

SEKTORIJALNA OTPORNOST SORATA ŠLJIVE NA PRISUSTVO VIRUSA ŠARKE ŠLJIVE

S. Kuzmanović, Č. Oparnica, M. Starović, M. Tošić, B. Đorđević, T. Vulić*

Izvod: Kod stabala šljive sorti Čačanska rodna, Stenli i Crvena ranka obolelih od virusa šarke šljive (VŠŠ, Plum pox virus – PPV) uočeno je prisustvo tipičnih simptoma u određenim delovima krune, a odsustvo u drugim. Izostank simptoma i virusa šarke šljive u delu krune obolelog stabla je nazvana „sektorijalna otpornost“. Okuliranje pupoljaka ovih sorti iz zaraženih delova krune u podlogu-džanariku rezultiralo je prisustvom virusa već u jednogodišnjim prirastima i manifestovanjem bolesti preko tipičnih simptoma u prvoj godini po kalemljenju. Međutim, okuliranje pupoljaka istih sorti iz sektorijalno zdravih delova krune, dalo je potpuno suprotan rezultat.

Odsustvo VŠŠ proveravano je serološki DAS-ELISA testom. Na osnovu iznetog može se zaključiti da se kalemljenjem sektorijalna otpornost uspešno prenosi na nove serije sadnica i buduće voćke.

Ključne reči: šljiva, šarka, virus šarke šljive, sektorijalna otpornost.

Uvod

Šarka je poznato oboljenje šljive i drugog koštičavog voća, a prvi put je uočena na šljivi davne 1915. godine u Makedoniji, a zatim 1918. u Bugarskoj (Christoff, 1958), kada je i konstatovana virusna priroda bolesti (Atanasoff, 1932, loc. cit. Nemeth, 1986). U Srbiji je nađena 1935. godine (Josifović, 1937, loc. cit. Šutić et al., 1999), da bi se pandemijski širila u regionu i Evropi, uključujući Veliku Britaniju, Ukrajinu, Rusiju (Kalashyan et al., 1994; Staniulus et al., 1998; Savulescu i Macovei, 1965, loc. cit. Šutić et al., 1999; Damsteegt et al., 2007). Noviji navodi potvrđuju prisustvo šarke i u brojnim afričkim zemljama (Boulila et al., 2004; Mazyad et al., 1992, loc. cit. Gildow et al., 2004; Sullivan, 2011), zatim na području Južne Amerike (Dal Zotto et al., 2006), Kine (Navratil et al., 2005), Japana (Maejima et al., 2010) i na kraju na severnomerickom kontinentu početkom trećeg milenijuma (Levy et al., 2000; Thompson et al., 2001; Bulatovic-Danilovich et al., 2006; Snover-Clift et al., 2007; Sullivan, 2011). Do sada nije potvrđeno prisustvo šarke u Australiji i Novom Zelandu.

Virus šarke šljive (VŠŠ) je najznačajniji patogen koštičavog voća. Procene su da je ovim virusom u Evropi zaraženo 100×10^6 stabala šljive. Pedesetak vrsta roda *Prunus* iz gajene, ali i spontane flore su domaćini ovog virusa i čine značajan izvor zaraza u prirodi (Damsteegt et al., 2007). Sorte Požegača (Madžarka) u Srbiji i Ćustedilka u Bugarskoj se navode kao najosetljivije prema VŠŠ.

Pokušaji rešavanja problema VŠŠ i šteta koje nanosi prisustvo ovog virusa u proizvodnji koštičavog voća, ogledale su se kroz sisteme brojnih mera, kao što su proizvodnja i upotreba zdravog reproduktivnog materijala, suzbijanje vektora, krčenje obolelih stabala, karantin, gajenje manje osjetljivih i otpornih genotipova koštičavog voća. I pored toga, neprestano i postojano širenje VŠŠ, ukazuje da sve navedene mere nisu dale zadovoljavajuće rezultate. Velika nuda ulaže se u korišćenje otpornih genotipova (Kegler et al., 1995; Šutić et al., 1999; Decroocq et al., 2006; Hartmann i Neumüller, 2006). Među vrstama *Prunus*-a iz spontane flore nađene su forme otporne na VŠŠ. Šutić (1965) je otkrio da je jedna forma crnog trna (*P. spinosa*) otporna na VŠŠ, ali i da se ta otpornost prenosi sa

* Dr Slobodan Kuzmanović, viši naučni saradnik; Dr Mira Starović, naučni savetnik; Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd, Republika Srbija. Dr Čedo Oparnica, vanredni profesor; Dr Mališa Tošić; Dr Boban Đorđević, docent; Dr Todor Vulić, redovni profesor; Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd, Republika Srbija.

Istraživanja u okviru ovog rada predstavljaju rezultate projekata TR 31018 i TR 31063 koje je podržalo je Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS.

E-mail prvog autora: kuzmanovic@beotel.net

crnog trna kalemljenjem na šljivu. Uočenu otopornost je nazvao „vegetativna otpornost“ (Šutić et al., 1999).

U ovom radu predstavljeni su šestogodišnji rezultati iznalaženja otpornosti na VŠŠ u prirodnim populacijama roda *Prunus* i njenog ugrađivanja u gajene sorte koštičavog voća.

Materijal i metode

Po jedno stablo sorti Čačanska rodna, Stenli i Crvena ranka, starosti pet godina, sa simptomima delimične sistemične zaraze šarkom šljive, u lokalitetu Tulari, kod Uba, poslužila su kao početni materijal u ovim istraživanjima.

Na odabranim stablima praćeno je prisustvo/odsustvo simptoma šarke na skeletnim granama. Godišnje su vršena dva pregleda: krajem maja-početkom juna i drugi krajem avgusta početkom septembra. Proveravano je prisustvo/odrustvo VŠŠ u delovima krune – skeletnim granama sa i bez simptoma, serološki i kalemljenjem. Serološko testiranje vršeno je DAS-ELISA metodom (Clark and Adams, 1977). Uzorkovane su kalem-grančice sa skeletnih grana bez simptoma šarke i kalemljene okuliranjem na spavajući pupoljak dženarike kao podloge, krajem avgusta 2009. godine u lokalitetu Skupljen (kod Šapca). Simptomi su praćeni tokom maja i juna, kada je i uzorkovano lišće radi testiranja na prisustvo VŠŠ DAS-ELISA metodom, šest godina izastopno.

Rezultati i diskusija

Uočeno je odsustvo simptoma VŠŠ u jednom delu krune, tj. na određenom broju skeletnih grana tokom 2006. godine u jednom zasadu u lokalitetu Tulari kod Uba. Ovu pojavu prvi je primetio i opisao Josifović (1956), a kasnije i Kuzmanović (1983), Tošić (1993) i Vučić (2005). Rezultati višegodišnjeg praćenja pojave simptoma VŠŠ kod odabranih stabala u delovima krune sa i bez simptoma, prikazani su u tabeli 1.

Tab. 1. Prisustvo/odsustvo simptoma šarke i VPP na delu krune – skeletnim granama ispitivanih stabala šljiva.

Presence/absence of sharka symptoms and PPV on portion of crown-primary branches of investigated plum trees.

Sorta Cultivar	Broj stabala /skeletnih grana No of trees /primary branches	Broj skeletnih grana sa/bez simptoma šarke i prisustvo VŠŠ DAS-ELISA (+ -)* No of primary branches with/without symptoms and presence of PPV (+ -)*								
		2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Čačanska rodna	1/7	3/4 + -	4/3 + -	5/2 + -	5/2 + -	7/0 +	7/0 +	7/0 +	7/0 +	7/0 +
Stenli	1/7	3/4 + -	4/3 + -	4/3 + -	5/2 + -	7/0 +	7/0 +	7/0 +	7/0 +	7/0 +
Crvena ranka	1/7	3/4 + -	3/4 + -	4/3 + -	4/3 + -	6/1 + -				

*) + = prisustvo VŠŠ dokazano DAS-ELISA metodom / PPV presence proved by DAS-ELISA method.

- = prisustvo VŠŠ nije dokazano DAS-ELISA metodom / PPV presence not proved DAS-ELISA method.

Prikazani rezultati ukazuju da postoji korelacija između pojave simptoma oboljenja i prisustva VŠŠ DAS-ELISA testom. Uporedna istraživanja su pokazala da je VŠŠ uvek prisutan u delovima krune stabla šljive na kojima su se ispoljavali simptomi oboljenja i obratno.

Ovi rezultati potvrđeni su i kalemljenjem. Po 20 vegetativnih pupoljaka je uzorkovano sa grana bez simptoma VŠŠ koji su nakalemljeni na dženariku na spavajući pupoljak krajem avgusta 2009 godine. Praćena je pojавa simptoma i prisustvo VŠŠ DAS-ELISA testom šest godina nakon kalemljenja (2010-2015). Dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 2.

Tab. 2. Rezultati kalemljenja – pojava simptoma i prisustvo VŠŠ kod kalemova, odnosno jedogodišnjih i višegodišnjih sadnica.

PPV transmission by grafting: occurrence of sharka symptoms and PPV presence in grafts, respectively seedlings of one and perennial seedlings.

Sorta Cultivar	Broj kalemljenja/primljenih kalemova <i>No of total graftings/successful grafts</i>	Godina Year	Broj kalemova sa/bez simptoma šarke i prisustvo VŠŠ (+ -)* <i>No of grafts with/without sharka symptoms and presence of PPV (+ -)*</i>
Čačanska rodna	20/20	2010	1/19 + -
		2011	1/19 + -
		2012	1/19 + -
		2013	1/19 + -
		2014	1/19 + -
		2015	1/19 + -
Stenli	20/20	2010	0/20 -
		2011	0/20 -
		2012	0/20 -
		2013	0/20 -
		2014	0/20 -
		2015	0/20 -
Crvena ranka	20/20	2010	0/20 -
		2011	0/20 -
		2012	0/20 -
		2013	0/20 -
		2014	0/20 -
		2015	0/20 -

*) + = prisustvo VŠŠ dokazano / PPV presence proved.

- = prisustvo VŠŠ nije dokazano / PPV presence not proved.

Iz populjaka uzetih iz delova krune bez simptoma šarke, dobijeni su u većem broju ponavljanja zdravi prirast, tj. kalemovi. Šestogodišnjim praćenjem simptoma na kalemljenim biljkama, uočena je samo jedna sadnica sa simptomima VŠŠ od ukupno 60. Ova sadnica je reagovala i pojavom karakterističnih simptoma za VŠŠ, još u prvoj godini, a zaraza je potvrđena i DAS-ELISA testom. Istim testom je potvrđeno i odrustvo virusa u

asimptomatičnim biljkama. Ovaj odnos 59 zdravih: 1 zaražena, nije se menjao tokom svih šest godina osmatranja i testiranja. Zaraza jedne od 60 sadnica može se objasniti verovatnom zaraženošću podloge pre kalemnjena ili infekcijom vektorima nakon kalemljenja, obzirom da je ogled postavljen u uslovima visokog infekcionog pritiska.

Prikazani rezultati u tabelama 1 i 2 ukazuju, da se kod šljive javlja i nepotpuna sistemična zaraza VŠŠ. Ona se može ispoljiti u delu krune obolelih stabala sa istovremenim skeletnim granama bez simptoma i bez prisustva virusa. Ovaj fenomen se može smatrati otpornošću sektorijalnog karaktera, zbog čega joj i odgovara naziv "sektorijalna otpornost".

Prikazani rezultati u tabeli 1 ukazuju na činjenicu da se sektorijalna otpornost smanjuje tokom starenja stabla. Naime, ovaj fenomen se gubio u narednim godinama opservacija. Kod stabala sorte Čačanska rodna i Stenli broj skeletnih grana sa sektorijalnom otpornošću se značajno smanjivao tokom narednih pet godina, da bi se u petoj godini osmatranja (desetoj godini starosti stabla) potpuno izgubila. Stabla Crvene ranke, zadržala su sektorijalnu otpornost i narednih pet godina. U svakom slučaju može se uočiti da je sektorijalna otpornost fenomen koji se ispoljava kod mlađih stabala.

U svakom slučaju ovaj fenomen treba proučavati i u narednom periodu. U prvom redu treba rasčistiti pitanje prenošenja ove otpornosti kalemljenjem, zatim pitanje postojanja sektorijalne otpornosti kod sadnica proizvedenih kulturom meristema iz tkiva sa sektorijalnom otpornošću. Sopstveni koren koji je razvijen iz tkiva sa sektorijalnom otpornošću, može igrati značajnu ulogu u patogenezi virusnih bolesti biljaka (Samuel, 1934, loc.cit. Matthews, 1981).

Naročitu pažnju zaslužuje traženje odgovora na pitanja prirode sektorijalne otpornosti, faktora koji utiču na ispoljavanje i trajanje ovog fenomena.

Zaključak

Dobijeni rezultati u ovim ogledima ukazuju:

- Da VŠŠ nije ni prisutan u delovima krune stabla šljiva obolelih od šarke bez ispoljenih simptoma;
- Da se menja odnos tokom vremena (godina) obolelog dela i dela bez simptoma, tako da se deo krune bez simptoma vremenom smanjuje do potpune sistemičnosti simptoma;
- Da je odsustvo simptoma VŠŠ u delu krune obolelog stabla posledica određene otpornosti, koja se može definisati kao „sektorijalna otpornost“.

Literatura

1. *Boulila, M., Briard, P., and Ravenlonandro, M. (2004): Outbreak of Plum pox potyvirus in Tunisia. Journal of Plant Pathology 86(3): 197-201.*
2. *Bulatovic-Danilovich M., Shane B., Hammerschmidt R. (2006): History, biology and management of the Plum pox virus. Special issue with MSU Fruit Area of Expertise Team, Michigan State University, USA, 2-6.*
3. *Christoff, A. (1958): Die Obstvirosen in Bulgarien. Phytopath. Z., 31: 381-436.*
4. *Clark, M.F., and Adams, A.N. (1977): Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-483.*
5. *Dal Zotto, A., Ortego, J.M., Raigón, J.M., Caloggero, S., Rossini, M., and Ducasse, D.A.(2006): First Report in Argentina of Plum pox virus Causing Sharka Disease in Prunus. Plant Disease 90: 523.*
6. *Damsteegt, V.D., Scorza, R., Stone, A.L., Schneider, W.L., Webb, K., Demuth, M. and Gildow, F.E. (2007):Prunus host range of Plum pox virus (PPV) in the United States by aphid and graft inoculation. Plant Disease 91: 18-23.*

7. Decroocq, V., Sicard, O., Alamillo, J.M., Lansac, M., Eyquard, P.J., García, A.J., Candresse, T., Le Gall, O., and Revers, F. (2006): Multiple resistance traits control *Plum pox virus* infection in *Arabidopsis thaliana*. MPMI 19(5): 541-549.
8. Gildow, F., Damsteegt, V., Stone, A., Schneider, W., Luster, D., and Levy, L. (2004): Plum pox in North America: identification of aphid vectors and a potential role for fruit in virus spread. *Phytopathology* 94: 868-874.
9. Hartmann, W., and Neumüller, M. (2006): Breeding for resistance: breeding for Plum pox virus resistant plums (*Prunusdomestica* L) in Germany. OEPP/EPPO Bulletin 36:332-336.
10. <http://www.ipm.msu.edu/plumpox.htm>
11. Kalashyan, J.A., Bilkej, N.D., Verderevskaya, T.D., and Rubina, E.V. (1994): Plum pox virus in sour cherry in Moldova. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 24: 645-649.
12. Kegler, H., Fuchs, E., Grűntzig, M., and Hartmann, W. (1995): Different host reactions can involve field resistance of plum genotypes to plum pox virus. ISHS ActaHorticulturae 386: 306-310.
13. Kuzmanović, S. (1983): Neobjavljenipodaci.
14. Levy, L., Damsteegt, V., and Welliver, R. (2000): First report of *Plum pox virus* (sharka Disease) in *Prunuspersica* in the United States. *Plant Disease* 84: 202.
15. Maejima, K., Hoshi, H., Hashimoto, M., Himeno, M., Kawanishi, T., Komatsu, K., Yamaji, Y., Hamamoto, H., and Namba, S. (2010): First report of Plum pox virus infecting Japanese apricot (*Prunusmume*Sieb. EtZucc.). *Japan. J. Gen. Plant Pathol.* 76: 229-231.
16. Matthews, F.E.R. (1981): Plant virology, second edition. Academic Press New York, London, Toronto, Sydney, San Francisko.
17. Navratil, M., Safarova, D., Karesova, R., and Petrzik, K. (2005): First Incidence of Plum pox virus on apricot trees in China. *Plant Disease* 89: 338.
18. Nemeth, M. (1986): Plum pox (Sharka). In: Virus, mycoplasma, and rickettsia diseases of fruit trees. AkademiaiKiado, Budapest. Pp. 463-479.
19. Snover-Clift, K.L., Clement, P.A., Jablonski, R., Mungari, R.J., Mavrodieva, V.A., Negi, S., and Levy, L. (2007): First report of Plum pox virus on plum in New York State. *Plant Disease* 91: 1512.
20. Staniulus, J., Stankiene, J., Sasnauskas, K., and Dargeviciute, A. (1998): First report of sharka disease caused by *Plum pox virus* in Lithuania. *Plant Disease* 82 (12): 1405.
21. Sullivan, M. (2011): Plum Pox Virus. USDA – APHIS – POQ - CPHST.
22. http://caps.ceris.purdue.edu/webfm_send/1090
23. Šutić, D. (1965): Vegetative effect of some plants on the curing of plum infected with Sharka (Plum pox) virus. *Zaštitabilja*, 85-88: 347-351.
24. Šutić, D., Ford, R.E., and Tošić, M. (1999): Handbook of plant virus diseases. eds. CRC Press, pp.533.
25. Thompson, D., McCann, M., MacLeod, M., Lye, D., Green, M., and James, D. (2001): First Report of *Plum pox potyvirus*in Ontario, Canada. *Plant Disease* 85: 97.
26. Tošić, M. (1993): Neobjavljenipodaci.
27. Vulić, T. (2005): Neobjavljenipodaci.

UDC: 634.22+578.85:632.938
Original scientific paper

SECTORIAL RESISTANCE OF PLUM TO SHARKA (PLUM POX VIRUS)

*S. Kuzmanović, Č. Oparnica, M. Starović, M. Tošić, B. Đorđević, T. Vulić**

Summary

One unusual aspect of resistance to sharka (Plum Pox Virus, PPV) has been discovered and studied in plum trees in the six consecutive years. The absence of sharka symptoms in some of primary branches of infected plum trees characterized as resistance. Symptoms appearance was observed and PPV presence was checked serologically by DAS-ELISA test as well as by grafting transmission.

That aspect of resistance mainly appears in a portion of the tree crown, i.e. on some primary branches of young plum trees and it is diminishing in following years. That distinct resistance to sharka (PPV) was found in trees of Čačanska rodna, Stanley and Crvena ranga cvs. In selected plum trees in the parts with such resistance no sharka symptoms appeared nor PPV was proved. The absence of sharka symptoms as well as PPV in a portion of a plum tree otherwise diseased by sharka is considered as a sign of resistance. For such aspect of resistance the name "Sectorial Resistance" is proposed. It is continues more and detail research on sectorial resistance of plum to PPV are in progress.

Key words: plum, sharka, PPV, sectorial resistance.

* Ph.D. Slobodan Kuzmanović, research associate; Ph.D. Mira Starović, research associate; Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Belgrade, Republic of Serbia. Ph.D. Čedo Oparnica, associate professor; Ph.D. Mališa Tošić, full professor; Ph.D. Boban Đorđević, assistant professor; Ph.D. Todor Vulić, full professor; University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade, Republic of Serbia.

Research within the frame of this paper, are results of projects TR 31018 and TR 31063, supported by Ministry of Education, Science and Technological Development.

E-mail of the first author: kuzmanovic@beotel.net