

Virus mozaika pepina gospodarsko pomemben virus paradižnika

Prof. dr. Maja Ravnikar
mag. Nataša Mehle



Lisavost ali degenerativne spremembe plodov paradižnika mnogokrat povzročajo različni rastlinski virusi.

Virus lisavosti in pritlikavosti jajčevcev (EMDV)



Virus pegavosti in uvelosti paradižnika (TSWV)



Virus mozaika pepina (PepMV)



Virus mozaika pepina

- Je nov virus v Evropi
- Prvič našli na Nizozemskem leta 1999, nato v GB
- Izredno hitro razširil – našli tudi v Italiji, Avstriji in na Madžarskem.
- V Sloveniji ga še nismo našli; možnost vstopa v državo: uvoz in premeščanje rastlin, plodov ter semen paradižnika

Virus mozaika pepina – bolezenska znamenja:

Na rastlinah paradižnika lahko komaj opazna, lahko pa vodijo do velikih ekonomskih izgub – izgube pridelka in izgube kakovosti plodov, kar je odvisno predvsem od okoljskih razmer in različka PepMV

Virus mozaika pepina – bolezenska znamenja:



Zvijanje in mehurjavost listov,
kloroze, rumeni robati ali celo
nekrotični madeži

Virus mozaika pepina – bolezenska znamenja:



Virus mozaika pepina – bolezenska znamenja:



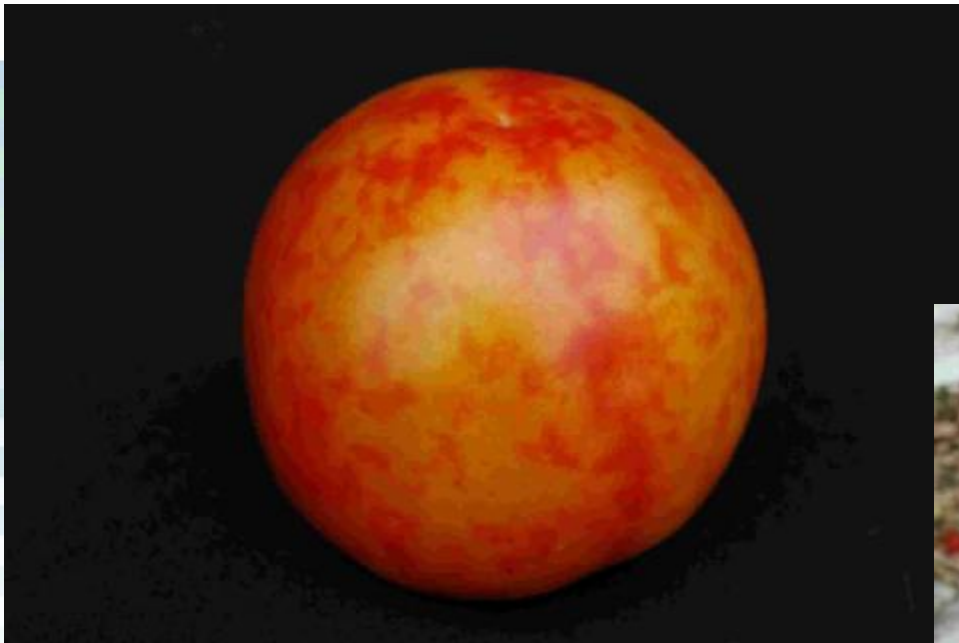
Virus mozaika pepina – bolezenska znamenja:



Rjavenje čašnih listov in
razpoke na plodovih



Virus mozaika pepina – bolezenska znamenja:



PLODOVI:
razbarvanje, neenakomerno zorenje,
zmanjšana velikost plodov in količina
pridelka

↓
Manjša kakovost plodov in
onemogočena prodaja plodov



Virus mozaika pepina – gostitelji:

Poleg pepina in paradižnika še:

- krompir
- paprika
- jajčevci

} Pomen? – raziskave v teku!

- številne plevelne rastline – **REZERVOAR VIRUSA**



Pepino (*Solanum muricatum*)

Virus mozaika pepina – obstojnost, prenos:

Zelo obstojen virus in se izredno hitro širi z dotikom ali z okuženim rastlinskim materialom!

Infektivnost virusa:

- v soku testne rastline *Nicotiana glutinosa*: min 3 mesece na 20 °C
- v vodovodni vodi: min 3 tedne



Hidroponičen sistem: prenos možen preko krožeče hranilne raztopine

Hitra razširitev virusa v rastlinjaku

Virus mozaika pepina – obstojnost, prenos:

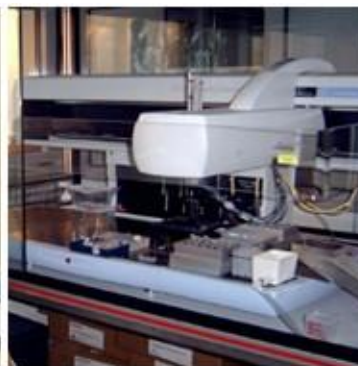
- mehansko: čmrlji, okuženo orodje
- semena paradižnika (PEPEIRA projekt): 0,026 %



Vendar zaradi velike obstojnosti in hitrega širjenja že eno samo okuženo seme lahko povzroči razširitev virusa v nasadu paradižnika in posledično velike ekonomske izgube!



Razvili smo metodo s katero lahko odkrijemo 1 okuženo seme v vzorcu 5.000 semen



Virus mozaika pepina – diagnostika:



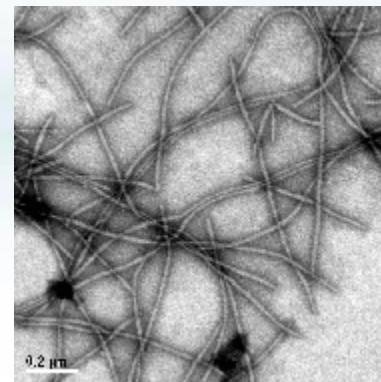
Biološke metode –
testne rastline:
infektivnost
virusa



Serološke metode: ELISA,
hiter diagnostičen test



Molekularne
metode: RT-
PCR v
realnem času

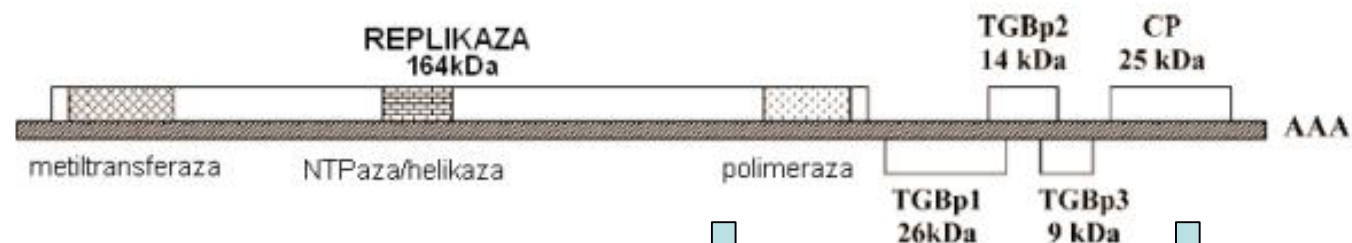


Metode, ki temeljijo na
morfoloških lastnostih
virusa: EM

Virus mozaika pepina – genotipi:

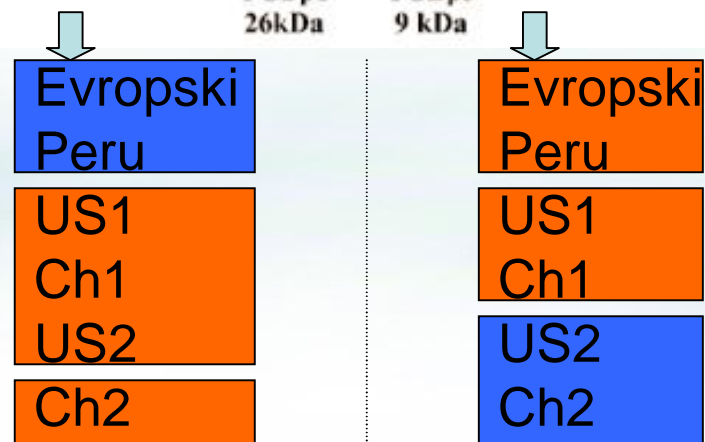
| Izolati | Evropski | Peru | US1 | Ch2, (US2) |
|------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| Evropski | > 98,8 - 99,4 % | 95,0 - 95,8 % | 81,5 - 82,3 % | 78,1 - 79,4 % |
| Peru | | 99,5 % | 81,5 - 81,7 % | 78,2 - 80,2 % |
| US1 | | | 98,7 % | 77,9 - 86,3 % |
| US2, (Ch2) | | | | 90,7 - 98,3 % |

Virus mozaika pepina – razvoj RT-PCR v realnem času:



Ločevanje med izolati!

Dokazovanje vseh izolatov PepMV na dveh različnih delih genoma potrditev novih odkritij!



Ling in sod., 2007

Virus mozaika pepina – razvoj RT-PCR v realnem času:

Naturally infected seeds

| infected: uninfected | ELISA | RT-qPCR (Eur-cp) | RT-qPCR (Ch2-rep) | RT-qPCR (Ch2&US2-cp) | RT-qPCR (Ling) |
|-------------------------|-------|---------------------|----------------------|-------------------------|-------------------|
| 1:10 | + | + (16.29) | +(19.08) | +(15.11) | +(14.75) |
| 1: 100 | + | + (22.03) | +(24.50) | +(20.38) | +(20.06) |
| 1: 1000 | + | + (24.97) | +(26.95) | +(22.37) | +(21.10) |
| 1: 5000 | - | + (31.35) | +(33.66) | +(28.98) | +(28.51) |
| 0:100 | - | - | - | - | - |

Odkrijemo lahko 1 okuženo seme v vzorcu 5.000 semen!

Virus mozaika pepina – preventivni ukrepi 1:

EPPO opozorilni seznam

Pravilnik o začasnih ukrepih za preprečevanje vnosa in širjenja virusa mozaika pepina (UL 28/2004)



FURS + FSI + NIB: posebni nadzor od leta 2004 (prve analize opravljene že leta 2001)

Virus mozaika pepina – preventivni ukrepi 1:

Preglednica: število testiranih vzorcev paradižnika na PepMV

| Število vzorcev | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 |
|---|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Sadike paradižnika | 62 | 18 | 34 | 35 | 50 | 7 | 13 | 7 |
| Rast. za pridelavo plodov in plodovi parad. | | | | 72 | 44 | 30 | 43 | 40 |
| Seme paradižnika | | | | 0 | 2 | 30 | 23 | 5 |
| SKUPAJ | 62 | 18 | 34 | 107 | 96 | 67 | 79 | 52 |

VSI VZORCI DO SEDAJ: NEGATIVNI NA PepMV

Virus mozaika pepina – preventivni ukrepi 2:

- Uporaba tretiranih (npr. natrijev hipoklorit) ali z vročino steriliziranih semen paradižnika
- Pregledovanje rastlin paradižnika – v primeru suma: analiza!

Virus mozaika pepina – kurativni ukrepi:

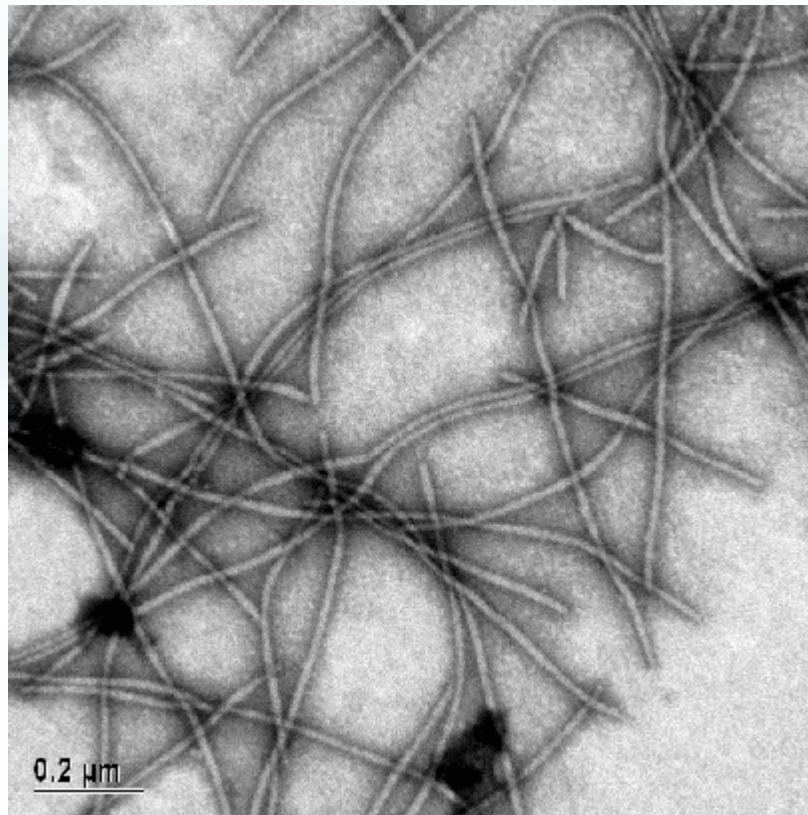
- Takojšnje uničenje okuženih rastlin
- Uničenje zdravih rastlin oziroma plodov, ki bi bili v stiku z okuženim materialom
- Dezinfekcija vseh površin in predmetov, ki bi bili v stiku z okuženim materialom (npr. 1% virkon, vodna para, namakanje okuženih predmetov v vroči vodi)

PEPEIRA

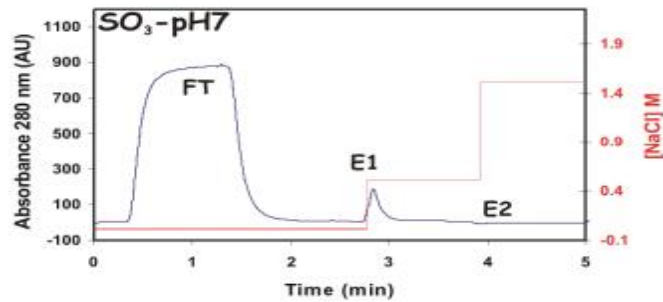
- Ugotovitev ekonomskega pomena na paradižniku v EU
- Ugotavljanje prenosa virusa preko semena
- Pomen virusa za druge gostiteljske rastline
- Genetska raznovrstnost virusa, zbiranje podatkov iz Evrope in določanje nukleotidnega zaporedja
- Priprava PRA
- Priprava podlag za izdelavo EPPO protokola (validacija razvitih metod)



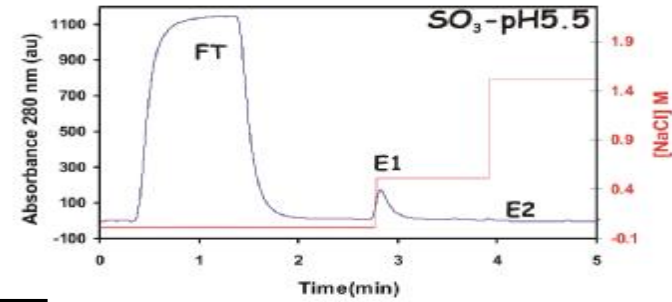
RAZISKAVE MOŽNOSTI KONCENTRIRANJA, ČIŠČENJA IN PREŽIVETJA PepMV



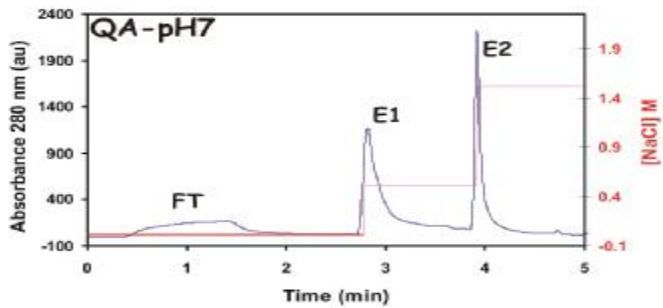
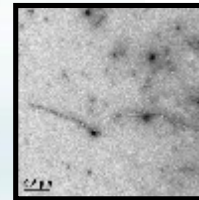
VEZAVA VIRUSA NA CIM



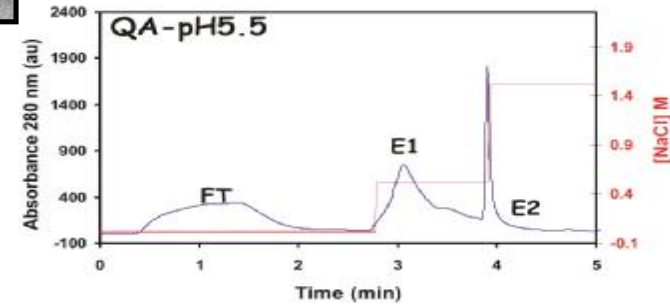
| | FT | E1 | E2 |
|--------------------------|------|-------|------|
| EM | - | +++ | na |
| % of loaded virus (qPCR) | 1.3% | 47.3% | 3.5% |



| | FT | E1 | E2 |
|--------------------------|-------|-------|------|
| EM | - | +++ | na |
| % of loaded virus (qPCR) | 0.07% | 40.7% | 4.2% |

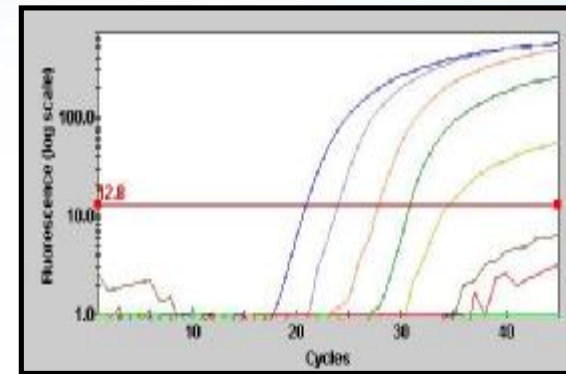
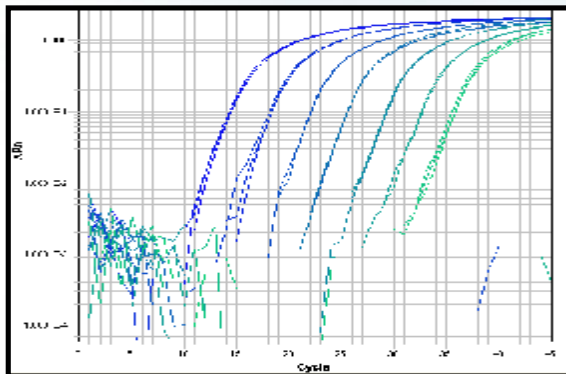
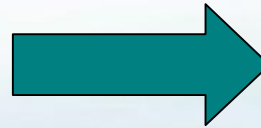


| | FT | E1 | E2 |
|--------------------------|----|-------|-------|
| ELISA | - | + | na |
| % of loaded virus (qPCR) | 0% | 25.8% | 26.3% |



| | FT | E1 | E2 |
|--------------------------|-------|-------|----|
| ELISA | - | + | na |
| % of loaded virus (qPCR) | 0.05% | 56.6% | 9% |

PRENOSNI SISTEM ZA KONCENTRACIJO IN DETEKCIJO VODNIH VZORCEV



NIB

NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO



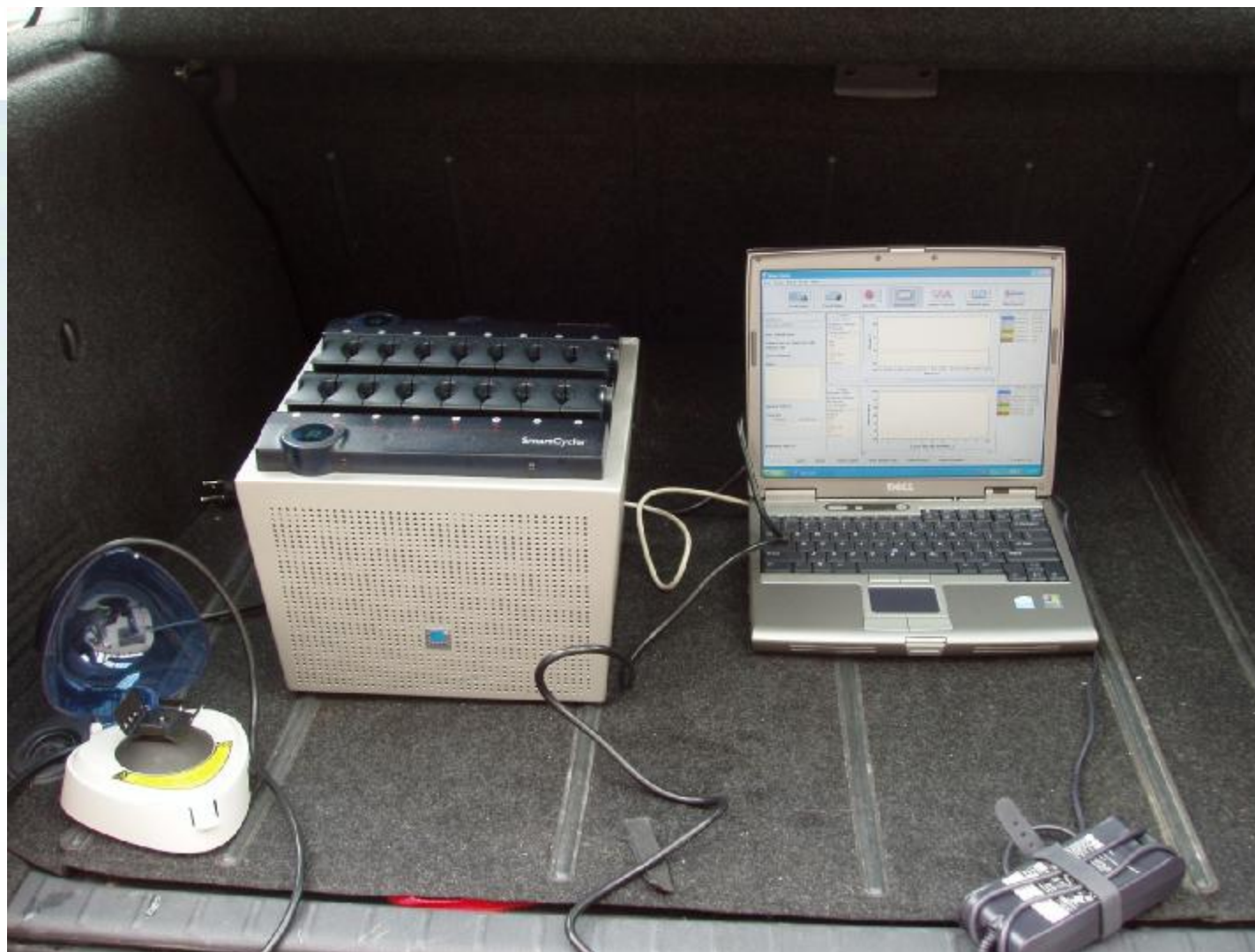
NIB

NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO



NIB

NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO



NIB

NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO



Marko Banjac
Petra Krambergar
Matjaž Peterka
Aleš Štrancar



Rick Mumford
Neil Boonham



Jana Boben
Ion Gutiérrez Aguirre
Nataša Mehle, M.Sc.
Polona Kogovšek
Kristina Gruden
Nataša Petrovič
Magda Tušek Žnidarič
Nina Prezelj



Duška Delić

Financial support:



Fitosanitarna Uprava RS
Inšpektorat za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano



HVALA ZA POZORNOST