

DEFORMACIJE NA LISTU I CVIJETU KUŽNJAKA  
(*DATURA STRAMONIUM* L.) INFICIRANOG  
VIRUSOM MOZAIKA KRASTAVCA

With Summary in English

NIKOLA JURETIĆ

(Iz Instituta za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno za štampu 15. III 1967.

Uvod

Neki virusi izazivaju osim promjena na vegetativnim organima i velike deformacije na cvijetu i plodu domadara (vidi Klinckowski 1958, Bd. I, str. 36—40). Promjene na cvijetu i plodu često su vrlo raznolike i duboke. Naročito je dobro poznata pojava šarenila (breaking) na crveno obojenim laticama raznih biljaka, kao što su tulipan, breskva, petunija itd. Osim šarenila mogu se u inficiranom cvijetu javiti i različite druge abnormalnosti. Tako se npr. pojedini dijelovi inficiranog cvijeta mogu povećati ili smanjiti. Osobitu sposobnost deformiranja generativnih organa imaju virusi iz skupine žutica (Valenta 1958, 1961). Pod utjecajem virusa stolbura čaška inficiranog cvijeta rajčice upadljivo se poveća i mjeđurasto proširi, a drugi dijelovi cvijeta ponekad se slabije razviju nego normalni ili posve zakržljaju.

Infekcija može uzrokovati i pozelenjavanje pojedinih dijelova cvijeta. Ta se anomalija javlja npr. u inficiranim cvjetovima duhana pod utjecajem virusa stolbura gdje su zakržljali vjenčići obično zeleni (Miličić 1964). Isto tako mogu pozelenjeti cvjetovi duhana i pod utjecajem virusa parastolbura, a cvjetovi djeteline pod utjecajem virusa filodija djeteline (*Kleeverlaubungsvirus*) i virusa kržljavosti djeteline (*Kleeverzwerungsvirus*) (Valenta 1961).

Nije rijetka pojava da se pojedini dijelovi inficiranog cvijeta transformiraju u lističaste tvorevine. Tako npr. izrazitu metamorfozu prašnika u lističe susrećemo u cvjetu vrste *Tropaeolum majus* koja je inficirana virusom vještičine metle (usp. Bos 1963). I sjemeni zamaci mogu primiti lističastu formu; npr. iz radova Mihajlove (1936) i Miličića (1964) saznajemo da sjemeni zamaci duhana pod utjecajem stolbura mogu u ekstremnom slučaju biti preobraženi u lističe velike preko 1 mm.

U inficiranom cvjetu može također doći do prolifikacije (vidi Penzig 1921). Ovu abnormalnost uzrokuje npr. virus vještičine metle u cvjetu vrste *Tropaeolum majus* (Bos 1963) i virus stolbura u cvjetu duhana (Miličić 1964).

Neki virusi mogu uzrokovati i sterilnost domadara. Iz istraživanja Palma (1933) saznajemo da se pod utjecajem žutice astre ženski gametofit vrste *Troximon glaucum* toliko degenerira da sjemeni zamaci potpuno i trajno postanu sterilni. Poznato je i da virus stolbura uzrokuje jalovost cvijeta rajčice.

Iako deformacije generativnih organa pod utjecajem virusa nisu osobito rijetka pojava, ipak anomalije ove vrste u mnogim slučajevima nisu opisane ili su ostale nedovoljno istaknute. Obično se prilikom isticanja agresivnosti nekog virusa ističu deformacije koje on izaziva na vegetativnim organima domadara, a u prvom redu na listu. To je bio slučaj i prilikom istraživanja virusa mozaika krastavca (dalje u tekstu VMK). Već je Mogendorff (1930) npr. konstatirao da se pod utjecajem VMK-a može list rajčice toliko izmijeniti da od pojedinih liski ostaje samo srednje rebro. I na mnogim drugim domadarima ovog virusa opisane su veće ili manje deformacije lista.

Na vrsti *Datura stramonium* koju Smith (1957) ističe kao diferencijalnog domadara za VMK, također su opisane deformacije lista koje uzrokuju neki sojevi VMK-a. Tipični soj tog virusa izaziva na kužnjaku mozaično šarenilo zajedno s karakterističnim klorotičnim prstenovima i linijama (Smith 1957). Slične simptome uzrokovali su izolati koje su istraživali Hein (1957) i Delević (1963). Međutim, u Italiji su Lovisolo i Benetti (1961) opisali jedan vrlo agresivni soj VMK-a, tzv. alojofilski soj, koji je na kužnjaku osim jakog mozaika izazivao i deformacije na listu.

Vrsta *Datura stramonium* na većinu izolata VMK-a koji dolaze u Bugarskoj ili ne reagira vidljivim simptomima ili se samo na inokuliranim listovima javlja klorotične lezije (Kovachevski 1965). Ipak, isti je autor našao i nekoliko sojeva VMK-a koji na kužnjaku uzrokuju jako naglašene promjene. Od pet sojeva koji na vrsti *Datura stramonium* izazivaju mozaik, tri soja znatno deformiraju list, cvijet i plod. Slične anomalije na vegetativnim i generativnim organima kužnjaka izaziva VMK koji je istraživao Aubert (1960).

Mi smo ispitujući pet sojeva VMK-a zapazili da svih pet sojeva izazivaju intenzivne deformacije na listu kužnjaka. Osim promjena na listu četiri soja su uzrokovala i anomalije na cvjetu i plodu. Budući da Aubert (1960) i Kovachevski (1965) ne opisuju detaljno promjene na

cvijetu i plodu kužnjaka koje uzrokuje VMK i s obzirom da u ostaloj literaturi ove promjene nisu istaknute, odlučili smo da se u ovom radu na njih podrobije osvrnemo. Osim toga opisali smo i promjene koje se pod utjecajem istraživanih pet sojeva javljaju na listu.

### Porijeklo istraživanih sojeva

U ovim istraživanjima radili smo sa pet sojeva VMK, i to sa sojevima B11, B12, B13, B14 i B15. Sojevi B12 i B14 potječu iz Jugoslavije, a sojevi B11, B13 i B15 iz inostranstva.

Soj B12 izolirani smo iz inficirane rajčice koju smo sabarali g. 1962. na dobru Poljoprivrednog fakulteta u Botincu kraj Zagreba. Rajčica je prvo bitno bila inficirana mješovitom infekcijom VMK-a i virusa mozaika duhana.

Drugi soj iz Jugoslavije dobili smo g. 1962. iz jedne biljke koja je rasla u Botaničkom vrtu u Zagrebu. U ovom smo ga radu označili kao soj B14. Sojevi B12 i B14 predstavljaju »zelene« sojeve VMK-a.

Inostrani soj B11 također je zeleni soj VMK-a. On potječe iz Fitopatološkog instituta Univerziteta u Halleu. Njega nam je ljubazno ustupio dr C. Oertel.

Susretljivošću dra K. Schmelzera pribavili smo iz Instituta za fitopatologiju u Ascherslebenu tačno determinirani, tzv. »bijeli soj« VMK-a. Ovaj soj je porijeklom iz Engleske, iz kolekcije dra K. M. Smitha, gdje je i označen kao bijeli soj (usp. Schmelzer 1962/63). Pod utjecajem ovog soja svijetla područja u šarenilu ili mozaiku su na većini test-biljaka gotovo bijela. Mi smo ga u ovom radu označili kao soj B13.

Ljubaznošću dra O. Bodea (Institut za poljoprivredna virusna istraživanja u Braunschweigu) raspolagali smo i s jednim »žutim« sojem VMK-a. Njega smo označili kao soj B15. Ovaj soj potječe iz SAD, i to od dra W. C. Pricea.

### Identifikacija virusa

U svrhu identifikacije prenijeli smo virusne izolate B12 i B14 mehanički na veći broj test-biljaka, a isto smo to učinili i s identificiranim sojevima iz inostranstva. Prikaz simptoma na pojedinim domadarima nalazi se na tablici 1. Usporedna istraživanja na test-biljkama izolata B12 i B14 sa sojevima B11, B13 i B15 pokazuju da sve obične test-biljke za VMK (*Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *Cucumis sativus*, *Nicotiana glutinosa*, *Solanum lycopersicum*, *Zinnia elegans*) u bitnome na sva četiri izolata reagiraju dosta slično. Tako npr. na vrsti *Chenopodium quinoa* izolati B12 i B14 uzrokuju posve jednake lezije kao i identificirani sojevi B13 i B15 tj. na inokuliranim listovima pojavljuju se klotrotične lokalne lezije okeržute boje koje je Uschdawiet (1955) opisao kao karakteristične za virus mozaika krastavca.

Tablica 1. Vrste na koje smo prenijeli pet sojeva virusa mozaika krastavca  
i reakcija na njima

Table 1. Species to which we have transmitted five strains of cucumber mosaic virus and reaction of the species

Test-biljke Test plants	Sojevi — Strains				
	B11	B12	B13	B14	B15
<i>Amaranthaceae</i> <i>Amaranthus caudatus</i> L.		L, O; S, ŠUIRZ			
<i>Chenopodiaceae</i> <i>Atriplex nitens</i> Schk.		L, Kl; S, O		L, Kl; S, O	L, Kl; S, O
<i>Chenopodium</i> <i>amaranticolor</i> Coste & Reyn.		L, Nl; S, O	L, Nl; S, O	L, Nl; S, O	L, Nl; S, O
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.		L, Kl; S, O	L, Kl; S, O	L, Kl; S, O	L, Kl; S, O
<i>Compositae</i> <i>Zinnia elegans</i> Jacq.	L, O; S, Š	L, O; S, VŠ		L, O; S, VŠ	L, O; S, VŠ
<i>Cruciferae</i> <i>Hesperis dinarica</i> Beck				L, O; S, Š	
<i>Cucurbitaceae</i> <i>Cucumis sativus</i> L. sorta »Delikates«		L, Sp; S, MŠ		L, Sp; S, MŠRZ	L, O; S, MŠRZ
<i>Polygonaceae</i> <i>Fagopyrum sagittatum</i> Gilib.				L, O S, Š	
<i>Solanaceae</i> <i>Capsicum annuum</i> L. sorta »Kalinkovka«		L, O; S, VŠZ		L, O; S, VMŠRZ	L, O; S, VM ŠRIZ
<i>Datura stramonium</i> L.	L, Sp; S, RDUSIVn	L, Sp; S, KUIRDZ	L, Sp; S, KIŠDNiR	L, Mo; S, UIKŠMDiZ	L, Sp; S, KIŠDNiR
<i>Nicandra physaloides</i> (L.) Gärtn.		L,O; S, K, NiUZ			
<i>Nicotiana glauca</i> Grah.	L, O; S, ŠDIR				

Test-biljke Test plants	Sojevi — Strains				
	B11	B12	B13	B14	B15
<i>N. glutinosa</i> L.	L, O; S, VMSDI	L, O; S, ŠDIRZ	L, O; S, ŠMIRDINi	L, O; S, MŠDINi	L, O; S, ŠMIRDINi
<i>N. megalosiphon</i> Heurecke et Muell.		L, O; S, ŠRN	L, NI; S, ŠRN		
<i>N. rustica</i> L.		L, O; S, Š		L, O; S, ŠDI	
<i>N. silvestris</i> Spegaz. & Comes		L, O; S, Š		L, O; S, Š	
<i>N. tabucum</i> L. sorta »Hicks resistant«		L, Sp; S, K ŠIUZ	L, O; S, VK MŠIU	L, O; S, VKS MSIUZ	L, O; S, VKM ŠIU
<i>N. tabacum</i> L. sorta »White Burley«	L, O; S, VM SDI	L, O; S, VŠ	L, O; S, VŠMIU	L, O; S, VKŠ MSI	L, O; S, VŠM IU
<i>Petunia hybrida</i> Vilm.		L, O; S, VŠI	L, O; S, VŠDUZ	L, O; S, ŠMIDIŠc	L, O; S, VŠDI
<i>Physalis floridana</i> Rydb.		L, O; S, ŠIZ		L, O; S, ŠDI	
<i>Ph. peruviana</i> L. var <i>pubescens</i>		L, O; S, ŠIZ			L, O; S, ŠIDc
<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>pruniforme</i> »Blond-Köpfchen«		L, O; S, Š UNI I		L, O; S, ŠSI	L, O; S, VŠ
<i>S. nigrum</i> L.		L, O; S, M ŠZ			L, O; S, VŠ

Objašnjenje skraćenica (List of abbreviations). D deformacije lista, cvijeta i ploda (leaf, flower and fruit deformation); Dc deformacije cvijeta (flower deformation); Dl deformacije lista (leaf deformation); I mjeherasta izbočenja plojke (blister zones on leaf); K kloroza (chlorosis); KI klorotične lokalne lezije (chlorotic local lesions); L lokalno (local); M mozaik (mosaic); Mo klorotično šarenilo na inokuliranim listovima (chlorotic mottling on inoculated leaf); N nekroza (necrosis); Ni nitavost lista (shoestring leaf); NI nekrotične lokalne lezije (necrotic local lesions); O simptomi nisu opaženi (symptomless); R redukcija površine lista (reduction of leaf surface); S sistemično (systemic); Sl sužavanje lista (leaf narrowing); Sp klorotične pjege na inokuliranim listovima (chlorotic lesions on inoculated leaf); S šarenilo (mottling); Šc šarenilo cvijeta (flower mottling); U uvijanje ruba lista (curving of leaf margins); Z zastoj u rastu (stunting); V prosvjetljivanje nerava (vein clearing); Vn pojava vrpčastih nerava (vein banding).

Gotovo se na svim vrstama, na kojima naši izolati izazivaju sistemičnu infekciju, lako razlikuju svjetla područja koje uzrokuju naši izolati B12 i B14 s jedne strane i sojevi B13 i B15 s druge strane. Npr. svjetla su područja, bez obzira na vrstu sistemičnog simptoma, na većini domadarara kod soja B15 žuća od svijetlih zona na domadarima koji su zaraženi izolatima B12 i B14. Kod vrsta koje su inficirane sojem B15 svjetla područja su najčešće žutozelena do žuta. Za razliku od toga, na vrstama koje su zaražene sa sojevima B12 i B14 svjetla područja su najčešće svijetlozelene boje. Na osnovu ovoga može se smatrati da izolati B12 i B14 pripadaju grupi tzv. »zelenih« sojeva VMK-a.

Prilikom identifikacije izolata B12 i B14 određivali smo i njihova osnovna fizička svojstva: termalnu tačku inaktivacije, krajnju tačku razređenja i postojanost in vitro (vidi tabl. 2). Prema podacima dobivenim u ovim pokusima, fizička svojstva izolata B12 i B14 nalaze se u granicama koje navodi većina autora koji su istraživali VMK (Simmons 1957; Hein 1957; Tomlinson, Shepherd i Walker 1959; Kovacevski 1965. i dr.). Prema tome i fizička svojstva neidentificiranih izolata ukazuju da oni pripadaju VMK.

Osim određivanja fizičkih svojstava i uspoređivanja simptoma koje uzrokuju naši neidentificirani izolati B12 i B14 sa simptomima koje izazivaju tačno determiniran sojevi iz inostranstva, izveli smo također u svrhu identifikacije i premunitetne pokuse. U ovim pokusima istraživali smo da li naši izolati B12 i B14 zaštićuju inficirane biljke od naknadne infekcije bijelim sojem B13 i žutim sojem B15. Prije nego opišemo izvedene pokuse, prikazat ćemo simptome koje upotrebljeni sojevi izazivaju na vrsti *Nicotiana tabacum*, sorta »Hicks resistant».

Tablica 2. Rezultati ispitivanja fizičkih svojstava  
Table 2. Results of investigation of physical properties

Izolat Isolate	Termalna tačka inaktivacije Inactivation end-point	Krajnja tačka razređenja Dilution end-point	Postojanost in vitro Longevity in vitro
B12	64—65°C	$10^{-4}$ — $10^{-5}$	2—3 dana (days)
B14	70—71°C	$10^{-4}$ — $10^{-5}$	3—4 dana (days)

Najkarakterističniji simptom koji nastaje pod utjecajem izolata B12 i B14 je blago šarenilo koje se sastoji od normalno obojenih područja lista i nešto svjetlijih mesta razne veličine. Za razliku od ovih simptoma soj B15 uzrokuje na istoj vrsti šarenilo koje se sastoji od žutozelensih i normalnozelensih a katkada od žutih i tamnijezelenih zona. Budući da je šarenilo koje izolati B12 i B14 izazivaju na duhanu diferentno od onoga koje prouzrokuje žuti soj B15, moguće je ustanoviti da li je premunitetna reakcija pozitivna ili negativna.

Pokus premuniteta sa sojem B12 tekao je ovako. Najprije smo 20 primjeraka vrste *Nicotiana tabacum*, sorta »*Hicks resistant*«, inficirali izolatom B12. Deset od ovih 20 primjeraka sedam dana nakon pojave jasnih sistemičnih simptoma inokulirali smo još i sojem B15 (žuti soj), a drugih 10 primjeraka služilo je kao kontrola. Prilikom superinokulacije sojem B15 obradili smo listove koji su već na cijeloj površini pokazivali jasne simptome. U isto vrijeme kad smo sojem B15 superinokulirali primjerke, koji su već bili inficirani izolatom B12, inokulirali smo i pet posve zdravih biljaka sojem B15. Ove su biljke također služile kao kontrola. Osim toga imali smo i treću grupu kontrolnih biljaka: ovi su primjerici bili inficirani sojem B15 u vrijeme kad je 20 primjeraka bilo inficirano na početku pokusa izolatom B12. Svi primjerici duhana prilikom ovih pokusa bili su iste starosti. Mjesec dana poslije superinokulacije žutim sojem B15 očitali smo rezultate pokusa. Svih 10 primjeraka duhana koji su bili inficirani izolatom B12 i naknadno superinokulirani žutim sojem B15, pokazivalo je tipične simptome koje na ovoj vrsti izaziva izolat B12. Iz ovih podataka proizlazi da je zeleni soj B12 potpuno zaštitio primjerke duhana od naknadne infekcije žutim sojem B15. Stoga se može zaključiti da je zeleni izolat B12 srođan sa žutim sojem B15, tj. da izolat B12 predstavlja jedan zeleni soj VMK-a.

Na analogan smo način, kao i sa izolatom B12, izveli premunitetni pokus i sa izolatom B14. I u ovom pokusu primjerici duhana, koji su prethodno bili inficirani zelenim izolatom B14 posve su bili zaštićeni od naknadne infekcije žutim sojem B15.

Premunitetni pokus u kojem se dokazivala pripadnost izolata B12, izveli smo još i na drugi način, i to koristeći kao test-biljku vrstu *Nicotiana megalosiphon*. Na ovoj vrsti zeleni izolat B12 izaziva, kao najkarakterističniji simptom, šarenilo dok bijeli soj VMK-a B13 uzrokuje na inokuliranim listovima nekrotične pjegе. Ove razlike u simptomima omogućile su nam da ustanovimo da li zeleni izolat B12 zaštićuje vrstu *Nicotiana megalosiphon* od infekcije bijelim sojem B13. Niti na jednom listu, koji su prethodno pokazivali šarenilo uzrokovano od zelenog soja B12, nije došlo do pojavljivanja nekrotičnih pjega nakon superinokulacije sojem B13. Na osnovu toga može se smatrati da je zeleni soj B12 potpuno zaštitio primjerke vrste *Nicotiana megalosiphon* od naknadne infekcije sojem B13.

Na taj je način potvrđeno da sojevi B12 i B14 pripadaju VMK.

#### Promjene na listu vrste *Datura stramonium*

Svi naši sojevi vrlo su agresivni prema kužnjaku. To se osobito vidi po promjenama koje nastaju na listovima inficiranih primjeraka (vidi tab. 1–3). Simptomi su slični onima koje su opisali Aubert (1960), Lovisolo i Benetti (1961) i Kovačevski (1965).

Pod utjecajem svih naših sojeva javljaju se na inokuliranim listovima promjene u obliku klorotičnih manje-više okruglih pjega nejasna ruba koje ubrzo nestaju (tab. 3, g). Katkada se umjesto ovakvih primarnih simptoma može pojaviti klorotično šarenilo.

Prvi znaci sistemične infekcije uslijede na najmladim listovima. Rubovi ovih listova obično su savijeni prema gore (tab. 2, d). Cijela njihova površina ili samo vršni dio postaju klorotični i lagano hrapavi. Već se na listovima ove starosti uočava da su zupci plojke produženi i uvijeni. Na njima se također opažaju prve redukcije i deformacije. U kasnijem stadiju infekcije gotovo su svi listovi manje-više, zbog skraćenja plojke, zbog mjeđurastih izbočenja i zdjeličastih udubljenja, zbog produžavanja zubača i zbog uvijanja rubova plojke prema gore intenzivno deformirani (usp. tab. 1–3). Abnormalnom izgledu listova pridonosi i to što se jedan dio plojke ili čak jedna njezina polovica uopće ne razvije. Na listovima zaraženih primjeraka opaža se jače ili slabije šarenilo koje se često miješa s mozaikom. Ponekad dolazi i do pojave vrpčastih nerava (tab. 3, e, f).

#### Promjene na cvijetu i plodu vrste *Datura stramonium*

Od pet sojeva koje smo prenosili na kužnjak četiri soja izazivaju deformacije na cvijetu i plodu. Anomalije na reproduktivnim organima ove vrste ne izaziva samo soj B14. Da lakše uočimo raznolikost i dubinu promjena u cvjetu i plodu kužnjaka koje uzrokuju sojevi VMK-a, opisat ćemo najprije cvijet i plod zdrave biljke.

##### *Građa normalnog cvijeta*

Čaška. U ranjem stadiju razvoja cvijeta lapovi normalne čaške na vrhu su usko prislonjeni jedan uz drugoga obrazujući ušiljeni vršak (tab. 4, d). U čaški su u ovo vrijeme zatvoreni svi ostali dijelovi cvijeta. Na poprečnom presjeku čaška ima oblik nepravilnoga istostraničnog peteročata čije su stranice prema unutra udubljene (tab. 6, d). Kasnije, kako nam to prikazuje tab. 4, e, izađu iz čaške ostali dijelovi cvijeta. Čaška u izraslom stanju ima oblik nenadute svijetlozelene cijevi dužine oko 3 cm koja se sastoji od pet međusobno sraslih lapova (usp. tab. 4, a–e). Područje centralnog nerva lapa izbočeno je prema van tako da se na čaški opažaju uzdužni bridovi (vidi tab. 6, a). Na vrhu čaške koja je tjesno priljubljena uz vjenčić nalazi se pet jednakog dugih zubača čija dužina iznosi 3 do 5 mm. Nakon cvatnje od čaške se zadrži samo najdonji dio u obliku ogrlice.

Vjenčić. Ovaj dio cvijeta je sulatičan i ima oblik dobro razvijene oko 7 cm duge cijevi koja se nešto iznad sredine proširuje (usp. tab. 4, a–c). Vjenčić razvijenog cvijeta nadvisuje čašku za oko 4 cm, a u vršnom dijelu širok je oko 3 cm. Obod mu je zvjezdoliko naboran te završava sa pet ušiljenih režnjeva. Područje središnjeg nerva latice izbočeno je prema van tako da se na vjenčiću opažaju uzdužni bridovi. Dio vjenčića koji se vidi izvan čaške sniježnobijele je boje, a drugi dio koji se nalazi zatvoren u čaški je zelenkasto bijel.

Prašnici. Unutar cijevi vjenčića nalazi se pet jednakih prašnika, koji prirastu za vjenčić gotovo s cijelom donjom polovicom dužine filimenta. Dužina filimenta iznosi oko 5 cm, a antera je duga oko 0,5 cm.

Filament je širok na bazi oko 2 mm, a na vrhu svega oko 0,5 mm. Prijelaz iz šireg bazalnog dijela u uži vršni dio je postepen, tj. filament se od baze prema vrhu postepeno suzuje. Širina antera varira od 1 do 1,5 mm. Prašnik se proteže kroz čitavu cijev vjenčića, ali ne dosije do otvora cijevi (vidi tab. 6, l).

Tučak. Ovaj dio cvijeta sastoji se od nadrasle plodnice, vrata i dvo-krpaste njuške. Dužina tučka iznosi oko 5 cm od čega na plodnicu otpada 0,7 cm, na vrat 4,2 cm, a na njušku svega nekoliko mm. Svi dijelovi tučka su svijetlozelenkaste boje.

Plodnica je jajolikog oblika sa suženim gornjim dijelom (tab. 7, a). Na njezinoj vanjskoj strani vide se četiri buduća zaklopca ploda na kojima se nalazi više nepravilno smještenih većih ili manjih bodlja. Poprečni presjek kroz plodnicu ukazuje da se ona sastoji od dva plodna lista (tab. 8, a, b). Osim toga na poprečnom presjeku se vidi da je plodnica u gornjoj polovici dvogradna (tab. 8, a), a u donjoj polovici zbog razvijanja nepravih septi, četverogradna (tab. 8, b; usp. i Van Tieghem 1891, II, str. 1709; Fitting, Schumacher, Harder i Firbas 1954, str. 544, sl. 810). U svakom pretincu nalazi se manje-više bubrežasta placenta s brojnim anatropnim sjemenim zamecima (vidi tab. 8, a, b). Na gornjem dijelu plodnice nastavlja se vrat tučka koji završava s dvokrpatom njuškom.

Plod kužnjaka je bodljikavi nešto uzdužno spljošteni tobolac, koji se sastoji od četiri zaklopca (tab. 11, a, b). Pri njegovoj bazi zadrži se dio čaške u obliku ogrlice. Na površini ploda nalaze se ravnomjerno raspoređene bodlje. Kao i plodnica, i plod je u gornjoj polovici dvogradan (tab. 11, j), a u donjoj polovici zbog razvijanja nepravih septi četvero-gradan (tab. 11, k).

#### *Grada anomalnog cvijeta*

Budući da su promjene koje na generativnim organima uzrokuju sojevi B11 i B12 s jedne strane i sojevi B13 i B15 s druge strane vrlo slične, opisat ćemo samo anomalije koje se javljaju pod utjecajem zelenog soja B12 i žutog soja B15. Gotovo se svi cvjetovi na primjercima, koji su inficirani u stadiju s tri do četiri prava lista, veoma izmijene, u prvom redu znatno skrate. Dok je npr. dužina normalnog cvijeta (bez stupke) oko 7 cm, dužina je anomalnih cvjetova najčešće od 1 do 4 cm. Međutim, širina izmijenjenih cvjetova obično je veća od širine cvjetova sa zdravim biljkama.

Čaška. Usporedno s promjenama oblika drugih cvjetnih dijelova promijeni se i oblik čaške. Deformacije čaške mogu biti jako raznolike.

Već u ranim stadijima razvoja reproduktivnih organa, kad se kod zdravog cvijeta vidi samo čaška dok su ostali dijelovi zatvoreni u njezinoj unutrašnjosti, mogu se opaziti različite anomalije. One u prvom redu zahvaćaju vršne dijelove čaške, koji su kod normalnih cvjetova u početku zatvoreni, a poslije se otvaraju propuštajući da izrastu unutrašnji dijelovi cvijeta. Ovakvu anomalnu čašku vidimo na tab. 4, i. Ona je jednolično

široka skoro sve do vrška, a onda se naglo suzuje u šiljak koji se nitasto produžuje i karakteristično savija tako da nalikuje na viticu. Vršni dio ovakve čaške može ostati trajno zatvoren. Ova se čaška prema tome razlikuje od normalne čaške koja se u vršnom dijelu postepeno ušiljuje (tab. 4, d). Ako poprečno presjećemo anomalnu čašku sa tab. 4, i, zapazit ćemo da ima oblik peterokuta kao što ima i normalna čaška, ali stranice tog peterokuta nisu udubljene, kao što je to slučaj kod normalne čaške (vidi tab. 6, d), nego su konveksne (tab. 6, e). Zbog toga što su stranice izbočene prema van, bridovi anomalne čaške slabije se zapažaju nego bridovi normalne čaške.

Radi lakšeg studiranja oblika čaške odvojili smo čašku od ostalih dijelova cvijeta otkinuvši je na mjestu gdje je ona inserirana za cvjetništvo, a zatim smo čašku još uzdužno prerezali, i u tom stanju detaljno nacrtali (usp. tab. 6, a-c, h, i).

Zajedno sa skraćenjem dužine ostalih dijelova inficiranog cvijeta skrati se i dužina čaške (tab. 4, k; tab. 6, b, c, h-k). Tako je npr. čaška na tab. 6, b duga oko 2 cm, a čaška na tab. 6, c svega oko 1,5 cm. U nekim slučajevima čašku može predstavljati sitna prozirna opna pri bazi vjenčića. Skraćene čaške mogu biti u svim svojim dijelovima jednako dugačke. Međutim češća je pojava da su dijelovi skraćene čaške različito dugački. Na tab. 4, k vidi se cvijet sa čaškom koje duži dijelovi iznose oko 1 cm, a kraći svega oko 0,4 cm.

Čaška može ponekad biti na jednom mjestu ili na više mesta rascijepana dubljim ili kraćim urezima koji mogu ponekad doseći i do dna čaške. Na tab. 4, m vidi se čaška koja ima samo jedan urez. Ovakvih ureza može biti i više, kao što se to vidi na tab. 12, d, i, pa se zbog toga ovakve čaške sastoje od više dijelova. Ponekad se može desiti da su ovi urezi dosta široki i da dosiju do dna čaške koja je tu posve zakržljala. Zbog toga takva čaška nema više oblik kontinuiranog ovoja oko cvijeta, a kroz mjesto gdje je posve reducirana, možemo direktno vidjeti unutrašnjost cvijeta sve do njegove baze (tab. 5, c). Obično se ovako jako deformirane čaške reduciraju i s obzirom na visinu, tako da su često svedene na vrlo sitne i deformirane privjeske ili krpice pri bazi cvijeta (vidi tab. 5, e; tab. 6, j; tab. 12, i). Ponekad čaška može biti toliko reducirana da od nje ostanu samo končasti ostaci (tab. 6, o). I neke od ovakvih čaški koje nemaju cjelovit oblik nastojali smo detaljnije prikazati pa smo ih pri bazi otknuli od cvjetništva, rastvorili i nacrtali (usp. tab. 6, f, g, k).

Anomalna čaška može ponekad biti šira od normalne pa u tom slučaju njezini dijelovi ne priliježu usko uz vjenčić. Tako nam npr. tab. 12, d (cvijet u sredini) prikazuje skraćenu čašku koja je mjeđurastro proširena, a sličnu anomaliju nalazimo na tab. 4, m i tab. 12, j. I ovakve čaške mogu biti dosta duboko urezane i zbog toga sastavljene od više-manje nezavisnih dijelova. Tako se npr. na tab. 4, l vidi jedna proširena čaška koja je toliko duboko urezana da se mogu opaziti bazalni dijelovi vjenčića. Slično izgleda čaška na tab. 12, i. No, unutarnji dijelovi cvijeta mogu se koji putu vidjeti i zbog toga što su dijelovi čaške jako epinastički savijeni (vidi tab. 4, k).

Dok normalna čaška ima pet uzdužnih bridova, na deformiranoj čaški može ih biti više ili manje od pet, a u nekim slučajevima mogu oni posve nestati (tab. 4, f; tab. 6, c, h, i, k; tab. 12, d).

Utjecaj infekcije odražava se kod većine cvjetova i u pogledu broja i dužine zubaca čaške. Na čaškama cjelovita oblika vrlo se često broj zubaca može povećati ili rjeđe smanjiti (usp. tab. 6, c, h, i). Kako vidimo na tab. 6, c, h, anomalna čaška, umjesto pet zubaca koliko ih nalazimo na normalnoj čaški, može imati sedam zubaca. Dužina tih zubaca kreće se od 5 do 8 mm, a širina im je također vrlo različita. Urezi između zubaca nejednako su duboki i široki zbog čega su zupci različitog oblika. Gotovo su svi zupci oštiri ušiljeni od normalnih i obično nisu simetrično izrasli. Broj zubaca može se povećati i na čaškama koje nemaju cijelovit oblik, tj. na onima koje su razvijene samo na jednom dijelu opsega cvijeta (tab 6, k).

Nije rijetka pojava da u normalnom cvjetu dođe do potpune ili djelomične adnacije čaške sa vjenčićem. Termin »adnacija« upotrijebili smo prema E a m e s u i M a c D a n i e l s u (1925, str. 281). Prema ovim autorima adnacija je međusobno sraštavanje članova različitih ciklusa cvijeta. Na tab. 12, g vidi se čaška koja je zbog adnacije gotovo posve prirasla uz vjenčić, a slobodan je samo vršak jednoga njezinog produženog i odeblijalog dijela. Površina deformiranih čaški obično je hrapava, a dijelovi nekih zakržljalih čaški su krti te se lako lome.

V j e n č i c ī. Kao i čaška tako se i vjenčić inficirane biljke često izmjeni. Boja anomalnih vjenčića varira od svijetlozelene do bijele, a sasvim su rijetko sniježnobijele boje kao što su zdravi vjenčići. Često se u vršnom dijelu bijelog anomalnog vjenčića na pojedinim mjestima nalaze izolirana svijetlo zelena područja. Ova svijetlozelena boja ponekad se zadrži i na cijeloj dužini centralnog nerva latice. Da bismo lakše proučili građu vjenčića, često smo ga zajedno s priraslim prašnicima odvojili od ostalih dijelova otkinuvši ga na mjestu gdje je bio inseriran za cvjetište. Vjenčić smo zatim uzdužno prerezali, rastvorili i u tom stanju detaljno nacrtali (vidi tab. 6, l-r).

Usporedo sa skraćenjem drugih dijelova cvijeta skrati se i vjenčić. Umjesto normalne dužine od oko 7 cm, dužina izmijenjenih vjenčića kreće se obično od 2 do 5 cm. Interesantno je da je anomalni vjenčić bazalno širi od normalnog (usp. tab. 6, l-o). Slično kao i kod anomalne čaške tako i kod anomalnog vjenčića susrećemo pojavu da dijelovi vjenčića istog cvijeta nisu jednakо dugački (tab. 4, k).

Karakteristično je da su inficirani vjenčići vrlo često spiralno savijeni. Ova promjena je istaknutija kod manje skraćenih vjenčića. Spiraliziranost vjenčića kužnjaka pod utjecajem VMK opazio je također A u b e r t (1960).

Nerijetko su anomalni vjenčići uzdužnim urezima bočno raskidani pa se kroz nastale otvore, koji su često dosta široki, mogu direktno vidjeti unutrašnji dijelovi cvijeta. U većini slučajeva nastaje samo jedna bočna pukotina koja obično ne zahvaća cijelu dužinu vjenčića. Donji dio vjenčića većinom ostaje cijelovit. U slučajevima kad u vjenčiću nastaje više

bočnih pukotina može poneka od njih sezati i do dna vjenčića. Različiti oblici raskidanih vjenčića prikazani su na tab. 4, *g*, *j-l*; tab. 5, *b-e*; tab. 6, *q*, *r*; tab. 12, *e-h*.

Umjesto pet kratkih i na vrhu oštro ušiljenih režnjeva, koliko ih ima zdravi vjenčić (vidi tab. 4, *a-c*), režnjevi na inficiranim vjenčićima mogu se znatno izmijeniti te poprimiti oblik dužih zubaca ili nitastih privjesaka (usp. tab. 4, *a-c*, *k*; tab. 5, *a*; tab. 6, *m*, *o*, *p*; tab. 12, *f*, *g*). Na tabli 6, *p* na kojoj je prikazan jedan rastvoren vjenčić, vidimo pet nitastih privjesaka nejednake širine koji su različito savijeni. Dok je cijev vjenčića dugačka oko 8 mm, dužina nitastih privjesaka iznosi oko 20 mm, dakle privjesci su znatno duži od cijevi vjenčića. Slične odnose prikazuje nam tab. 4, *k* na kojoj se također vide nitasti privjesci vjenčića. U oba ova primjera broj nitastih privjesaka podudara se s brojem režnjeva, tj. ima ih pet. Očito je da su nitasti privjesci preobraženi režnjevi. U drugim slučajevima broj nitastih dijelova anomalnog vjenčića može se smanjiti ili povećati (usp. tab. 6, *m*; tab. 12, *g*).

Često su duži zupci ili nitasti privjesci koji se nalaze na vrhu vjenčića jako savijeni i međusobno tako isprepleteni da onemogućavaju otvaranje vjenčića. Zbog toga kod već izraslih inficiranih cvjetova zapažamo da je vjenčić u gornjem dijelu još zatvoren (tab. 4, *j*). Ovakvi vjenčići kako se to vidi na tab. 4, *j* mogu bočno puknuti. Čini se da vjenčić može u svom vršnom dijelu ostati zatvoren i zbog toga što su vršni dijelovi jedan uz drugoga prislonjeni i savijeni u obliku trubice (tab. 4, *l*). Ovakvi se vjenčići ni u kasnijem stadiju ne otvaraju nego ostanu zatvoreni sve dok se ne osuše; oni su uvijek uzdužno urezani. U nekim slučajevima inficirani vjenčići slično kao i inficirane čaške mogu odebljati, postati krti i nesavitljivi. Dijelovi takvih vjenčića lako se na dodir lome.

Prašnici. Broj prašnika se pod utjecajem infekcije obično poveća tako da se umjesto pet prašnika, koliko ih ima normalni cvijet, može pojaviti šest do deset.

Prašnici se kao i ostali dijelovi deformiranog cvijeta često skraćuju. Dok dužina prašnika normalnog cvijeta iznosi oko 6 cm, dužina izraslih anomalnih prašnika najčešće je od 0,3 do 4 cm. Do skraćenja prašnika dolazi tako da se dužina filamenta znatno reducira pa je prema tome skraćenje uglavnom posljedica skraćenja filamenata. Tako su npr. filamenti cvijeta na tab. 4, *k* dugački svega oko 1 mm. Za razliku od filamenata, antere deformiranih prašnika vrlo su često po veličini jednakim anterama normalnog cvijeta. Stoga se obično kod anomalnih cvjetova na jako skraćenim filamentima vide razmjerno krupne bijele anteze. Za ilustraciju ovih odnosa može nam poslužiti npr. cvijet na tab. 5, *e* koji ima osam prašnika s filamentima kraćim od 2 mm. Na tako kratkim filamentima nalaze se razmjerno krupne bijele anteze čija je dužina 3 do 4 mm, a širina oko 1,7 mm.

Osim skraćenja dolazi na prašnicima i do drugih raznolikih deformacija. Tako npr. može doći do anomalne kohezije prašnika. Izraz »kohezija« upotrijebili smo prema Eamesu i Danielsu (1925, str. 281) prema kojima je kohezija međusobno sraštavanje članova istog ciklusa

cvijeta. Do kohezije dolazi obično u bazalnim dijelovima filamenta. U nekim slučajevima filamenti mogu međusobno srasti i cijelom svojom dužinom pa se zbog toga na jednom filamentu može naći veći broj antera (vidi tab. 5, *g*, *j-l*). Tako se npr. na jednom od filamenata na tab. 5, *k* nalaze dvije podjednako velike antere. Budući da se ove antere nalaze na filamentu koji je dvostruko širi od ostalih sedam filamenata, koliko ih je bilo u inficiranom cvijetu, moguće je da su se dvije antere našle na zajedničkom filamentu zbog međusobnog sraštavanja njihovih filamenata u jedan jedinstveni filament koji je dvostruko širi od normalnog. Ponekad se mogu na jednoj od više antera, koje se nalaze zajedno na jednom filamentu, pojaviti sitne dlačice (tab. 5, *l*).

Pored kohezije može kod prašnika doći i do raznih oblika adnacije. Tako npr. može prašnik zbog anomalne adnacije prirasti za nitasti dio vjenčića ne samo bazalnim dijelom filamenta, kako je to u normalnom cvijetu, nego i sa cijelom dužinom filamenta i dijelom antere (tab. 5, *h*, *i*, *q*). U jače izmijenjenih cvjetova filament može prirasti i za vanjsku stranu obično povećane plodnice.

Među manje-više izmijenjenim prašnicima mogu se u nekim slučajevima naći i takvi prašnici koji se svojom listićastom formom jako udaljuju od normalnog oblika. Različiti stupnjevi razgradnje prašnika vide se na tab. 5, *m*, *o*, *p*. Na poprečnom presjeku kroz listićastu anteru na tab. 5, *r* vide se, umjesto četiri lokula koliko ih ima normalna antera, samo dva lokula.

Opisane anomalije na prašnicima karakteristične su i za zeleni soj B12 i za žuti soj B15. Prema tome po promjenama na prašnicima nije moguće razlikovati ta dva soja.

Tučak se često, kao i ostali dijelovi cvijeta, znatno izmjeni. U prvom se redu vrat tučka jako skrati zbog čega se znatno smanji cijela njegova dužina. Dužina skraćenih tučkova iznosi najčešće 2 do 3 cm, a u nekim slučajevima svega oko 1 cm (usp. tab. 4, *k*; tab. 7, *a-c*). Često vrat može biti toliko kratak da njuška tučka gotovo sjedi na plodnici (vidi tab. 5, *c*; tab. 7, *d*, *g*).

Za razliku od vrata tučka, njuška anomalnog tučka najčešće je krupnija od njuške zdravog tučka. Treba reći da povećanje njuške nije osobito veliko. I na plodnicu, slično kao i na čašku, infekcija utječe tako da se ona poveća, i to uglavnom u širinu, dok obično nema promjene u dužinu.

Pored promjena u veličini dijelovi tučka pokazuju i druge anomalije. Tako se npr. na skraćenom tučku vide obično deformirane njuške. Dok je njuška zdravog cvijeta dvokrpasta, broj krpa njuške inficiranog cvijeta može se pod utjecajem obadva soja povećati ili smanjiti na svega jednu krpu (tab. 4, *l*; tab. 7, *h*). Često se pri tome njuške razlikuju od normalnih njušaka jedino po broju krpa. Međutim u drugim slučajevima one mogu biti i drukčije deformirane (vidi tab. 7, *g*). I vrat anomalnog tučka može se ponekad deformirati. Npr. on je u nekim slučajevima na cijeloj dužini tordiran ili zmijolik savijen. Ponekad vrat sa njuškom strši van iz vjenčića odnosno čaške te nadvisuje ostale dijelove cvijeta (tab. 12, *c*). Do ove anomalije dolazi zbog toga što se ostali dijelovi cvijeta npr. čaška i vjenčić mnogo jače skrate nego tučak.

Plodnica pokazuje također, osim promjena u veličini i druge abnormalnosti. Inficirane plodnice su često asimetrične što se dobro vidi na poprečnim presjecima (usp. tab. 9, a; 10, b). Na vanjskoj strani deformirane plodnice mogu na pojedinim mjestima potpuno nedostojati ili jako zakržljati buduće bodlje ploda koje su na cijeloj vanjskoj površini normalne plodnice ravnomjerno raspoređene (tab. 8, a; 9, b). Ovakve plodnice obično imaju povećan broj zaklopaca (vidi tab. 7, d).

Na poprečnom presjeku kroz anomalnu plodnicu odnosno plod, zapazaju se promjene i u unutrašnjosti. Tako se npr. može povećati broj karpelnih listova i septi. U manje deformiranih plodnica može broj karpela i pretinaca biti isti kao i u normalnih plodnica, tj. mogu biti vršno dvogradne, a bazalno četverogradne. Tako je npr. plod na tab. 11, w, x vršno dvogradan (*w*), a bazalno četverogradan (*x*). Isto se to vidi i na plodu koji je prikazan sa pet poprečnih presjeka na tab. 11, l—p.

Za razliku od plodova kod kojih broj plodnih listova i pretinaca ostaje isti kao i kod zdravog ploda, katkada nalazimo i takve plodove koji se sastoje od većeg broja karpela i pretinaca. Npr. na tab. 11, q—t na kojoj su prikazana četiri presjeka načinjena u raznim visinama istog ploda, vidimo da se plod sastoji od tri karpelna lista. Isto tako od tri plodna lista sastoji se plod koji je prikazan na tab. 11, u, v; presjek na sl. *u* načinjen je kroz vršni dio ploda, a presjek na sl. *v* kroz središnji dio ploda. Vršno je ovaj plod trogradan, a u sredini je peterogradan, jer su se u dva pretinca formirale lažne septe. Od još većeg broja karpela sastoji se plodnica koja je prikazana na tab. 10, b. Ona je izgrađena čak od pet plodnih listova. Svi su prvobitni pretinci pregrađeni lažnim septama pa je stoga plodnica deseterogradna. U drugim slučajevima zbog složenih promjena u unutrašnjosti plodnice ponekad je dosta teško utvrditi od koliko je plodnih listova plodnica izgrađena. Tako npr. na poprečnom presjeku kroz plodnicu na tab. 9, a možemo tek nakon pažljivog promatranja utvrditi da se vjerojatno sastoji od četiri plodna lista. Na ovoj sl. karpeli su označeni brojevima od 1 do 4. Isto tako i na plodnici koja je prikazana na tab. 9, b teško je sa sigurnošću utvrditi od koliko se plodnih listova sastoji i koja je septa prava, a koja naknadno nastala.

Promjene se opažaju i na placenti anomalnih plodnica. Izmijenjene placente, osim što se često povećaju, mogu imati umjesto normalne bubrežaste forme, oblik gljive ili mogu se bubrežasto izdužiti (tab. 10, a).

**P l o d.** Promjene u plodnici odražavaju se i na plodu. Za razliku od inficirane plodnice koja je obično nešto krupnija od normalne, anomalni plod nikad nije veći od normalnog. Naprotiv, inficirani plodovi mogu često jako zakržljati tako da su ponekad i za polovicu manji od normalnih plodova (usp. tab. 11, a—h). I oblik anomalnog ploda također podliježe promjenama. Inficirani plodovi mogu biti umjesto jajolikog oblika manje-više okrugli (tab. 11, c, d, i) ili na vrhu ušiljeni, kao što se to vidi na tab. 11, g.

Osim tih anomalija inficirani plodovi pokazuju i druge promjene. Tako je npr. česta pojava da se smanjuje broj bodlja. U našim pokusima nikad nismo zapazili posve gole plodove. Obično bodlje nedostaju na poje-

dinim mjestima, zbog čega su na tim područjima plodovi glatki (vidi tab. 11, c, e-h). Pored toga bodlje anomalnog ploda obično su malene i nisu čvrste kao bodlje normalnog ploda. Kao i anomalne plodnice tako isto i inficirani plodovi često se sastoje od više nego četiri zaklopca. Ponekad se na jednoj stapci mogu razviti dva ploda (tab. 11, i).

Obično se i donji dio čaške, tzv. ogrlica, koja se poslije cvatnje zadrži ispod plodnice, odnosno ploda, izmijeni pod utjecajem infekcije. Dok se na ogrlici normalnog ploda vidi pet podjednakih zubaca (tab. 11, b), dotle je ogrlica anomalnog ploda dosta često na vrhu nepravilno nazubljena, te ima veći broj nejednakih zubaca (usp. tab. 11, b, e). U nekim slučajevima ogrlica može poprimiti oblik međusobno sraslih krpastih listića koji su različito smotani i koji ponekad mogu djelomično prirasti za stапку ploda (tab. 11, c, d). Sjemenke inficiranih plodova često su sitnije od sjemenki normalnih plodova.

Promjene na plodu koje uzrokuje soj B12 u bitnom se ne razlikuju od anomalija koje se na plodu javljaju pod utjecajem soja B15.

#### Diferenciranje sojeva na bazi anomalija

Većina opisanih anomalija na listu, cvijetu i plodu kužnjaka uzrokuju gotovo svi sojevi. Međutim, ipak se neke promjene mogu javiti ili samo pod utjecajem jednog ili samo pod utjecajem nekoliko sojeva.

Po promjenama na listu lako se mogu razlikovati zeleni sojevi B11, B12 i B14 od bijelog soja B13 i žutog soja B15. Svjetlija područja u šareniliu koja uzrokuju zeleni sojevi uvjek su svijetlozelene boje, tj. nešto su svjetlijia od normalno obojenih zona lista. Za razliku od toga svjetla područja u šareniliu, koje se javlja pod utjecajem soja B13 i soja B15, znatno su istaknutija; ona su kod soja B13 bijeložučasta ili gotovo bijele boje, a kod soja B15 svijetložute ili žute boje. Postoji još jedna razlika u promjenama na listu prema kojoj se mogu lučiti zeleni sojevi B11, B12 i B14 od bijelog soja B13 i žutog soja B15, a to je da sojevi B13 i B15 uzrokuju znatnije deformacije na listu. Tako se npr. samo pod utjecajem sojeva B13 i B15 javlja nitavost lista kužnjaka (vidi tab. 2, b, c, e). Vrijedno je istaći da razlike između simptoma koje uzrokuju zeleni sojevi B11, B12 i B14 nisu tolike da bismo na osnovu promjena na listu mogli razlikovati ova tri soja.

Osim razlika u anomalijama na listu opazili smo također i neke razlike u promjenama na reproduktivnim organima. Tako su se samo na čaškama inficiranim sojem B12 pojavile izrasline, tj. enacije, u obliku uzdužnih nabora na čaški (tab. 4, h). S druge strane, čaške inficirane žutim sojem B15 obično su žutozelenkaste boje i razlikuju se po boji od čaški koje su inficirane zelenim sojem B12, a koje su većinom samo nešto malo svjetlijie od normalne čaške. Isto tako smo opazili da i na inficiranom vjenčiću neke anomalije može uzrokovati samo pojedini soj. Tako se samo pod utjecajem soja B12 na inficiranim vjenčićima može pojaviti veći ili manji broj izraslina u obliku enacija (vidi tab. 4, g; tab. 12, a, b). S druge

strane opazili smo da se samo pod utjecajem soja B15 privjesci na vrhu vjenčića često tako izmijene da su bojom i oblikom slični izmijenjenim dijelovima njuške, te ih je od ovih posljednjih teško razlikovati. Samo po papilama koje se nalaze na dijelovima njuške moguće je utvrditi što pripada vjenčiću, a što njušći tučka.

Najevidentnija razlika u anomalijama koje uzrokuje zeleni soj B12 i žuti soj B15 jest ona koju smo opazili na inficiranom tučku. Naime u nekim slučajevima, za razliku od soja B12, soj B15 može uzrokovati da vrat inficiranog tučka posve zakržlja te da je zbog toga njuška smještena direktno na plodnici. Isto tako samo na tučkovima inficiranim sojem B15 mogu se zapaziti deformirane njuške koje se sastoje ne od dvije krpe, nego od velikog broja sitnih krpa koje na sebi imaju oveće papile (usp. tab. 5, c; tab. 7 d, f). Po papilama se vidi da te sitne krpe predstavljaju dijelove njuške, jer se papile obrazuju samo na krpama njuške. Za razliku od soja B15, soj B12 ne uzrokuje stvaranje tako velikog broja krpa. Najveći broj krpa koji se javio pod utjecajem soja B12 nije bio veći od četiri.

Soj B15 uzrokuje na inficiranoj plodnici još jednu specifičnu anomaliju koju nismo opazili na plodnicama inficiranim sojem B12. Ta promjena u plodnici sastoji se u tome da karpelni listovi na vrhu plodnice međusobno ne srastu. Zbog toga na njezinom vrhu nastaje otvor kroz koji se u nekim slučajevima direktno može vidjeti unutrašnjost plodnice. Ponekad se unutrašnjost plodnice nije mogla direktno istražiti, nego je bilo potrebno oprezno razmaknuti nesrasle karpele. Kroz ovakve otvore mogle su se zapaziti septe, placente i brojni sjemeni zamaci. Ovu anomaliju ilustrira tab. 13 koja prikazuje unutrašnjost plodnice i brojne sjemene zametke. Zbog ove anomalije dolazi do zanimljive situacije da sjemeni zamaci, koji su kod svih angiosperma zatvoreni u unutrašnjosti plodnice, dospiju na površinu i postaju izloženi vanjskim utjecajima. Nerijetko se otvor na vrhu plodnice proširi i bočno tako da se i gledajući plodnicu sa strane može vidjeti njezina unutrašnjost (tab. 10, a).

### Diskusija

Virus mozaika krastavca (VMK) je vrlo raširen i gospodarski važan virus. Rasprostranjen je u čitavoj Evropi (Klinkowski 1958). U Jugoslaviji su ovaj virus istraživali Panjan (1957) i Delević (1963). Već se iz njihovih rezultata vidi da i u našoj zemlji VMK dolazi u obliku različitih sojeva. Do ovoga smo zaključka došli i mi u toku naših istraživanja (sojevi B12 i B14).

Istražujući pet različitih sojeva VMK-a zapazili smo da svi ti sojevi izazivaju na vrsti *Datura stramonium* velike promjene na listu. Promjene se sastoje od manje-više istaknutog mozaika te od deformacija u obliku skraćenja plojke, mjehurastih izbočenja i zdjeličastih udubljenja, produžavanja zubaca, uvijanja ruba plojke prema gore, redukcije dijela plojke i dr. Ove promjene se gotovo podudaraju s onima koje su opisali Auber (1960), Lovisolo i Benetti (1961) te Kovacevski (1965).

Promjene na listu koje se javljaju pod utjecajem zelenih sojeva B11, B12 i B14 najbliže su promjenama koje su opisali Lovisolo i Benetti (1961). Npr. sojevi B11, B12 i B14 isto kao i alojofilijski soj koji su istraživali spomenuti autori ne uzrokuju nitavost lista kužnjaka. Nasuprot tome, taj simptom se često javlja pod utjecajem bijelog soja B13 i žutog soja B15. Nitavost lista kužnjaka uzrokovao je također VMK koji je istraživao A u b e r t (1960), a K o v a č e v s k i (1965) je opisao tri soja VMK koja su na listu kužnjaka uzrokovali toliku redukciju plojke da je ponekad od lista ostalo samo srednje rebro s uskim rubovima plojke uza nj. Ističemo da su sojevi B13 i B15 izazivali nitavost u sva godišnja doba.

Anomalije koje sojevi B11, B12, B13 i B15 izazivaju u cvijetu kužnjaka u mnogome se podudaraju s promjenama koje su opisali A u b e r t (1960) i K o v a č e v s k i (1965). Navodi ovih autora da izolati VMK-a uzrokuju promjene i na reproduktivnim organima kužnjaka jedini su podaci koje smo našli u literaturi do koje smo mogli doći. Iz radova A u b e r t a (1960) i K o v a č e v s k o g (1965) naslućuje se da se pod utjecajem infekcije znatno mijenjaju svi dijelovi cvijeta i ploda. Tako npr. K o v a č e v s k i navodi da se pod utjecajem jednog soja cvijet toliko izmijeni da od njega »ostane samo nakupina lapova i prašnika«, a prema A u b e r t u vjenčić se spiralizira i puca tako da prašnici vire iz njegove unutrašnjosti. Sve ove abnormalnosti koje su naveli spomenuti autori uzrokovala su također naša četiri soja (B11, B12, B13 i B15). Pored toga mi smo opazili i detaljno opisali i druge anomalije kao što su anomalno sraštavanje pojedinih izmijenjenih dijelova cvijeta, povećanje broja prašnika, intenzivne promjene na njušci, vratu i plodnici i dr.

Plodovi pod utjecajem naših sojeva isto kao i kod A u b e r t a (1960) na pojedinim mjestima svoje površine nemaju razvijene bodlje. K o v a č e v s k i (1965, str. 67) je zapazio također redukciju broja bodlji na plodovima, i to u tolikoj mjeri da su njegovi plodovi bili ponekad gotovo potpuno glatki.

Ističemo da abnormalnosti koje smo zapazili na reproduktivnim organima kužnjaka nisu većinom imale karakter antolize (usp. B o s 1963), već su se ispoljavale u obliku kržljanja cvijeta, u rastrgavanju i deformiranju pojedinih njegovih dijelova, u anomalnom sraštavanju, u prekobrojnosti pojedinih dijelova itd.

Iz rada K o v a č e v s k o g (1965) saznajemo da sva tri soja koji izazivaju intenzivne deformacije na listu, cvijetu i plodu kužnjaka izazivaju također i intenzivan mozaik. Moguće je da ti sojevi predstavljaju žute sojeve VMK-a koji prema našem iskustvu uzrokuju jaki mozaik na kužnjaku. U toku naših istraživanja opazili smo da promjene na listu i generativnim organima vrste *Datura stramonium* nisu vezane uz jaki mozaik. Zato je vrijedno istaći da se deformacije lista, cvijeta i ploda kužnjaka mogu javiti i pod utjecajem zelenih, a ne samo žutih sojeva VMK-a. Čini se ipak da zeleni sojevi izazivaju nešto blaže promjene. Npr. pod utjecajem zelenog soja B12 opazili smo slične anomalije kao i kod soja B15, ali nikad pod utjecajem soja B12 ne dolazi do otvaranja plodnice i do tako intenzivnog deformiranja njuške.

Na osnovu se iznesenih činjenica vidi da naši sojevi uzrokuju promjene na listu koje su vrlo slične onima koje su opisali Lovisolo i Benetti (1961) u Italiji. Sojevi B11, B12, B13 i B15 prema promjenama koje uzrokuju na listu, cvijetu i plodu ove biljke dosta su bliski VMK-u koji je opisao Aubert (1960) i grupi sojeva koje je u Bugarskoj istraživao Kovacevski (1965). Budući da soj B13 potječe iz Engleske, a soj B11 iz Njemačke, možemo zaključiti da su agresivni sojevi VMK rasprostranjeni širom Evrope. Osim toga, na osnovu intenzivnih simptoma koje uzrokuje soj B15 porijeklom iz SAD, možemo smatrati da agresivni sojevi VMK postoje također i u Americi.

Spomenut ćemo na ovom mjestu i to da se pod utjecajem soja B15 dešavaju promjene i u cvijetu vrste *Physalis peruviana* var. *pubescens* (tab. 5, n; tab. 6, s, t). Vrlo je vjerojatno da VMK može uzrokovati promjene i na generativnim organima nekih drugih vrsta roda *Physalis* (usp. Rizković, Mihajlova i Pivovarova 1936). Prema tome pod utjecajem navedenog soja nastaju promjene na reproduktivnim organima vrsta *Datura stramonium* i *Physalis peruviana* var. *pubescens*. Ni jedna druga istražena vrsta (usp. popis na tablici 1) nije pokazivala nikakvih anomalija na cvijetu i plodu.

### Zaključak

1. U ovom radu detaljno smo opisali pet sojeva VMK (B11, B12, B13, B14 i B15). Sojevi B12 i B14 potjecali su iz Jugoslavije (Zagreb), a ostali sojevi bili su porijeklom iz inozemstva, i to zeleni soj B11 iz Istočne Njemačke, bijeli soj B13 iz Engleske i žuti soj B15 iz SAD.

2. Izolate iz Jugoslavije (B12 i B14) identificirali smo pomoću pokusa na test-biljkama, fizikalnih svojstava i premunitetnih pokusa. Utvrđili smo da izolati B12 i B14 predstavljaju zelene sojeve VMK.

3. U toku pokusa na test-biljkama kao osobito pogodna test-biljka za ispitivanje sojeva pokazala se vrsta *Datura stramonium*. Na ovoj biljci svih pet sojeva uzrokuje intenzivne promjene na listu. Osim toga četiri soja (B11, B12, B13 i B15) izazivaju na ovoj biljci znatne anomalije na cvijetu i plodu.

4. Istražene promjene na vegetativnim i reproduktivnim organima kužnjaka detaljno su istražene i obilno ilustrirane.

5. Promjene na reproduktivnim organima opazili smo osim na vrsti *Datura stramonium* još i na vrsti *Physalis peruviana* var. *pubescens*. Ostalih 20 biljaka koje smo koristili u našim pokusima nisu pokazivale nikakve promjene na cvijetu i plodu.

6. Na osnovu dosadašnjih radova (Aubert 1960; Lovisolo i Benetti 1963; Kovacevski 1965) kao i na osnovu činjenice da ispitivani sojevi potječu iz raznih zemalja, možemo zaključiti da su agresivni sojevi VMK prema kužnjaku rasprostranjeni ne samo u Evropi nego i u Americi.

\*

Zahvaljujem se prof. dru Davoru Miličiću na svestranoj pomoći prilikom izrade ovog rada.

## Literatura — Bibliography

- Aubert, O., 1960: Les viroses du tabac en Suisse. Mem. Soc. Vaud. Sci. Nat 12, 153—211.
- Bos, L., 1963: Symptoms of virus diseases in plants. Centre for Agricultural Publications and Documentation, Wageningen.
- Delević, B., 1963: Viroze paprike u SR Srbiji. Zaštita bilja 74, 347—436.
- Eames, A. J. and L. H. MacDaniels, 1925: An introduction to plant anatomy. McGraw-Hill book., Inc., New York and London.
- Fitting, H., W. Schumacher, R. Harder und F. Firbas, 1954: Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, 26. Auflage, G. Fischer Verlag — Stuttgart.
- Hein, A., 1957: Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräuterung. Phytopath. Z. 29, 204—229.
- Klinkowski, M., 1965: Pflanzliche Virose. Bd. I—II, Berlin.
- Kovačevski, I., 1965: Krastavično mozaičnata viroza v Blgaria. Izdatelstvo na Blgarskata akademija na naukite, Sofija.
- Lovisolo, O. e M. P. Benetti, 1961: Su di un ceppo del virus del mosaico del cetriolo di tipo alloiofillia isolato da pomodoro. Boll. Staz. Pat. Veget. 19, 35—50.
- Mihajlova, P. V., 1936: Patologičeskie izmenenija generativnyh tkanej pomidora, boljnogo oderevenenij plodov. U: Virusnye bolezni rastenij. Trudy Vses. akad. seljsko-hozjajstvennyh nauk im. Lenina 5, 92—98.
- Miličić, D., 1964: Anomalije u cvjetu stolburuskog duhana. Acta bot. Croatica 23, 27—50.
- Mogendorff, N., 1930: Fern-leaf of tomato. Phytopathology 20, 25—46.
- Palm, B. T., 1933. The gametophytes in a composite affected with aster yellows. Svensk Bot. Tidskrift 27, 420—437 (Ref. Rev. appl. Mycol. 13, 240, 1934).
- Panjan, M., 1957: Viroze rajčice u NR Hrvatskoj. Doktorska disertacija. Polj.-šumarski fakultet, Zagreb.
- Penzig, O., 1921: Pflanzenteratologie. I Band. 2. Aufl. Verlag Bornträger, Berlin.
- Rižkov, V. A., P. V. Mihajlova i R. M. Pivovarova, 1936: Virusnie bolezni plesenovih. Virusnie bolezni rastenij. Trudi vsesojuznoj akademii s.-h. nauk im. V. I. Lenina, 5.
- Schmelzer, K., 1926/1963: Untersuchungen an Viren der Zier- und Wildgehölze. 1. Mitteilung: Virosen an *Viburnum* und *Ribes*. Phytophat. Z. 46, 17—52.
- Simmons, J. N., 1957: Three strains of Cucumber mosaic virus affecting Bell Pepper in the Everglades Area of South Florida. Phytopathology 47, 145—150.
- Smith, K. M., 1957: A Textbook of Plant Virus diseases. London.
- Tomlinson, J. A., R. J. Shepherd and J. C. Walker, 1959: Purification, Properties and Serology of Cucumber Mosaic Virus. Phytopathology 49, 293—299.
- Uschdorff, H. A., 1955: *Chenopodium quinoa* als Testpflanze für das Gurkenmosaik. Nach.-Bl. dtsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) 7, 151—152.
- Valenta, V., 1958: A new yellows virus causing flower proliferations in the dodder, *Cuscuta campestris* Yunck, Phytopath. Z. 33, 316—318.
- Valenta, V., 1961: Untersuchungen über Stolbur und verwandte Viren. Proceed. fourth conf. potato virus dis. Braunschweig, 146—152.
- Van Tieghem, Ph., 1891: Traité de Botanique, II. Librairie F. Savy, Paris.

## OPIS TABLA — EXPLANATION OF PLATES

Table 1—13. *Datura stramonium*, vegetativni (1—3) i reproduktivni organi (4—13); osim slike n na tabli 5 i slika s i t na tabli 6 koje prikazuju dijelove biljke *Physalis peruviana* var. *pubescens*. Svi crteži bez mjerila izrađeni su u veličini od  $\frac{2}{3}$ .

Plates 1—13. *Datura stramonium*, vegetative (1—3) and reproductive organs (4—13). Only figure n on plate 5 and figures s and t on plate 6 present *Physalis peruviana* var. *pubescens*. All drawings without scale are made in size of  $\frac{2}{3}$ .

### Tabla 1

a zdrava biljka; b biljka inficirana s B11; c, d, f biljka inficirana s B12; e biljka inficirana s B15; b-e zupci najmladih listova produženi i ušiljeni; f sužavanje lista.

### Tabla 1

a healthy plant; b plant infected with B11; c, d, f plant infected with B12; e plant infected with B15; b — e the youngest leaves with elongated and pointed lamina tips; f narrowing of leaves.

### Tabla 2

a, d biljka inficirana s B12; b, c, e biljka inficirana s B15; a deformirani listovi; b, c mjehurasta izbočenja površine lista, nitavost lista, zakržljali cvjetovi; d uvijanje ruba lista prema gore, produžavanje zubača lista; e deformirani listovi.

### Plate 2

a, d plant infected with B12; b, c, e plant infected with B15; a deformed leaves; b, c roughness of leaf surface, shoe-string leaves, stunted flowers; d curving of the leaf margin upwards, prolongation of lamina tips; e deformed leaves.

### Tabla 3

a, b, c biljka inficirana s B12; d, e, f biljka inficirana s B15; g biljka inficirana s B11; a od lijeva na desno: jedan zdravi list i četiri inficirana lista; b mjehurasta izbočenja površine lista; c isto kao a; d deformiran list; e, f vrpce uz nerve; g lokalne pjege na inokuliranom listu.

### Plate 3

a, b, c plant infected with B12; d, e, f plant infected with B15; g plant infected with B11; a left to right: a healthy leaf and four infected leaves; b roughness of leaf surface; c same as figure a; d deformed leaf; e, f vein banding; g local spots on inoculated leaf.

### Tabla 4

a — e različiti stadiji normalnog cvijeta; a — c potpuno razvijeni cvijet; d, e rani stadiji; f — m biljka inficirana s B12; f čaška bez uzdužnih bridova; g vjenčić s bočnom pukotinom i enacijom; h enacije na čaški; i čaška ostala stalno zatvorena; j cvijet prikazan bez čaške, vjenčić s bočnom pukotinom; k dijelovi čaške i vjenčića su različito dugi; l čaška s dubokim urezima, vjenčić zatvoren na vrhu; m čaška ne priliježe uz vjenčić.

TABLA 1 — PLATE 1

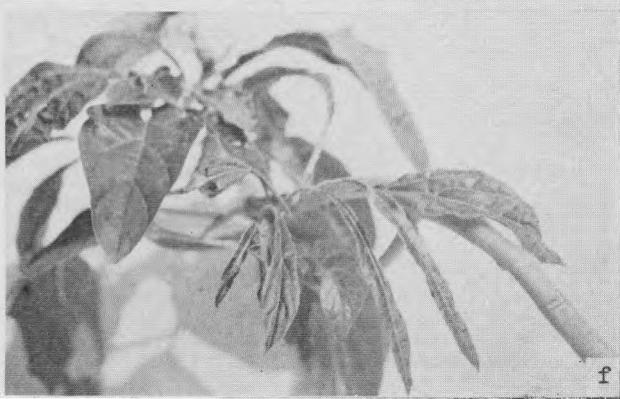
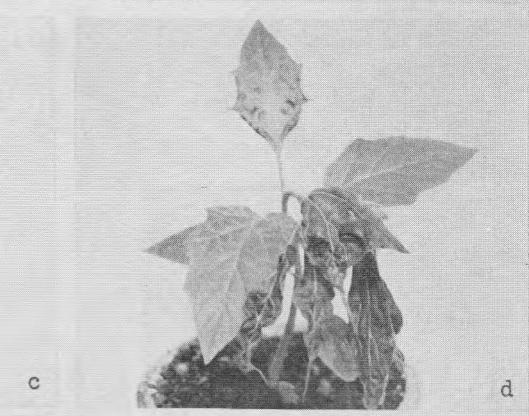
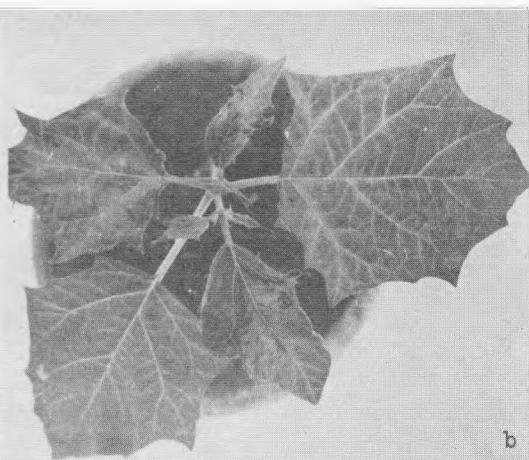
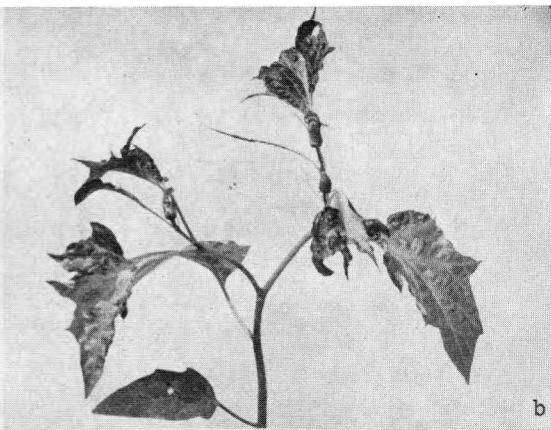
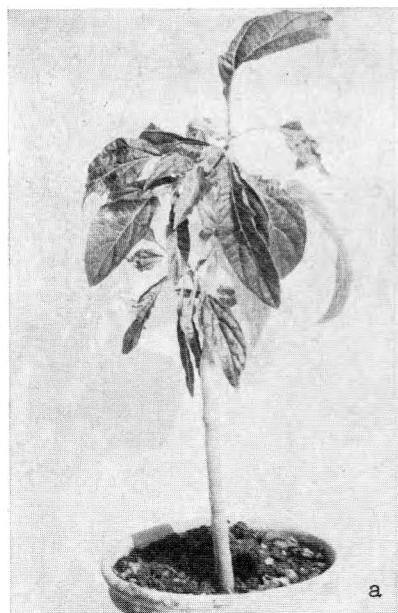


TABLA 2 — PLATE 2



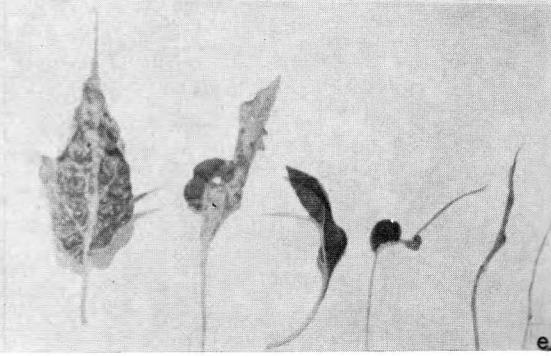
a



b



c



d

e

TABLA 3 — PLATE 3

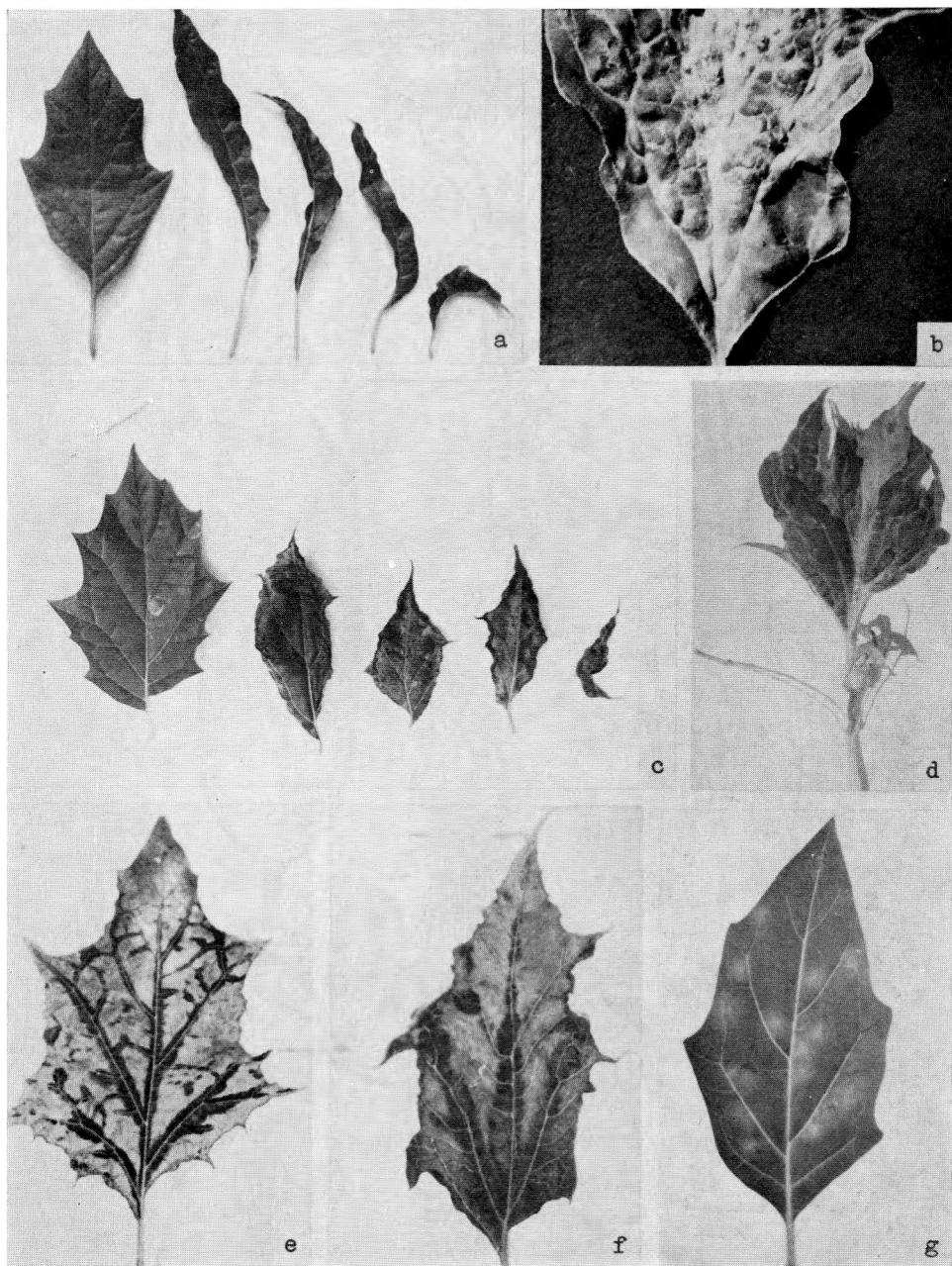


TABLA 4 — PLATE 4

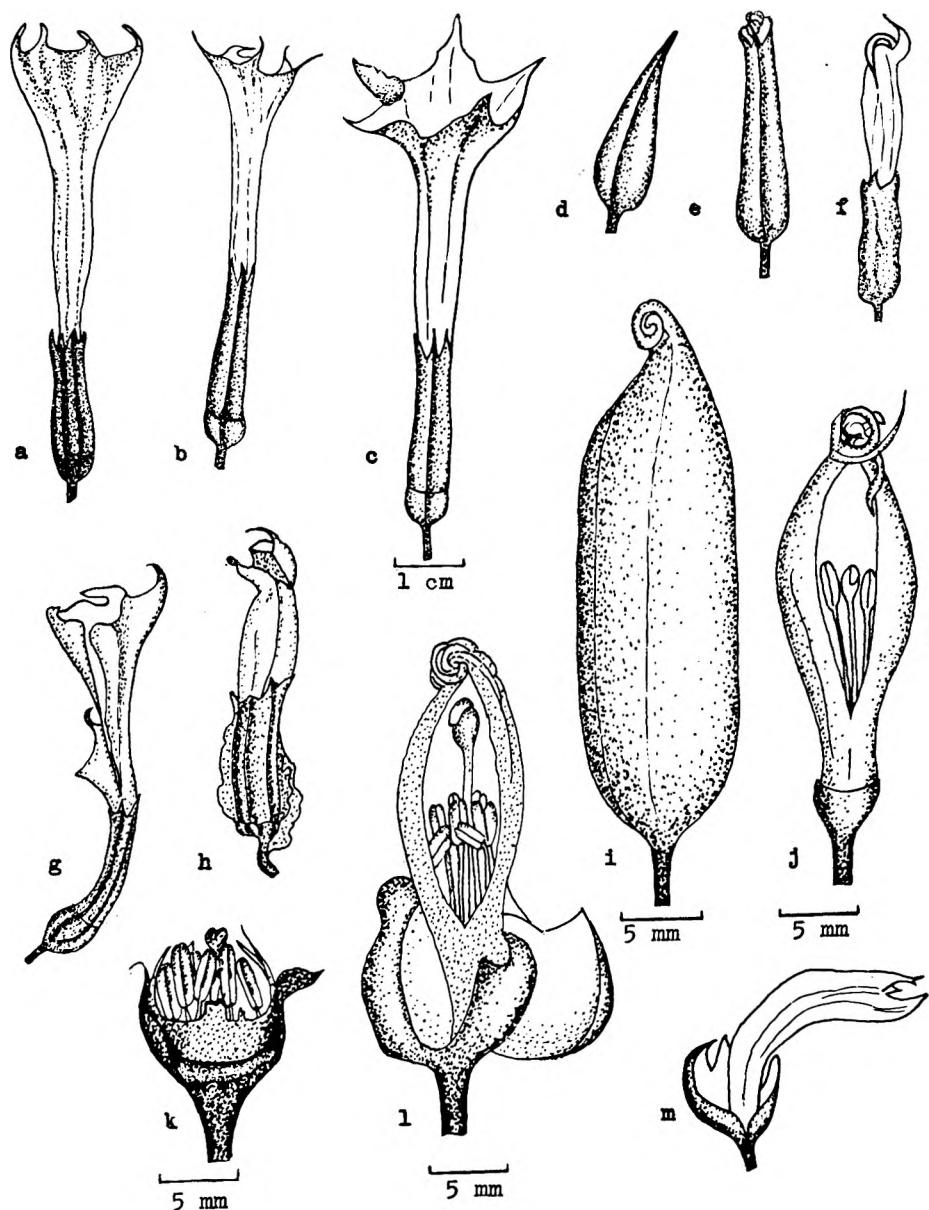


TABLA 5 — PLATE 5

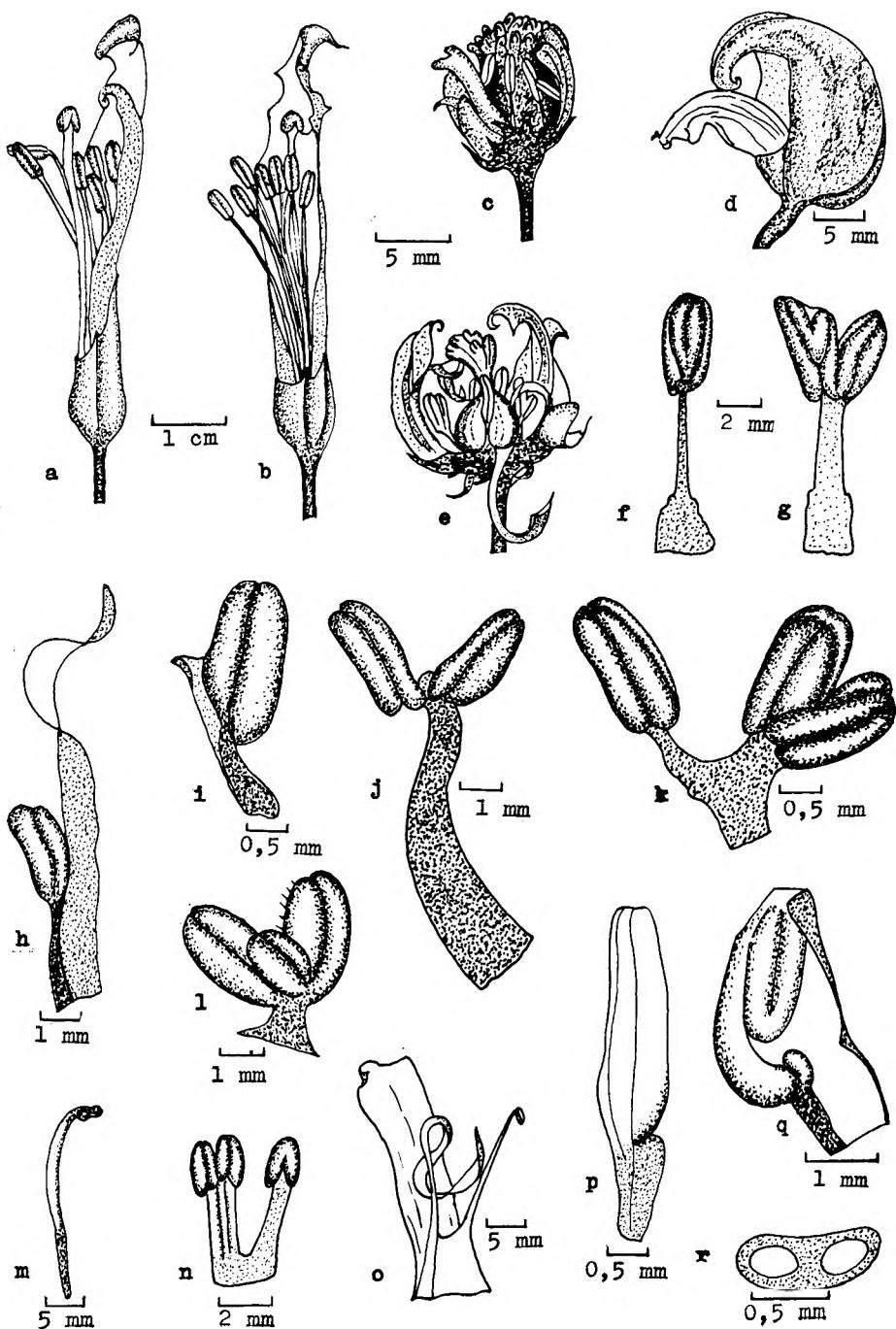


TABLA 6 — PLATE 6

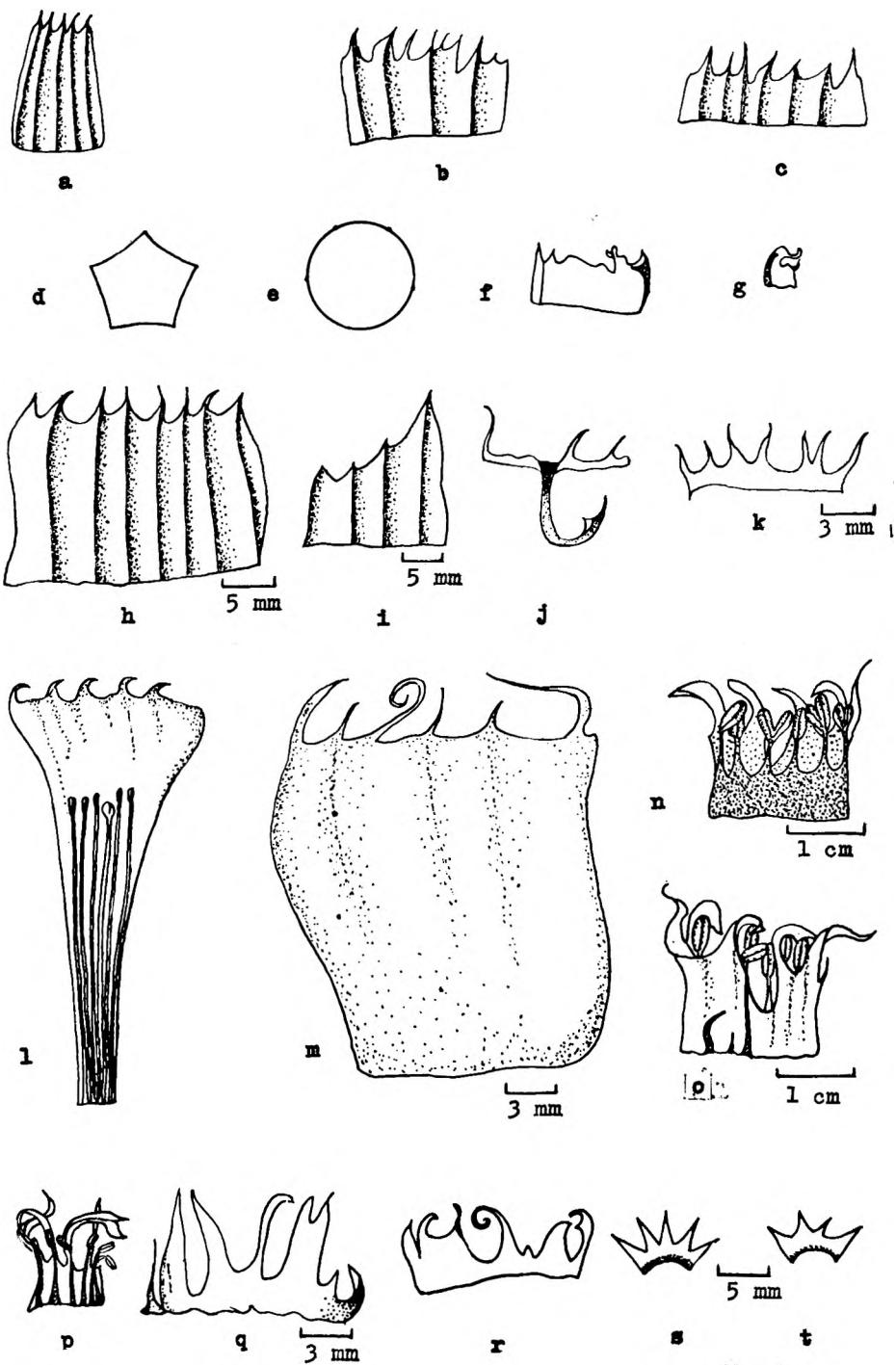


TABLA 7 — PLATE 7

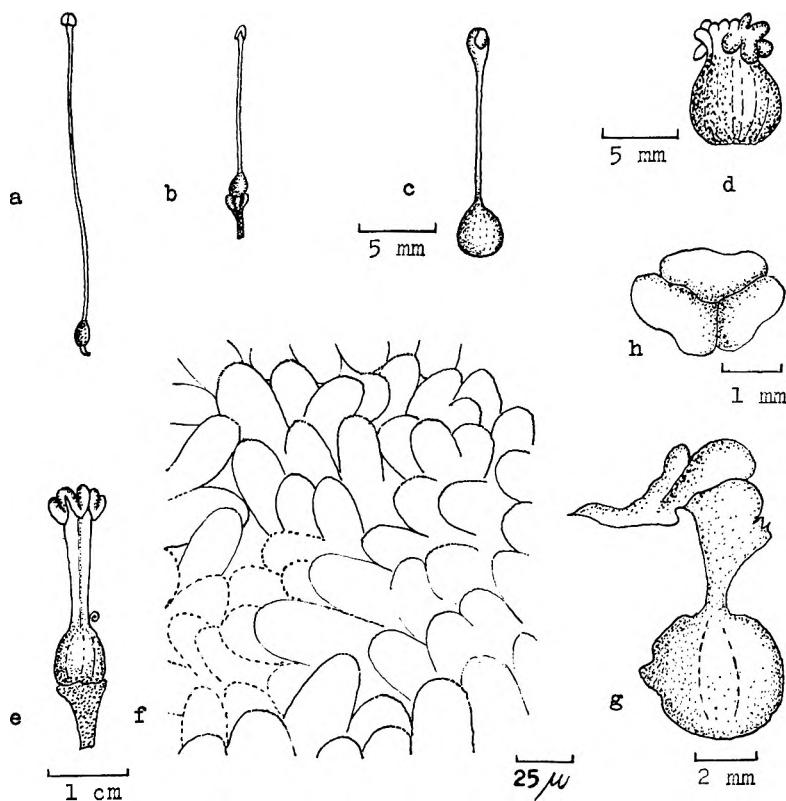
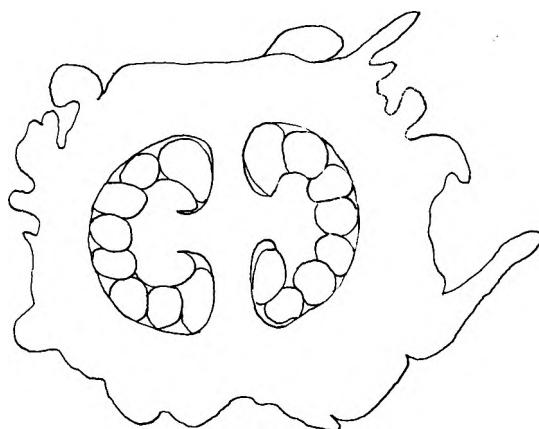
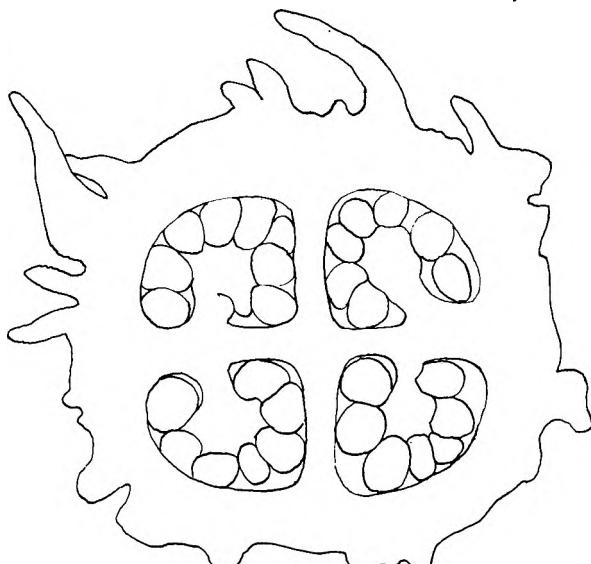


TABLA 8 — PLATE 8

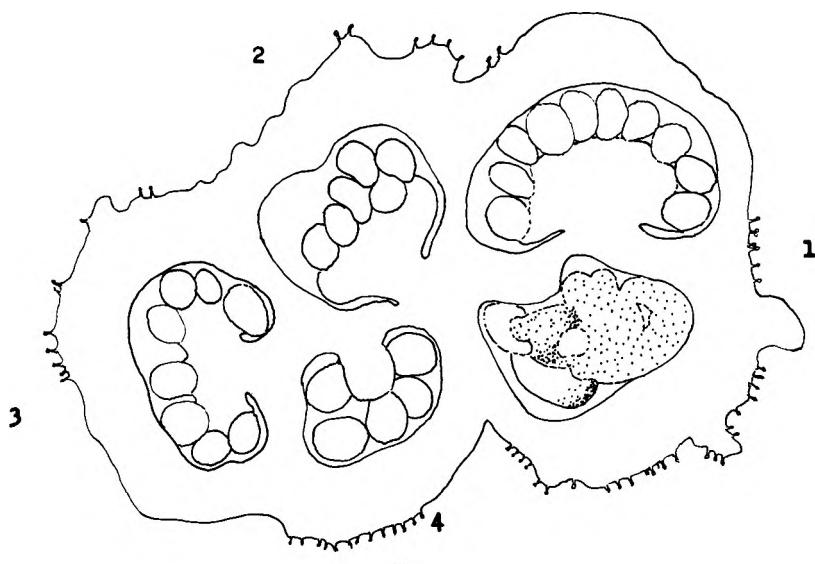


a

0,5 mm



b



0,5 mm

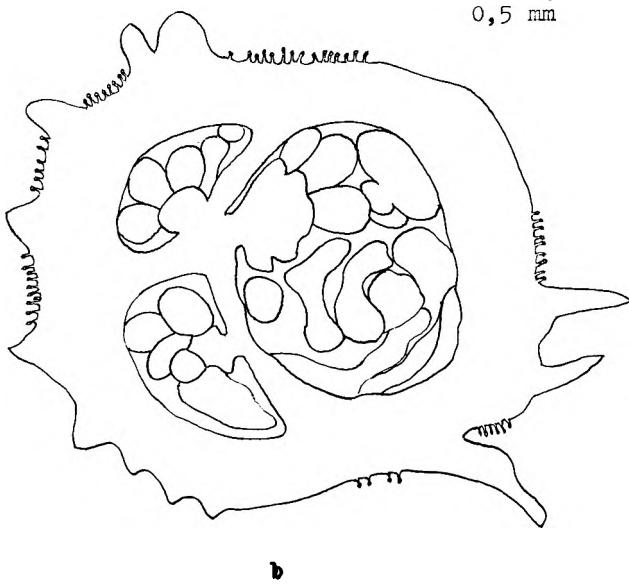
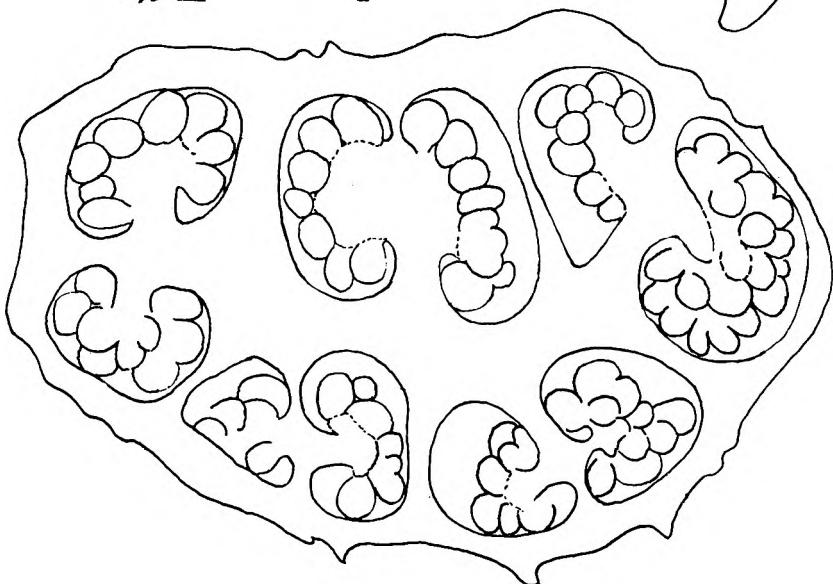
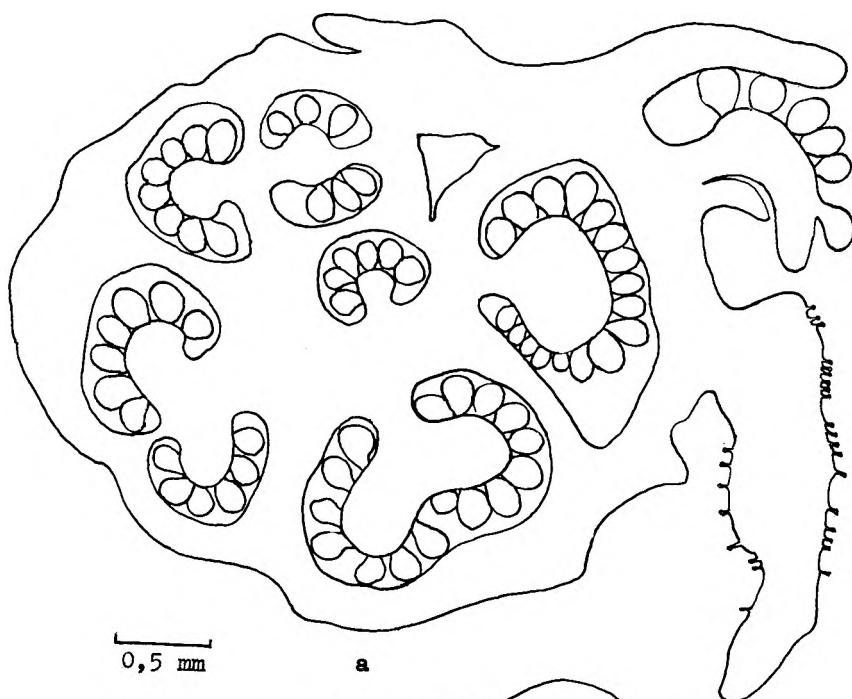


TABLA 10 — PLATE 10



b

TABLA 11 — PLATE 11

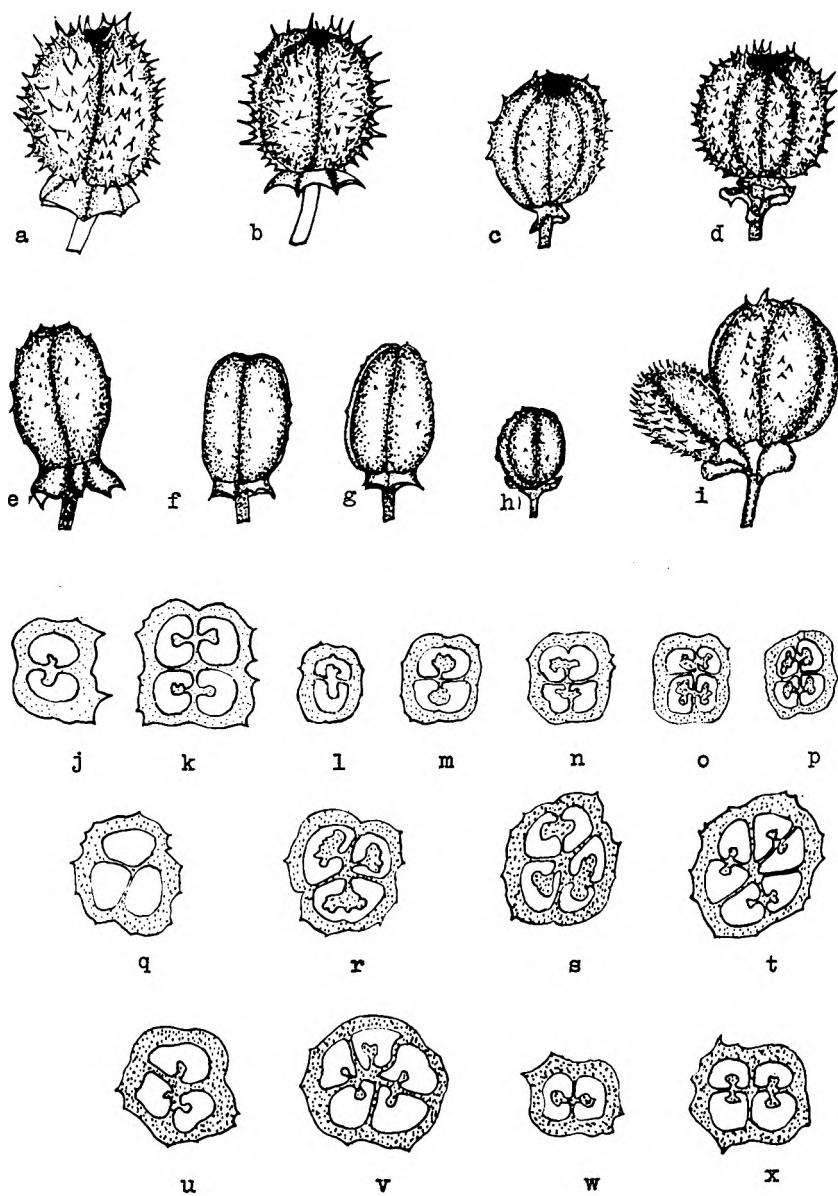


TABLA 12 — PLATE 12

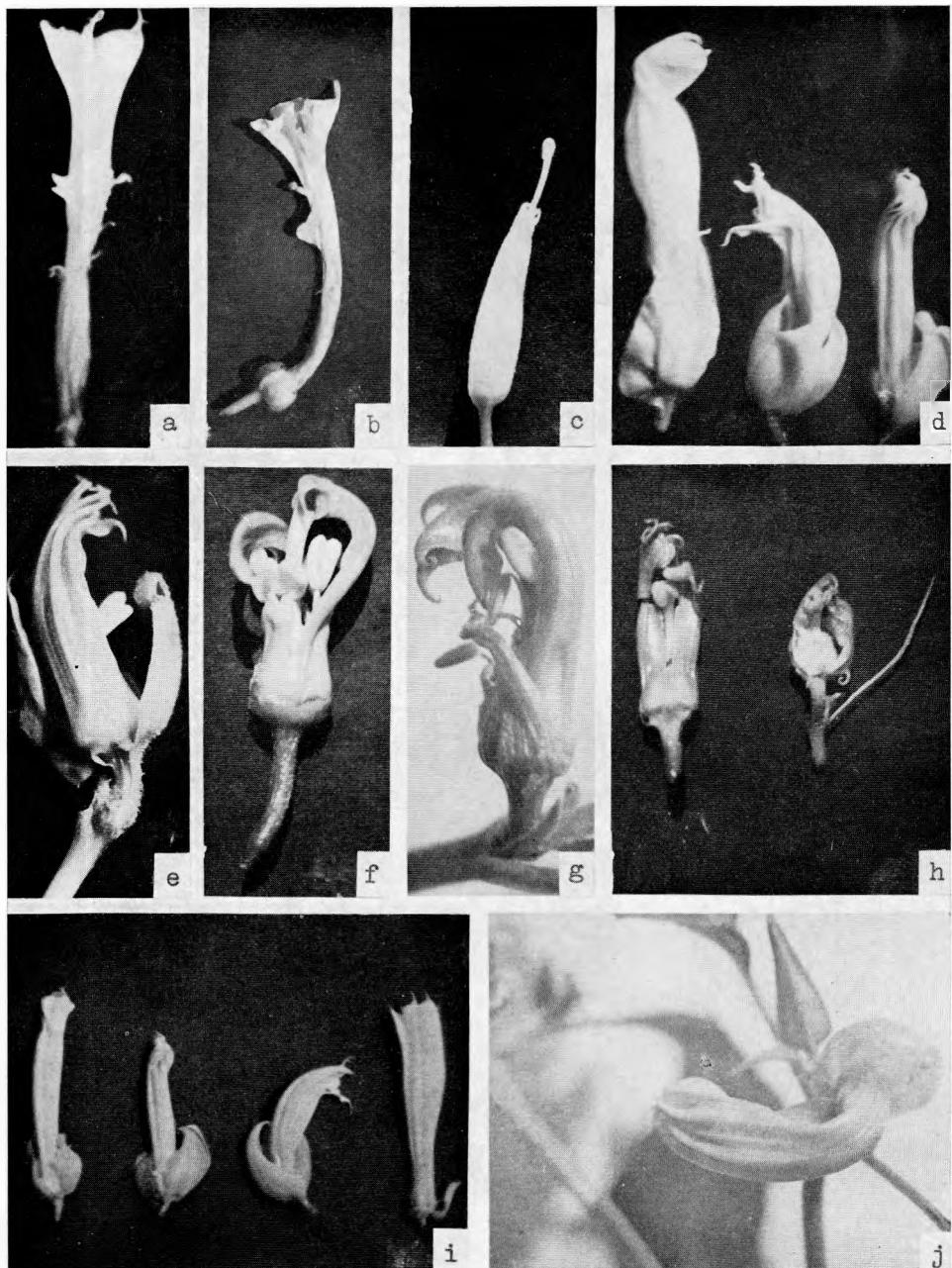


TABLA 13 — PLATE 13



#### Plate 4

*a — e* different stages of normal flower; *a — c* completely developed flower; *d, e* early stages; *f — m* plant infected with B12; *f* calyx without »ribs«; *g* corolla with lateral split and enation; *h* enations on calyx; *i* calyx remains permanently closed; *j* flower presented without calyx, corolla with lateral split; *k* parts of calyx and corolla are of different length; *l* calyx with deeper incisions, corolla closed at the top; *m* calyx does not lean against the corolla closely.

#### Tabla 5

*a — h, j, l, m, n, q* cvjetovi inficirani s B11; *i, k, o, p, r* cvjetovi inficirani s B12; *a, b* dvije slike istog cvijeta, vjenčić s bočnom pukotinom; *c* čaška i vjenčić zakržljali, njuška se sastoji od velikog broja sitnih krpa; *d* čaška je vrlo široka i stalno zatvorena na vrhu; *e* promjene kao na *c*; *f* nesimetrična antera; *g* dvije antere na jednom proširenom filamentu; *h, i* prašnik srastao s vjenčićem; *j* isto kao *g*; *k* tri srasla prašnika; *l* isto kao *k*; *m* transformiran prašnik; *n* *Physalis peruviana* var. *pubescens*: dva srasla prašnika; *o, p* promjena prašnika u lističaste organe; *o* dva prašnika srasla s vjenčićem, jedan prašnik lističast i savijen; *q* kao *h, i; r* poprečni presjek kroz prašnik sa slike *p*.

#### Plate 5

*a — h, j, l, m, n, q* flowers infected with B15; *i, k, o, p, r* flowers infected with B12; *a, b* two figures of the same flower, corolla with lateral split; *c* calyx and corolla stunted, stigma has a great number of minute tips; *d* calyx is very wide and permanently closed at the top; *e* the same alterations as in figure *c*; *f* non symmetrical anther; *g* two anthers on widened filament; *h, i* stamen grown together with corolla; *j* same as figure *g*; *k* three stamens grown together; *l* same as figure *k*; *m* transformed stamen; *n* *Physalis peruviana* var. *pubescens*: two stamens grown together; *o, p* transformation of stamens in leaf-like organs; *o* two stamens grown together with corolla; one stamen leaf-like and folded; *q* same as figures *h, i; r* cross sections through stamen shown in figure *p*.

#### Tabla 6

*b, c, f, g, m, p* biljka inficirana s B12; *h — k, n, o, q, r, t* biljka inficirana s B15; *a — c, f — k* odvojena i rastvorena čaška: *a* normalna čaška; *b, c* oblik i broj zubaca i bridova izmijenjen; *d, e* shematski prikaz poprečnog presjeka kroz normalnu čašku (*d*) i abnormalnu čašku (*e*); *f, g* čaška razvijena samo na jednom dijelu opsega cvijeta; *h — k* različiti oblici deformirane čaške; *l — r* odvojen i rastvoren vjenčić; *l* normalni vjenčić s prašnicima; *m* deformirani vjenčić; *n, o* dvije slike istog vjenčića, *n* unutrašnjost vjenčića, *o* vjenčić s vanjske strane sa zakržljanim dijelovima čaške; *p* deformirani vjenčić; *q, r* vjenčić duboko urezan; *s, t* *Physalis peruviana* var. *pubescens*; *s* normalna čaška, *t* abnormalna čaška.

#### Plate 6

*b, c, f, g, m, p* plant infected with B12; *h — k, n, o, q, r, t* plant infected with B15; *a — c, f — k* calyx separated and opened: *a* normal calyx; *b, c* form and number of tips and "ribs" altered; *d, e* scheme of cross section through normal (*d*) and abnormal calyx (*e*); *f, g* calyx developed only in one part of its extent; *h — k* different forms of deformed calyx; *l — r* separated and opened corolla; *l* normal corolla with stamens; *m* deformed corolla; *n, o* two figures of the same corolla, *n* the inside of corolla, *o* the outside of corolla with stunted parts of calyx; *p* altered corolla; *q, r* corolla deeply incised; *s, t* *Physalis peruviana* var. *pubescens*; *s* normal calyx, *t* abnormal calyx.

### T a b l a 7

*a* normalni tučak; *b* — *h* promjene na tučku; *b*, *c*, *g*, *h* biljka inficirana s B12; *d* — *f* biljka inficirana s B15; *b*, *c* skraćeni tučak; *d* sitne krpe na njušci; *e* tučak sa šest krpa na njušci; *f* papile sa sitnih krpa njuške; *g* izmijenjeni tučak; *h* njuška sa tri krpe.

### P l a t e 7

*a* normal pistil; *b* — *h* alterations on pistil; *b*, *c*, *g*, *h* plant infected with B12, *d* — *f* plant infected with B15; *b*, *c* shortened pistil; *d* minute tips on stigma; *e* pistil with six tips on stigma; *f* papillose hairs on stigma tips; *g* altered pistil; *h* stigma with three tips.

### T a b l a 8

*a*, *b* poprečni presjek kroz normalnu plodnicu: *a* gornji dio, *b* donji dio.

### P l a t e 8

*a*, *b* cross section of normal ovary: *a* upper part; *b* lower part.

### T a b l a 9

*a* biljka inficirana s B15; *b* biljka inficirana s B12; *a* plodnica se sastoji od četiri karpela (brojevi 1—4); *b* nejasno je od koliko se karpela plodnica sastoji.

### P l a t e 9

*a* plant infected with B15; *b* plant infected with B12; *a* ovary consists of four carpels (numbers 1 to 4); *b* number of carpels difficult to determine with certainty.

### T a b l a 10

*a*, *b* biljka inficirana s B15; *a* plodnica se sastoji od većeg broja karpela, bočno je otvorena; *b* plodnica se sastoji od pet karpela.

### P l a t e 10

*a*, *b* plant infected with B15; *a* ovary composed from several carpels; aperture of ovary placed laterally; *b* ovary composed of five carpels.

### T a b l a 11

*c* — *h*, *l* — *t*, *w*, *x* plod inficiran s B12; *i*, *u*, *v* plod inficiran s B15; *a*, *b* normalni plod; *c* — *i* na pojedinim mjestima ploda bodlje su jako ili posve zakržljale; *j*, *k* dva poprečna presjeka kroz normalni plod: *j* gornji dio, *k* donji dio; *l* — *p* pet poprečnih presjeka kroz jedan plod: *l* — *n* gornji dio, *o*, *p* donji dio, broj karpela je normalan; *q* — *t* niz poprečnih presjeka u različitim visinama istog ploda, tri karpela; od vrha (*q*) prema bazi (*t*) povećava se broj pretinaca; *u*, *v* dva poprečna presjeka kroz isti plod; *w* *x* isto kao *u*, *v*.

### P l a t e 11

*c* — *h*, *l* — *t*, *w*, *x* fruit infected with B12; *i*, *u*, *v* fruit infected with B15; *a*, *b* normal fruit; *c* — *i* spines of fruit lacking or strongly stunded on single places; *j*, *k* normal fruit: *j* cross section of upper part, *k* cross section of lower part of the same fruit; *l* — *p* five cross sections of a fruit: *l* — *n* sections of upper part, *o*, *p* of lower part of fruit; number of carpels normal. *q* — *t* series of cross sections of different heights of the same fruit (three carpels); number of carpel cells increase from top (*q*) toward basis (*t*); *u*, *v* two cross section of a fruit; *w*, *x* same as figures *u*, *v*.

### T a b l a 12

*a, b, d, e, g* cvijet inficiran s B12; *c, f, h, i, j* cvijet inficiran s B15; *a, b* enacije na vjenčiću; *c* vrat tučka manje skraćen od vjenčića; *d* čaška urezana i šira od normalne; *e* vjenčić s bočnom pukotinom; *f* zakržljala čaška, vjenčić s pet dužih zubaca; *g* vjenčić s bočnom pukotinom i dužim zupcima; *h* pukotine u vjenčiću; *i, j* proširena i urezana čaška.

### P l a t e 12

*a, b, d, e, g* flower infected with B12; *c, f, h, i, j* flower infected with B15; *a, b* enations on corolla; *c* style of pistil less shortened than the corolla; *d* calyx incised and broader than normal; *e* corolla with one lateral split; *f* studded calyx, corolla finishes with longer tips; *g* corolla with lateral split and longer tips; *h* lateral splits in corolla; *i, j* widened and split calyx.

### T a b l a 13

Biljka inficirana s B15: karpeli na vrhu plodnice ostali otvoreni, kroz otvor vidi se unutrašnjost plodnice. Povećano 15 puta.

### P l a t e 13

Plant infected with B15: carpels at the top of ovary remain open, the inside of the ovary seen through the aperture at the top. Magnified 15×.

## S U M M A R Y

### LEAF AND FLOWER DEFORMATIONS OF DATURA STRAMONIUM L. INFECTED WITH THE CUCUMBER MOSAIC VIRUS

Nikola Juretić

(Botanical Institute of the University Zagreb)

Some plant viruses do not cause only alterations of vegetative organs but also deformations of flowers and fruit. The changes of flowers can be developed in different ways, for example as reduction, deformations, antholysis etc. The last term indicates all intermediate stages between a normal flower and an entirely vegetative leafy branch (Bos 1963).

Today a great number of viruses are known that cause anomalies of reproductive organs of their hosts (Palm 1933; Michailowa 1936; Valenta 1958, 1961; Bos 1963; Milićić 1964). Although deformations of generative organs are not a rare phenomenon, they are nevertheless less frequently described in relation to deformations of vegetative organs. For example it is known that the cucumber mosaic virus (CMV) causes alterations of leaf on many hosts, but only few facts about deformations of reproductive organs under the influence of CMV have been described.

Some strains of CMV cause severe alterations even on *Datura stramonium*. The type strain of CMV produces only colour deviations in leaves (Smith 1957). The strains investigated by Hein (1957) and Delević

(1963) produce similar symptoms. According to Kováčevský (1965) many strains of CMV in Bulgaria do not cause symptoms on *Datura*. However, Lovisolo and Bennett (1961) in Italy have described the so-called "alloiophyll" strain which produces strong mosaic symptoms and deformations of leaves on *Datura stramonium*. Many isolates from Bulgaria and Rumania also cause deformations of leaves and moreover, alterations of flowers and fruit (Kováčevský 1965). Aubert (1960) also reported that CMV produces anomalies of leaf and severe deformations of flowers and fruit (spiralisation of flowers, disorganization of corolla, partial or entire suppression of spines on the capsules). These data, Aubert's and Kováčevský's, are the only facts which we have found in the literature about the anomalies on reproductive organs of *Datura stramonium*.

In this paper we shall describe our investigations of five strains of CMV that all cause deformations of *Datura stramonium* leaves. Besides that four of these five strains produce anomalies of flower and fruit. Because Aubert (1960) and Kováčevský (1965) have not described these deformations of flowers and fruit of *Datura stramonium* in detail we shall do it here.

We have experimented with the following strains: B11, B12, B13, B14 and B15. The strains B12 and B14 are come from Yugoslavia; they were undetermined at the beginning of the research. Strain B12 is isolated from infected tomato plant cultivated in field near Zagreb, strain B14 from a plant from the Botanical garden of Zagreb University. Both strains belong to the green strains of CMV. Strain B11, also a green strain of CMV, has been obtained from the Institute for Phytopathology of Halle University. Strain B13, a white strain of CMV, came from England. This strain we have obtained by kindness of Dr. K. Schmelzer from the Institute for Phytopathology Aschersleben (East Germany). Strain B15, which we have got by kindness of Dr O. Bode (Biologische Bundesanstalt Braunschweig, West Germany), is a yellow strain from USA. The isolates from Yugoslavia (B12, B14) have been identified first by the reactions on the test plants.

The studied strains were transmitted by means of mechanical inoculation to differential host plants. The list of the host plants is on table 1. From five strains which we have investigated four strains (B11, B12, B13, B15) can cause deformations on the reproductive organs of *Datura*. We were able to observe that strain B15 produces deformations on *Physalis peruviana* var. *pubescens* as well (pl. 5, n; pl. 6, s, t). The alterations on the reproductive organs of the other tested plants have not been observed.

Besides, on basis of the comparison of test plants symptoms which cause our undetermined isolates B12 and B14 on the one hand, and the exactly determined strains B11, B13 and B15 on the other hand, we have identified our isolates also by the cross-protection test. In the last experiments we have used the "white" strain B13 and the "yellow" strain B15.

The cross-protection test was performed with 30 *Nicotiana tabacum* var. "Hicks resistant" plants. As no tobacco plant that was infected first with the green isolate B12, and then superinoculated with the yellow CMV strain B15, had developed the yellow mottling, it was unambiguously demonstrated that isolate B12 protects the test plant from an additional infection with the yellow strain.

The cross-protection test with the isolate B14 was performed in the same manner as with the isolate B12. In this test also the tobacco plants, that were first infected with the green isolates B14, were immune against the additional infection with the yellow strain B15.

The cross-protection test with the strain B12 was performed yet in another manner, that is by making use of the "white" strain B13 and *Nicotiana megalosiphon*. The green isolate B12 causes a mottling on *Nicotiana megalosiphon*, whereas the white strain B13 produces necrotic spots on the inoculated leaves of this plant. These differences make it possible to establish whether the isolate B12 protects *Nicotiana megalosiphon* from an additional infection with the strain B13 or not. After superinoculation with B13 we have not observed any necrotic spots on the leaves of *Nicotiana megalosiphon*.

By these tests it was clearly proved that our strains B12 and B14 belong to CMV. The results of the investigations of physical properties, which are presented on table 2, also confirm this conclusion.

All the five strains of the CMV produce very intense alterations on *Datura stramonium* leaves. These symptoms are similar to the ones described by Lovisolo and Benetti (1961), and Kováčevský (1965). The symptoms are the following: mottling, curving of the margins of leaves upwards, roughness of the surface, prolongation of the lamina tips, shortening of the leaf, reduction of lamina parts etc. These alterations are presented on pl. 1-3. We stress that strain B14 causes relatively minute changes on the leaves of the *Datura stramonium*. Strains B11 and B12 produce more intense alterations and they are nearly identical. The yellow strain B15 and the white strain B13 cause the most intense deformations on the leaves. These strains are different from the green ones in that they can cause shoe-string leaf (pl. 2, b, c, e; pl. 3, d).

From the five strains which we have transmitted to *Datura stramonium*, four strains cause deformations on flower and fruit; only strain B14 does not produce anomalies of the reproductive organs.

We shall easily notice the variability and the depth of flower and fruit alterations if we compare the ill flowers and fruit with the healthy ones. Pl. 4, d represents the normal flower in an early stage of development. An older flower can be seen on pl. 4, e, and a completely developed flower on pl. 4, a-c. The completely developed flower is about 7 cm long and it is composed of five sepals and petals grown together and also from five stamens. The ovary is composed of two carpels (pl. 8, a, b; pl. 11, j, k). The single parts of a normal flower are presented also on pl. 6, a, l; pl. 7, a; pl. 11, a, b.

As the flower symptoms caused by strains B11 and B12 on the one hand and by strains B13 and B15 on the other hand are very similar we shall describe only the anomalies caused by the green strain B12 and the yellow strain B15. Alterations on infected flowers and fruits are represented on pl. 4–13. When *Datura stramonium* plants are infected early, that is in a stage with three to four leaves, almost all flowers have an abnormal development. The most obvious anomalies are shortening of flower, and severe alterations of calyx, corolla and pistil.

The anomalous calyx shows apart from considerable shortening (pl. 4, *k*; pl. 6, *c, h, i*) also other abnormalities. Sometimes, for instance under the influence of both strains the calyx remains permanently closed while in normal flowers it opens at the top and it lets the other flower parts pass out (pl. 4, *i*; pl. 5 *d*). The cross section of the normal calyx shows that it has the form of an irregular pentangle (pl. 6, *d*). The abnormal calyx has also the form of an irregular pentangle (pl. 6, *e*) but its sides are not concave as in the normal calyx but they are convex.

In order to be able to study the calyx parts more easily we have separated it from the flower in the place where it is attached to the receptacle, and then we have cut it lengthwise and opened it (pl. 6, *a–c, f–k*).

Strains B12 and B15 cause the parts of the calyx to become of different length (ph. 4, *k*; pl. 6, *i*). The calyx can be split in one place or in several places on its margins, with shorter or deeper incisions, which sometimes can reach the basis of the calyx (pl. 4, *m*; pl. 12, *d, i*). Moreover, the calyx can be completely stunted in one or more places of its normal extent so that it does not anymore have the shape of a tube which surrounds other flower parts (pl. 6, *o*; pl. 5, *e*). In some cases, the calyx can be developed only in one little part of its normal extent so that it becomes scale-like (pl. 6, *g*; pl. 12, *i*).

The anomalous calyx can often be broader than the normal one; in that case it does not lean against the corolla closely (pl. 4, *l, m*; pl. 12, *d, j*). Such a broad calyx can be also deeply incised (pl. 4, *l*).

While the normal calyx has five longitudinal "ribs", more or fewer than five of them can be developed on the deformed calyx. The "ribs" can disappear in some cases entirely (pl. 4, *f*; pl. 6, *k*; pl. 12, *d*), and the cross section of the calyx has the form of a regular circle. On a deformed calyx the number of tips may be greater or smaller than five (pl. 6, *c, h, i*). The stunted calyx can in both strains be completely or partially grown together with the corolla (pl. 12, *g*). Sometimes strain B12 causes outgrowths, that is enations on the infected calyx (pl. 4, *h*). The surface of the deformed calyx is usually rough, and the parts of the stunted calyx are easily broken.

The corolla as well as calyx are shortened under the influence of both strains. The deformed corolla has often the length from 2 to 5 cm instead of 7 cm. The anomalous corollas in their lower parts are broader than the normal ones (pl. 6, *l–o*). While the normal corollas are snow-white, the deformed ones can be green.

The anomalous shape of corolla has been studied just as the calyx. We have separated the corolla from the other flower parts and then we have cut it lengthwise and opened it (pl. 6, *l-r*).

Short or deep incisions can arise along the corollas. Mostly, only one lateral split, which does not reach the basis of the corolla can be formed. Through the split on the corolla we can see the internal parts of the flower (pl. 4, *g, j-l*; pl. 5, *b-e*; pl. 6, *q, r*; pl. 12, *e-h*). Both strains B12 and B15 cause also deformations at the top of the corolla. While the normal corollas finish with five short tips at the top, the abnormal ones finish with longer tips or thread-like appendages (pl. 4, *a-c, k*; pl. 5, *a*; pl. 6, *m, o, p*; pl. 12, *f, g*). The appendages are often curved and can interweave. On account of that the corolla is closed at the top (pl. 4, *j, l*). Under the influence of strain B15 the parts of the corolla can grow together with the stigma of the pistil. Strain B12 can cause evaginations on the corolla (pl. 4, *g*; pl. 12, *a, b*).

Strains B12 and B15 produce also deformations on the stamens, especially shortening of filaments, that are about 6 cm long in normal plants. Because of the considerable shortening of filaments, the stamens can become only several mm long (pl. 4, *k*; pl. 5, *e*). The infected flowers usually have also a greater number of stamens than the normal ones; instead of five stamens the deformed flowers can have six to ten. Moreover, a number of other different deformations can arise in the stamens as well. For example the anomalous stamens can grow together (pl. 5, *g, j-l*; pl. 6, *n*). Because of that two or even three anthers can arise on one widened filament (pl. 5, *g, j, l*). The stamens can also grow together with the corolla (pl. 5, *h, i, q*). Besides that both strains can cause transformation of stamens into leaf-like organs (pl. 5, *o, p*). The cross sections of such stamens (pl. 5, *r*) can show only two instead of four cavities.

Along with the shortening of the other flower parts, the style of the pistil also becomes shorter (pl. 4, *k*; pl. 7, *a-d*). Strain B15 can cause a disappearing of the style entirely so that the stigma is placed directly on the ovary (pl. 5, *c*). Sometimes the style is less shortened than the corolla and thus the style sticks out from the tube of the corolla (pl. 12, *c*). The stigma and the ovary are usually somewhat bigger than those of the normal pistil.

The deformed pistils have often a greater number of tips on the stigma (pl. 7, *e, h*). The stigma is often strongly deformed under the influence of strain B15 and in many cases it has several minute tips covered with papillose hairs on their surface (pl. 5, *c, e*; pl. 7, *d, f*).

The normal ovaries or the fruit are composed of two carpels; they are two-celled at the top and four-celled at the basis. The number of carpels and ovary cells in the less deformed fruit can be the same as in the normal one (pl. 11, *l-p, w, x*). However, sometimes the deformed fruit has an increased number of carpels and ovary cells. For example on pl. 11, *q-t* are represented four sections of different heights of a fruit. This fruit, infected with strain B12 is composed of three carpels. Similar relations exist also in the fruit on pl. 11, *u, v*. Anomalous ovaries can be

composed even of five carpels (pl. 10, b). Sometimes the anomalies are so complicated that we cannot with certainty establish of how many carpels the ovary is made (pl. 9, a, b). Strain B15 causes a specially interesting anomaly where the carpels at the top of the ovary remain open (pl. 13); through that aperture we can see the inside of the ovary. The aperture at the top of the ovary is often placed laterally as well (pl. 10, a). On account of that the placenta with ovules is exposed to outer conditions directly. The spines in particular places of the deformed fruit often lack completely or are strongly stunted (pl. 11, c, e-i).

On basis of the described symptoms we can see that strains B13 and B15 produce the most severe anomalies. Besides the shoe-string leaf they cause also peculiar alterations of the stigma (formation of an aperture at the top of the stigma, of a great number of stigma tips). On the contrary the green strains B11 and B12 are comparatively milder strains; they produce neither the shoe-string leaf nor the opening of the pistil. According to these considerable differences it is easy to differentiate strains B13 and B15 on the one hand from strains B11 and B12 on the other hand. The point to stress is that deformations of leaf, flower and fruit of *Datura stramonium* can arise in both groups of CMV strains, the green and the yellow.

From these data we can see that the investigated strains on the leaf of *Datura stramonium* cause similar alterations to those which Lovisolo and Benetti (1961) have described in Italy. Strains B11, B12, B13 and B15, according to the alterations which they cause on the leaf, the flower and the fruit of this plant, agree considerably with a group of CMV strains which Kováčevský (1965) has described in Bulgaria. As strain B13 comes from England and strain B11 from Germany, we can conclude that the strains of CMV that cause deformations on *Datura* are spread all over Europe. On basis of the symptoms caused by strain B15, that comes from USA, we can consider that these strains of CMV exist in America as well.