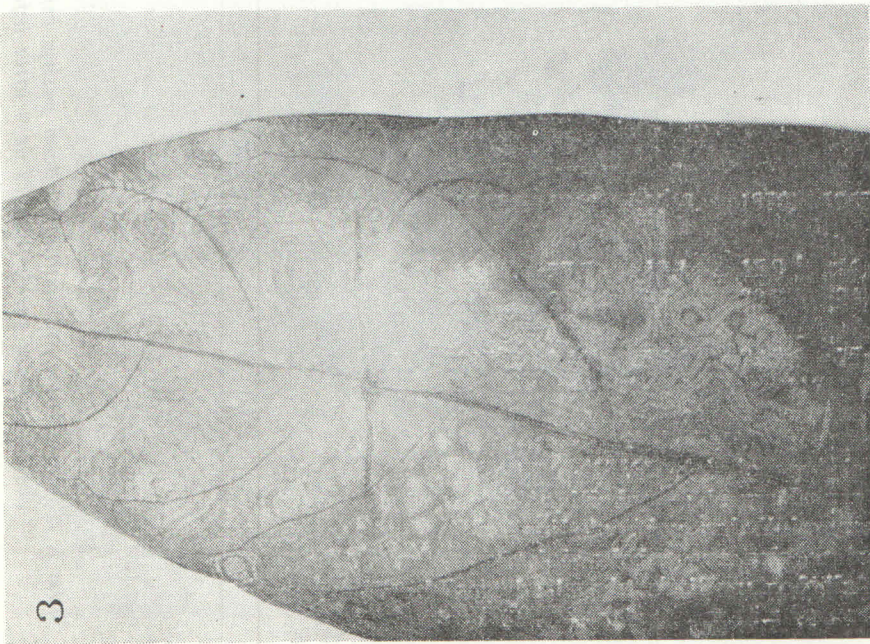
***Chenopodium amaranticolor* i *Chenopodium quinoa*:** 3—4 dana poslije inokulacije pojavile su se lokalne lezije. Lokalne lezije na *Ch. quinoa* bile su nešto veće, ali ih je bilo manje. Inficirani listovi su se ubrzo osušili i otpali.



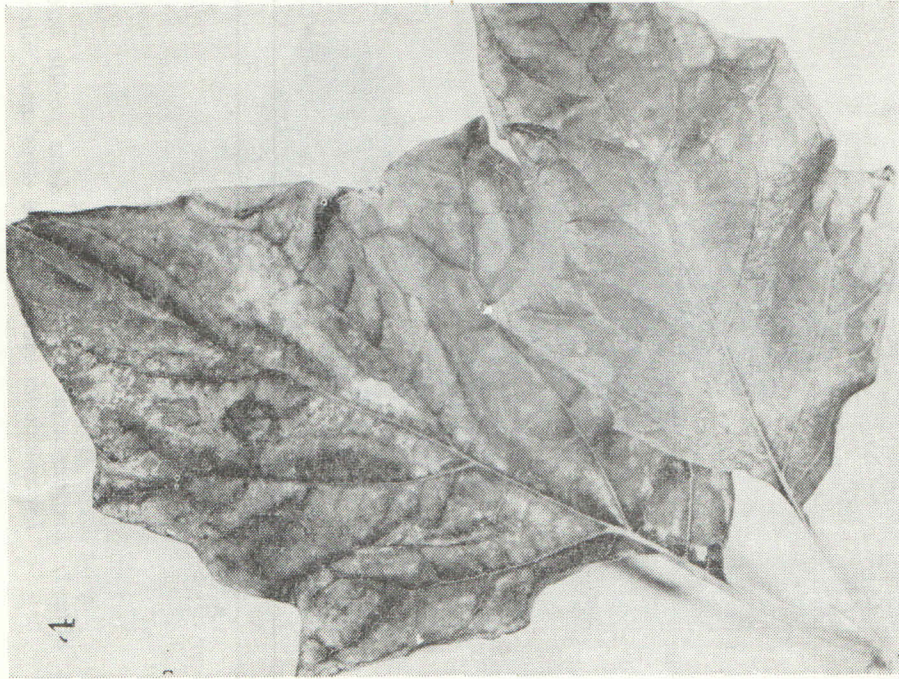
Slika 1. *Lycopersicum esculentum* 20 dana poslije infekcije
Lycopersicum esculentum 20 days after infection



Slika 2. *Lycopersicum esculentum* 30 dana poslije infekcije
Lycopersicum esculentum 30 days after infection



3
Slika 3. *Capsicum annuum* 30 dana postije infekcije
Capsicum annuum 30 days after infection



4
Slika 4. *Datura stramonium* 30 dana postije infekcije
Datura stramonium 30 days after infection

Cucumis sativus: Na kotiledonima su se nakon 7—9 dana pojavile blage slabo vidljive pjege, koje su se stopile tako da su kotiledoni potpuno požutjeli.

Datura stramonium: Ova test biljka reagirala je samo sistemičnim simptomima i to 15—20 dana poslije infekcije. Pojavila se nekroza tkiva uz žile (vein banding) i blago žućenje rubova listova. Nejednolikim rastom listnog tkiva izazvana je mjestimična mjehuravost od baze prema sredini lista. Kasnije su se ti simptomi razvili u izraženi mozaik s mjestimičnim nerozama. (slika 4).

Lycopersicum esculentum: 15—17 dana nakon infekcije počeo se pojavljivati blagi sistemični mozaik s deformacijom listova. Mozaik je postajao sve izraženiji s jasno vidljivim žutim (katkada gotovo bijelim) i tamnozelenim područjima. 25—30 dana poslije infekcije počele su se pojavljivati sjajne crvenosmeđe pjege i to pretežno na žutim dijelovima mozaika. Ta brončavost (crvenosmeđe pjege) locirana je obično oko baze lista uz glavni nerv i širi se postupno po cijelom listu. Tada se list sasvim uvije i nekrotizira, te osušen otpadne (sl. 1 i 2).

Capsium annuum: Oko 10 dana poslije infekcije na inficiranim listovima dolazi do prosvjetljavanja nervature, a zatim i sistemično na ostalim mladim listovima. 16—20 dana nakon infekcije javljaju se jače ili slabije izraženi koncentrični krugovi od kojih se postupno periferni međusobno spajaju (sl. 3.).

A₆ (Solanum demissum x Solanum tuberosum var. Aquila): A₆ test bio je negativan što znači da ispitivani duhan nije bio zaražen krumpirovim virusima — X, Y, A.

D I S K U S I J A

Pojava karakterističnih simptoma na rajčici ukazuje da se najvjerojatnije radi o zarzi s TSWV. I druge test biljke pokazale su također simptome karakteristične za TSWV, a povratnom infekcijom, na rajčici su se pojavili identični simptomi kao i pri direktnoj infekciji sa sokom bolesnih duhana. Za sigurnu dijagnozu tog virusa potrebno bi bilo dokazati ga još i serološki, ili elektronskim mikroskopom utvrditi da li se u tkivu zaraženih biljaka nalaze karakteristične virusne čestice.

Negativni A₆ test potvrđuje da se nije radilo o zarazi s nekim drugim virusima duhana koji su prilično česti u tom području.

Teže je međutim objasniti kako je došlo do zaraze odnosno gdje je bio izvor zaraze, ali se može pretpostaviti da je do zaraze došlo iz rasada.

Rasad sa zaraženih parcela uzgajan je u kljاليštima individualnih proizvođača koji su u istim kljاليštima istovremeno uzgajali i rasad velikog broja povratnih kultura (paprika, rajčica) i ukrasnog bilja (razne krizanteme, astre) od kojih su većina domaćini TSWV.

Zaraza cvim virusom u polju ustanovljena je krajem mjeseca lipnja kad je populacija tripsa bila vrlo mala (2—3 individua po listu), te se pretpostavka da su tripsi zarazili duhan u polju teško može prihvatiti.

U toku mjeseca srpnja i kolovoza u cijelom području Podravine i sjeveroistočne Slavonije (Pitomača, Virovitica, Podravska Slatina) ustanovljena je zaraza s tripsom na duhanu u nešto većoj populaciji oko 20—40 tripsa po listu, ali nije bilo uočljivih zaraza s TSWV osim na parcelama gdje je po prvi put ustanovljena. Odmah nakon pronalaženja tripsa na duhanu (krajem lipnja) pristupilo se tretiranju duhaništa na tim područjima s tripsicidima i to je vjerojatno razlog zašto se virusna zaraza nije dalje proširila već ostala lokalizirana na mjestu izbijanja. To sve potvrđuje već iznesenu pretpostavku da je zaraza na polje donesena s rasadom.

Zaraženi duhan potpuno je propao i time je nanesena znatna šteta proizvođačima duhana da paze kako i gdje uzgajaju rasad, te da rasad, i tek presađeni duhan zaštićuju i od tripsa da se ne bi ponovila žalosna iskustva iz 1973. godine.

THE OCCURENCE OF TOMATO SPOTTED WILT VIRUS IN CROATIA (YUGOSLAVIA)

(by A. Bužančić and M. Panjan)

Institut for Plant Protection, Zagreb, Yugoslavia

S u m m a r y

During the summer season 1973. the tobacco grown in the field displayed symptoms suggesting a virus infection. The infection was limited only to some plots in the area of Podravska Slatina (Croatia)

The leaf symptoms consisted of necrotic spots analog the midrib. The leaf lamina was bubbled as a result of unbalanced development of veinal and interveinal tissues. The diseased plants were severely stunted.

A virus was transmitted by mechanical inoculation from the diseased plants to the following test plants: *Petunia hybrida* Vilm., *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun, *Nicotiana glutinosa* L., *Cucumis sativus* L., *Chenopodium quinoa* Willd, *Chenopodium amaranticolor* Coste and Reyn., *Datura stramonium* L., *Lycopersicum esculentum* Mill.

All the inoculated plants were infected: *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *Cucumis sativus* and *Petunia hybrida* were only locally infected; *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana tabacum* var. Samsun and *Capsicum annuum* were locally and sistemically infected, while *Datura stramonium* and *Lycopersicum esculentum* were only sistemically infected. The symptoms on *Lycopersicum esculentum* were very characteristic. On the inoculated leaves 15 days after the infection a mild mosaic appeared scattered over the all leaf lamina. Gradually, the mosaic became more pronounced and finally all the discoloured areas assumed a bronze colouring. The same symptoms on tomato were obtained by back infection from other inoculated test plants.

The symptoms on the inoculated test plants as well as the host range suggested that the isolated virus might be a strain of tomato spotted wilt virus.

A₆ test was performed too, but it was negative indicating thus that the potato viruses Y, X and A, very common on tobacco in this area, were not involved.

Since the Thrips population was very low in all tobacco growing area it does not seem likely that the thrips were responsible for the break out of the infection in the fields. We suppose, however, that the tobacco got infected already in the seedbeds where it was grown along with some other vegetable and flower plants which all are known to be hosts of tomato spotted wilt virus.

LITERATURA

1. Black L. M., Brakke M. K. and Vatter A. E. 1963: Purification and electron microscopy of tomato spotted wilt virus. *Virology* 20, 120—130.
2. Ie T. S., 1964: An electron microscope study of tomato spotted wilt virus in the plant cell. *Neth. J. Path.* 70, 114—115.
3. Ie T. S., 1970: Tomato spotted wilt virus. C. M. I./A. A. B. No. 39. Descriptions of plant viruses.
4. Mickovski J., 1969: Tomato spotted wilt virus na duvanu u Jugoslaviji (*Lycopersicum virus 3 — Smith*). *Zaštita bilja* 105, 203—214.
5. Milne R. G., 1970: An electron microscope study of tomato spotted wilt virus in sections of infected cells and in negative stain preparations. *J. gen. Virol.* 6, 267—276.
6. Sakimura K., 1963: *Frankliniella fusca*, an additional vector for the tomato spotted wilt virus, with notes on *Thrips tabaci*, an other vector. *Phytopathology* 53, 412—415.
7. Samuel G. and Bald J. G., 1931: *Thrips tabaci* as a vector of plant virus diseases. *Nature* 128, 494.
8. Smith K. M., 1957: Textbook of plant virus diseases. 2nd ed. London, Churchill, 572-588.