

ISTRAŽIVANJA O VIRUSIMA PRSTENASTE
PJEĀAVOSTI TREŠNJE

Mit deutscher Zusammenfassung

NADA PLEŠE I NIKOLA JURETIĆ

(Iz Instituta za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 6. III. 1968.

Uvod

Virusna oboljenja voćaka vrlo su česta i različita, a utvrđena su u gotovo svih vrsta voćaka. Mnoge viroze voćaka uzrokuju smanjivanje priroda i pogoršavaju kvalitet plodova te zbog toga imaju naročit gospodarski značaj.

Dosadašnjim istraživanjem utvrđeno je i kod trešanja više različitih bolesti među kojima su najpoznatije uvijenost lista trešnje, pfejniška bolest te prstenasta pjeĀavost trešnje. Ova posljednja bolest predstavlja skupinu virusnih oboljenja trešnje koju prema razdiobi Kelgera (1963, 1965) čine ovi virusi:

1. Virus klorotične prstenaste pjeĀavosti (VKPP); (chlorotisches Ringfleckenvirus, chlorotic ringspot virus). Ovaj virus uzrokuje i simptome žutice višnje (cherry yellow), koćenje rasta breskve (peach stunt), zatim prstenastu pjeĀavost (ring mottle) trešnje (Posnette 1954) i kržljavost (prune dwarf) na talijanskoj šljivi.
2. Virus nekrotične prstenaste pjeĀavosti (VNPP); (nekrotisches Ringfleckenvirus, necrotic ringspot virus) uzrokuje karakteristične simptome rupičavosti lista trešnje, pa je poznat i pod imenom »tatter leaf« (Willison, Berkeley i Hildebrand 1951).
3. Virus klorotično-nekrotične prstenaste pjeĀavosti (VKNPP), (chlorotisch-nekrotisches Ringfleckenvirus, chlorotic-necrotic ringspot virus). Navedeni virus također uzrokuje kržljavost (prune dwarf) na talijanskoj šljivi.

Virusi skupine prstenaste pjegavosti trešnje uzrokuju na listovima svojih domadara trešnji i višnji klorotične ili nekrotične pjege i prstenove, pojavu enacija, kržljivost te smanjenje uroda i sl. No često ovi virusi u spomenutim domadarima ostaju duže vrijeme latentni, pa su tada stabla na izgled zdrava. Osim trešnje i višnje njihovi domadari mogu biti šljiva i breskva, u kojima su ovi virusi najčešće latentni.

Virusna oboljenja prstenaste pjegavosti trešnje utvrđena su u Jugoslaviji i u mnogim drugim evropskim zemljama. U Jugoslaviji je Jordović (1955) u voćnjaku Instituta za voćarstvo u Čačku konstatirao infekciju VKPP na talijanskoj šljivi, gdje je taj virus prouzrokovao karakteristične »prune dwarf« simptome, a nešto kasnije (Jordović 1958) otkrio je na listovima mnogih stabala trešnje simptome »ring mottle«. Jordović (1958) je pronašao u Čačku na nekim stablima trešnje i drugi virus iz skupine prstenaste pjegavosti trešnje, tj. VNPP, koji je na listovima uzrokovao nekroze i rupičavost ili »tatter leaf« simptome.

U Hrvatskoj je Šarić (1966) na trešnji također pronašla virus koji je pomoću zeljastih test-biljaka i drvenastih indikatora identificirala kao VKPP.

U 1965. godini počeli smo vršiti prva istraživanja u vezi s virusnim bolestima voćaka. Istraživanja smo izvršili na šljivi i stablima trešnje iz Zagreba i okolice. Već su početna ispitivanja ukazala na to, da bi tretirana stabla mogla biti inficirana virusima iz grupe prstenaste pjegavosti trešnje.

U toku tih istraživanja detaljnije smo proučili i analizirali dva virusna izolata, a na stablima trešnje iz okolice Zagreba izvršena su orijentaciona istraživanja, kako bi se utvrdilo da li su virusno oboljela i u kojoj mjeri su viroze na trešnjama raširene kod nas.

Materijal i metode

Porijeklo istraživanih virusa

Glavni dio našeg rada sastojao se u proučavanju svojstava i identifikaciji dvaju virusnih izolata. Izolat pod oznakom Tv potjecao je iz trešnje (*Prunus avium* L.), koja raste u Botaničkom vrtu Sveučilišta u Zagrebu. Ova je trešnja donesena u vrt kao 2—3-godišnji sjemenjak, i to iz šume južnih obronaka Zagrebačke gore. Da li je ona bila inficirana već tada kao mlada biljka, nije nam poznato. Na stablu trešnje nema sigurnih vanjskih simptoma virusnog oboljenja. Drugi izolat pod oznakom Šv potjecao je iz šljive koja također raste u Botaničkom vrtu. Ovdje se izolat Šv nalazio u mješovitoj infekciji s virusom šarke šljive, koji je na listovima prouzrokovao karakteristične simptome u obliku žućkastozelenih i crvenkastosmeđih prstenova i pjega.

Virusne izolate Tv i Šv identificirali smo pomoću diferencijalnih zeljastih test-biljaka, drvenastih indikatora, određivanjem fizikalnih svojstava, a izvršili smo i serološka istraživanja.

Osim toga izveli smo i orijentaciona istraživanja na virusima trešanja iz okolice Zagreba (mjesto Lukšić). Pri tom smo ispitali dvadesetak stabala trešnje.

Način prenošenja i rad sa test-biljkama

Izolaciju virusa Tv iz trešnje i Šv iz šljive izvršili smo pomoću pogodne test-biljke *Cucumis sativus* L. sorta Delikates na kojoj su izolati Tv i Šv razmnoženi i održavani. Korištenjem krastavaca kao izvora virusnog materijala isključeno je prisustvo raznih tvari koje inhibiraju razmnožavanje virusa, a kojih ima naročito mnogo u lišću drveća. Viruse smo prenijeli na krastavac inokulacijom kotiledona infektivnim sokom pomoću karborunduma. Za dobivanje infektivnog soka upotrebljavali smo mlade lisne pupove trešnje odnosno šljive, koji su homogenizirani u tarioniku uz dodatak 0,015 M otopine DIEKA (Na-dietilditiokarbamat) kao stabilizatora, i to u težinskom omjeru 1 : 1.

Kao izvor virusa za mehaničku inokulaciju zeljastih test-biljaka, prilikom identifikacije izolata Tv i Šv, služili su nam svježe inficirani kotiledoni krastavaca. Kotiledone smo upotrebljavali 2—4 dana poslije pojave prvih simptoma, budući da je tada koncentracija virusa u njima najveća (Fulton 1957, 1959). Kotiledoni su dobro homogenizirani u tarioniku uz dodatak 0,03 M fosfatnog pufera pH 7,5 — 8. Dobiveni homogenat služio je kao inokulum.

U postupku identifikacije izolata na drvenastim indikatorima izvršili smo prenošenje virusa na indikatore direktno iz matičnog stabla, tzv. cijepljenjem sa trijeskom (chip budding).

Eksperimente sa zeljastim test-biljkama izvršili smo u stakleniku, a sa drvenastim indikatorima u stakleniku i u prirodi, i to od veljače do kolovoza kao i u jesenskim mjesecima. U pokusima sa zeljastim test-biljkama upotrebljavali smo 6—7 primjeraka od svake vrste, a pokusi su ponovljeni 1—2 puta. U pokusima s drvenastim indikatorima inficirali smo 1—2 primjerka od svake upotrebene sorte.

Pokuse reinfekcije izvršili smo također pomoću vrste *Cucumis sativus*.

Određivanje fizikalnih svojstava

Pri određivanju fizikalnih svojstava izolata Tv i Šv upotrebljavali smo također i kao izvor virusa i kao test-biljku vrstu *Cucumis sativus*. Inficirane kotiledone homogenizirali smo u tarioniku s 0,03 M fosfatnim puferom pH 8 u omjeru 1 : 1, a zatim smo homogenat procijedili kroz dvostruku gazu, da bi se odstranili grublji dijelovi tkiva. Tako priređeni virusni sok upotrebljavali smo kod određivanja termalne točke inaktivacije i postojanosti in vitro. Za određivanje krajnje točke razrjeđenja istisnuti sok iz kotiledona pomiješali smo s fosfatnim puferom do određenih razrjeđenja.

Svaki eksperiment određivanja fizikalnih svojstava izvršili smo sa 25—30 primjeraka krastavaca. Eksperimente određivanja fizikalnih svojstava uvijek su pratili kontrolni pokusi, u kojima su kotiledoni krastavca inokulirani netretiranim virusnim sokom.

Konzerviranje virusa

Izolate smo čuvali i u konzerviranom stanju. Konzerviranje virusa postignuto je sušenjem inficiranih kotiledona krastavca prema metodi koju su opisali Waterworth i Fulton (1964).

Serološki pokusi

U svrhu identifikacije izolata Tv i Šv izvršili smo i serološka istraživanja, i to s antiserumima protiv »prune dwarf« virusa (PDV) i protiv »necrotic ringspot« virusa (NRV), koje nam je ljubazno poslao dr R. W. Fulton (Madison, Wisconsin). Serološke smo pokuse izvršili primjenom agar-gel difuzijskih testova.

Testiranje stabala trešnje

Stabla trešnje, s obzirom na prisustvo virusa, istražili smo pomoću kotiledona krastavca, a u nekim slučajevima još i pomoću test-biljaka *Chenopodium quinoa* Willd. i *Ch. murale* L. Za testiranje pojedinog stabla upotrebljavali smo 20 krastavaca te 4—5 primjeraka spomenutih *Chenopodium*-vrsta.

Rezultati

a) Virusni izolat Tv iz trešnje

Izolat Tv prenijeli smo na niz zeljastih test-biljaka i drvenastih indikatora koji omogućuju identifikaciju pojedinih virusa iz skupine prstenaste pjegavosti trešnje. Rezultati su upotpunjeni određivanjem fizikalnih svojstava i serološkim istraživanjima.

Reakcije na zeljastim test-biljkama

Cucumis sativus L. (Delikates). Na inokuliranim kotiledonima nastaju okrugle klorotične lokalne lezije, koje u hladnijem godišnjem periodu imaju oblik svijetlih prstenova (tab. I, sl. 8). Na pravim listovima pojavljuju se mozaične promjene, rijetko nekroze. Virus uzrokuje blaže deformacije i smanjenje lisnih poljki te slabo kočenje rasta. U zimskim mjesecima izolat Tv izaziva kolaps i uginuće mladih krastavaca, koji su inokulirani u stadiju kotiledona.

Cucurbita maxima Duch. Inokulirani kotiledoni su bez simptoma. Na pravim listovima nastaje svijetložuto šarenilo lisne plojke (tab. I, sl. 5.) Rjeđe virus uzrokuje simptome u obliku blagog mozaika, sitnih nekrotičnih pjegica i kržljivosti listova odnosno cijele biljke.

Cucurbita pepo L. Inokulirani kotiledoni su bez simptoma. Na pravim listovima virus uzrokuje gušće ili rjeđe raspoređene klorotične pjege.

Momordica balsamina L. Na inokuliranim listovima nastaju nekrotične lezije (tab. I, sl. 4), a na gornjim listovima sitne klorotične pjegice i svijetle vrpce uz nerve.

Cyclanthera pedata Schrad. Infekcija je sistemična. Na listovima virus uzrokuje klorotične pjege više-manje nepravilna oblika i različite veličine.

Sesbania exaltata (Raf.) Cory. Na inokuliranim kotiledonima nastaju sivosmeđe nekrotične lezije (tab. I, sl. 7).

Antirrhinum majus L. Infekcija je sistemična i latentna.

Nicotiana megalosiphon Heurck et Muell. Infekcija je sistemična. Na listovima nastaju gusto raspoređene, sitne bijele nekrotične lezije i prstenovi (tab. I, sl. 1).

Nicotiana tabacum L. var. Samsun. Tanke isprekidane bijele nekrotične linije stvaraju na inokuliranim listovima jednostavne ili koncen-

trične prstenove i različite šare (tab. I, sl. 2). Samo iznimno pojavljuju se simptomi na 1 — 2 gornja lista iznad inokuliranih.

Solanum sisymbriifolium Lam. Na inokuliranim listovima virus uzrokuje male ljubičastosmeđe lokalne lezije (tab. I, sl. 3)

Ammi majus L. Na inokuliranim listovima nastaju mjestimično blage kloroze, a na gornjim listovima zelenkastožuto šarenilo lisne plojke (tab. I, sl. 6).

Izvršili smo i pokuse reinfekcije natrag na vrstu *Cucumis sativus* koji su dali pozitivne rezultate. Izolatom Tv nismo uspjeli inficirati ove vrste: *Chenopodium album* L., *Ch. amaranticolor* Coste et Reyn., *Ch. murale* L., *Ch. quinoa* Willd., *Momordica charantia* L. i *Zinnia elegans* Jacq. Kod navedenih vrsta i pokusi reinfekcije bili su negativni.

Reakcije na drvenastim indikatorima

Bing (*Prunus avium* L.). Nakon proljetne infekcije na listovima su se pojavile svijetlozelene pjege, te pojedinačne nekrotične pjege i koncentrični prstenovi (tab. II, sl. 9).

F 12/1 (*Prunus avium* L.). Na listovima su rđastosmeđi prstenovi i smeđe nekrotične pjege (tab. II, sl. 10).

Montmorency (*Prunus cerasus* L.). Nakon infekcije u proljeće došlo je do jakog kočenja rasta ogranaka. Na pojedinim starijim listovima jedva se zapažaju nešto svjetlijezeleni prstenovi i pjege. Daljnji simptomi su malobrojne smeđe nekrotične pjege i rupičavost plojke kod mlađih listova (tab. II, sl. 11). Kasnije nastaje žućenje.

Shirofugen (*Prunus serrulata* Lindl.). U regiji okuliranja došlo je do nekroze podloge i vrlo snažnog istjecanja smole, tako da su isušeni okulirani pupovi gotovo posve prekriveni smolom.

Prunus avium L., sjemenjak. Nakon proljetne infekcije nastale su na pojedinim listovima rđastosmeđe nekrotične pjege i rupičavost plojke (tab. II, sl. 12).

Prunus persica (L.) Batsch., sjemenjak. Na mlađim vršnim listovima virus je, nakon infekcije u proljeće, prouzrokovao žućkastozielenu šarenilo lisne plojke (tab. II, sl. 13). Kasnije je došlo do maskiranja simptoma. Razvoj i rast biljke je donekle zakočen.

Breskva nam je također služila kao izvor virusa. Budući da ne sadrži inhibitorskih tvari, mogli smo bez teškoća u svako doba godine iz listova prenijeti virus na vrstu *Cucumis sativus*.

Fizikalna svojstva

Termalna točka inaktivacije izolata Tv leži između 50° i 52° C. Krajnja točka razrjeđenja nalazi se između 1 : 20 i 1 : 40, što znači da virus već malim razrjeđenjem soka gubi infektivnost. Postojanost in vitro kod sobne temperature traje samo 1 dan.

Konzervirani virus bio je infektivan i nakon godinu i pol dana.

Serološka istraživanja

Izolat Tv reagirao je sa serumom protiv *Fultonovog* »prune dwarf« virusa, i to do razrjeđenja seruma 1 : 64. Homologni titar seruma iznosio je 1 : 1024.

b) Virusni izolat Šv iz šljive

Stablo šljive iz kojeg potječe izolat Šv bilo je istodobno inficirano i virusom šarke šljive. Infekciju virusom šarke naslućivali smo već na prvi pogled prema karakterističnim simptomima na listovima. Izolat Šv izolirali smo iz stabla pomoću vrste *Cucumis sativus*, a virus šarke pomoću vrste *Chenopodium foetidum* Schrad., koja nam je ujedno omogućila i sigurnu identifikaciju virusa šarke, jer su se nakon inokulacije pojavile na listovima karakteristične okeržute lokalne lezije obrubljene smeđim nekrotičnim prstenom (tab. III, sl. 22) (Németh 1963, Kegler, Schmidt i Trifonov 1964).

U svrhu identifikacije izolata Šv izvršena su istraživanja na zeljastim test-biljkama, nekim drvenastim indikatorima, zatim istraživanja fizičkih svojstava i serološka istraživanja.

Reakcije na zeljastim test-biljkama

Cucumis sativus L. (Delikates). Na inokuliranim kotiledonima virus uzrokuje okrugle klorotične lokalne lezije, koje se povećavaju i postaju intenzivnije žućkastozelene. Gotovo redovito nekrotiziranje vegetacijske tačke i prvog pravog lista dovodi do jakog kočenja rasta, pa biljke ostare u stadiju kotiledona. Ukoliko se biljka razvije, dolazi do skraćivanja internodija, a malobrojni listovi pokazuju jaku žućkastozelenu mozaičnu pjegavost i deformacije plojki (tab. III, sl. 19).

Cucurbita maxima Duch. Na pravim listovima izolat uzrokuje malobrojne žutozelene pjege, od kojih neke sadrže više sitnih točkastih nekroza.

Cucurbita pepo L. Inokularni kotiledoni su bez simptoma. Na pravim listovima nastaju okrugle lezije: klorotične ili s malim nekrotičnim centrom.

Momordica balsamina L. Na inokuliranim listovima nastale su pojedinačne nekrotične lezije s okruglim bijelim nekrotičnim centrom, a na gornjim listovima blagoklorotična pjegavost.

Chenopodium amaranticolor Coste et Reyn. Inokulirani listovi su bez simptoma. Na gornjim listovima pojavljuju se blagoklorotične pjege i prstenovi (tab. III, sl. 14), te klorotične šare u obliku hrastova lista (»Eichenblattnuster«) (tab. III, sl. 15). Navedeni simptomi pojavljuju se samo na nekoliko etaža gornjih listova, a zatim iščezavaju, ali se nakon stanovitog vremena mogu opet pojaviti na najmlađim listovima.

Chenopodium quinoa Willd. Inokulirani listovi su bez simptoma. Na gornjim listovima virus uzrokuje simptome u obliku blagog ispranog mozaika ili klorotičnih pjega i prstenova (tab. III, sl. 16). Ti simptomi postaju postepeno sve slabije izraženi. Tok infekcije je kao i u vrste *Ch. amaranticolor*.

Cyclanthera pedata Schrad. Infekcija je sistemična. Virus uzrokuje na listovima blagu mozaičnu pjegavost.

Antirrhinum majus L. Na inokuliranim kao i nekim gornjim listovima pojavljuju se sivkastosmeđe nekroze uz glavne nerve i na ostalim dijelovima plojke. Ove nekroze češće formiraju jednostavne ili koncentrične prstenove (tab. III, sl. 17 i 18).

Nicotiana tabacum L. var. Samsun. Infekcija je latentna.

Ammi majus L. Infekcija je latentna.

Pokusi reinfekcije na vrstu *Cucumis sativus* bili su pozitivni. Infekcija, a niti reinfekcija nije uspjela kod ovih vrsta: *Chenopodium album* L., *Ch. foetidum* Schrad. *Ch. murale* L., *Nicotiana megalosiphon* Heurck et Muell., *Sesbania exaltata* (Raf.) Cory, *Solanum sisymbriifolium* Lam. i *Zinnia elegans* Jack.

Reakcije na drvenastim indikatorima

Shirofugen (*Prunus serrulata* Lindl.). Virus uzrokuje nekrotiziranje okuliranog pupa i regije oplemenjivanja i vrlo jako istjecanje smole (tab. III, sl. 21).

Prunus avium L., sjemenjak. Godinu dana nakon infekcije pojavile su se na listu filoidne enacije u interkostalnim područjima s donje strane lisne plojke (tab. III, sl. 20) te jake nekroze i rupičavost plojke listova.

Prunus persica (L.) Batsch., sjemenjak. Nakon infekcije u proljeće došlo je do odumiranja nekih vrhova. Kasnije je nastupilo ozdravljenje.

Breskva nam je također služila i kao izvor virusnog izolata Šv, pa smo iz njenih listova često prenosili virus na krastavac.

Fizikalna svojstva

Termalna točka inaktivacije izolata Šv nalazi se između 57° i 60° C. Krajnja točka razrjeđenja leži između 1 : 120 i 1 : 150, a postojanost in vitro kod sobne temperature iznosi preko 3 dana.

Godinu dana nakon konzerviranja u osušanim kotiledonima virus je još uvijek zadržao dio infektivnosti.

Serološka istraživanja

Izolat Šv reagirao je sa serumom protiv *Fultonovog* »necrotic ring spot« virusa. Dok je homologni titar seruma iznosio 1 : 2048, heterologni titar s izolatom Šv iznosio je 1 : 512.

Testiranje stabala trešnje u okolici Zagreba

U mjestu Lukšić u okolici Zagreba testirali smo radi utvrđivanja eventualnog prisustva virusa 16 stabala trešnje. Pri tom smo utvrdili da je 8 stabala, tj. 50% inficirano virusima.

Kod izolata koje smo vodili pod oznakom T1, T2, T3 i T8 testiranje smo izvršili osim pomoću krastavaca još i pomoću vrsta *Chenopodium quinoa* i *Ch. murale*, i to zbog eventualnog prisustva AMV ili virusa uvijenosti lista trešnje. Spomenute smo izolate i pobliže ispitivali uzastopnim prenošenjem iz krastavca na krastavac i pokusom prenošenja na neke važnije test-biljke. Kod izolata T8 izvršili smo i neka preliminarna istraživanja u pogledu termalne točke inaktivacije.

U radu s navedenim izolatima imali smo dosta teškoća. Zapazili smo da izolati teško prelaze iz krastavca na krastavac, pa se u najboljem slučaju inficira oko 40% inokuliranih krastavaca. Na kotiledonima krastavca izolati uzrokuju pojedinačne klorotične lezije ili simptomi sasvim izostaju, a na pravim listovima nastaju mozaične promjene, pjegavost i blage deformacije lisnih plojki. Spomenuti izolati bili su također vrlo osjetljivi na povišenje temperature, jer je približavanjem toplijih ljetnih dana postotak inficiranih krastavaca bio sve manji, a ranije inficirani primjerci počeli su u to doba dalje razvijati normalne listove bez ikakvih virusnih simptoma.

Iz iznesenih zapažanja vidimo da se tu radi o vrlo nestabilnim virusima, koji se već kod nižih temperatura inaktiviraju. To su potvrdila i istraživanja termalne točke inaktivacije izolata T8, pri čemu je utvrđeno da je ona vrlo niska, tj. ispod 42° C.

Na osnovu navedenih istraživanja naslućujemo da su trešnje iz sela Lukšić inficirane najvjerojatnije jednim virusom iz grupe prstenaste pjegavosti trešnje, i to VKPP. Ovaj je virus naročito nestabilan te čini velike teškoće kod prenošenja na test-biljke. Osim toga ima vrlo nisku termalnu točku inaktivacije (40° — 44° C) pa se za toplijih mjeseci može lako inaktivirati u uvjetima staklenika, te zato inficirani krastavci početkom ljeta gube vanjske simptome oboljenja.

Diskusija

Prije svega potrebno je navesti da smo pozitivnom reakcijom u Shirofugen-testu dokazali da naši izolati Tv iz trešnje i Šv iz šljive pripadaju skupini virusa prstenaste pjegavosti trešnje. Na osnovu rezultata daljnjih istraživanja i literaturnih podataka (Kegler 1962, 1963, 1964, 1965, Klínkowskí 1963) utvrdili smo da je trešnja inficirana VKNPP, šljiva osim virusom šarke još i VNPP trešnje, a trešnje iz Lukšića VKPP.

VKNPP trešnje prvi put je opisao Kegler u Njemačkoj, ali je dugo vrijeme bio svrstan kao VKPP trešnje, koji je u Njemačkoj također jako raširen. Tek kasnije zauzeo je opravdano posebno mjesto pod imenom VKNPP (Kegler 1963). Osim u Njemačkoj ovaj je virus utvrđen i u Mađarskoj (Németh 1965) te u Čehoslovačkoj (Paulechová-Králíková i Kegler 1967), a vjerojatno je raširen i drugdje u Evropi.

VKNPP po svojim svojstvima zauzima sredinu između VNPP i VKPP. Neke osobine (nekrotične pjege na listu višnje, nekrotične lezije na vrsti *Momordica balsamina*) približavaju ovaj virus VNPP trešnje, ali mnogo veći broj osobina (žučenje višnje, H-enacije na sorti Bing, simptomi na test-biljci *Sesbania exaltata*, *Cucurbita maxima*, *Ammi majus*, *Nicotiana tabacum* var. Samsun, latentna infekcija kod vrste *Antirrhinum majus* i dr.) pokazuju bliže srodstvo s VKPP trešnje.

VKNPP i VKPP pokazuju još neke zajedničke karakteristike i bliže veze. Oba virusa neotporni su prema povišenoj temperaturi s time da VKNPP ima nešto višu termalnu tačku inaktivacije, i to 44° — 46° C, a kod VKPP ona iznosi 40° — 44° C (Kegler 1963, 1965). Osim toga niti VKNPP, a niti VKPP ne inficiraju test-biljke *Chenopodium amaranticolor* i *Ch. quinoa*, a na talijanskoj šljivi uzrokuju oba virusa »prune dwarf« simptome (Kegler 1965).

VKNPP i VKPP se također međusobno i razlikuju, i to po simptomima na trešnji (Kegler 1963), a napose po diferencijalnom domadaru *Solanum sisymbriifolium* (Németh 1965, Kegler 1965) kojega inficira samo VKNPP. No to ne bi bilo dovoljno da ih se smatra posebnim virusima, jer su utvrđene razlike u krugu domadara unutar istih virusa prstenaste pjegavosti trešnje (Waterworth i Fulton 1964). Glavni razlog je u tome, što između ova dva virusa postoji udaljena serološka srodnost.

U Americi su Waterworth i Fulton (1964) na osnovu seroloških istraživanja podijelili viruse prstenaste pjegavosti trešnje na dvije grupe, i to: 1. grupa virusa nekrotične prstenaste pjegavosti (necrotic ringspot viruses — NRV) i 2. grupa virusa kržljivosti šljive (prune dwarf viruses — PDV), kamo pripada i naš VKNPP. To su potvrdila serološka istraživanja prema kojima naš izolat pokazuje udaljenju serološku srodnost s Fultonovim PDV.

U toku istraživanja izolata Tv na test-biljkama i indikatorima konstatirali smo da simptomi koji nastaju pod utjecajem tog virusa po svom izgledu najviše odgovaraju simptomima koje je opisao Kegler (1963, 1965) kod biljaka inficiranih VKNPP trešnje. Da naš izolat Tv pripada VKNPP, pokazuje prvenstveno pozitivna reakcija na vrsti *Solanum sisymbriifolium* kao i reakcije na drugim test-biljkama i indikatorima (nekrotične lezije i žučenje na sorti Montmorency, klorotično-nekrotične lezije na sorti Bing, nekrotične promjene na sjemenjaku *Prunus avium*) (Kegler 1963, 1965). U suprotnosti s Keglerovim izolatima VKNPP, naš izolat Tv uzrokovao je na vršnim listovima breske mozaične promjene. Inače naš izolat VKNPP ima srazmjerno visoku termalnu točku inaktivacije (50° — 52° C) u odnosu na Keglerove izolate VKNPP (44° — 46° C) (Kegler 1965), ali ulazi u okvir kolebanja termalne točke inaktivacije za Fultonove PDV izolate, koja iznose 45° — 54° C (Waterworth i Fulton 1964).

U pogledu vrijednosti termalne točke inaktivacije naš izolat se dosta podudara s izolatom VKNPP iz Slovačke, koji ima također prilično visoku termalnu točku inaktivacije, i to između 48° — 50° C (Paulechová-Králíková i Kegler 1967).

Izolat Tv VKNPP trešnje odlikuje se dosta velikom otpornošću, kao i infektivnošću naročito na vrsti *Cucumis sativus*, tako da se na njoj može održavati i preko toplijih mjeseci.

VNPP trešnje vrlo je rasprostranjen i za sada je utvrđen u Americi, mnogim evropskim zemljama i u južnoj Africi. U Jugoslaviji je navedeni virus utvrđen već ranije (Jordović 1958), ali tada nije detaljnije proučen.

VNPP Keglera uzrokuje osim nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje također i tzv. šteklenberšku bolest višnje i odgovara izolatu E grupe NRV od Fultona (Kegler 1965).

Virusni izolat Šv identificirali smo kao soj VNPP trešnje, i to na osnovu simptoma na test-biljkama i indikatorima te istraživanjem fizikalnih svojstava. Izolat Šv razlikuje se od tipičnog soja VNPP po tome, što na vrstama *Chenopodium amaranticolor* i *Ch. quinoa* uzrokuje klorotične umjesto nekrotičnih promjena (Kegler 1962, 1963, 1965). Osim toga naš izolat Šv ne uzrokuje na vrsti *Momordica balsamina* uginuće vrhova, već samo nekrotične i klorotične promjene (usp. Kegler 1965). Kod vrste *Cucurbita maxima* naš izolat izaziva blaže klorotične i nekrotične promjene, dok je na vrsti *Ammi majus latentan*, a Keglerovi izolati uzrokuju svijetlozelenu ili žutu pjegavost (usp. Kegler 1964).

U pogledu fizikalnih svojstava izolat Šv ne pokazuje bitne razlike prema Keglerovim izolatima VNPP (usp. Kegler 1965). Serološka su istraživanja pokazala da je izolat Šv serološki blisko srodan s Fultonovim NRV.

VKPP trešnje je sudeći po rezultatima naših testiranja kao i na osnovu ranijih nalaza (Jordović 1955, 1958, Šarić 1966) dosta rasprostranjen i u Jugoslaviji. Njegova rasprostranjenost utvrđena je u mnogim evropskim zemljama kao i u Americi, gdje je taj virus zastupljen i proučen u većem broju različitih izolata skupine PDV (Waterworth i Fulton 1964). Inače izolat B skupine PDV identičan je s VKPP Keglera (Kegler 1965).

Budući da nismo izvršili nikakva detaljnija istraživanja s izolatima iz sela Lukšić, ne možemo reći da li kod njih postoje neke razlike prema B virusu Fultona i VKPP Keglera, ali imaju isto kao i navedeni virusi nisku termalnu točku inaktivacije, vrlo su labilni, teško se prenose na test-biljke i održavaju u kulturi.

Zaključak

1. Iz stabla trešnje (*Prunus avium* L.) koje raste u Botaničkom vrtu Sveučilišta u Zagrebu izolirali smo virus za koji je, na osnovu istraživanja na brojnim zeljastim test-biljkama i drvenastim indikatorima, zatim na osnovu istraživanja fizikalnih svojstava, serološke reakcije kao i pozitivne reakcije na vrsti *Solanum sisymbriifolium*, utvrđeno da predstavlja jedan soj virusa klorotično-nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje, koji se od tipičnog soja razlikuje uglavnom dosta višom termalnom točkom inaktivacije. Navedeni virus je time prvi put utvrđen u Jugoslaviji.

2. Iz stabla šljive u istom Botaničkom vrtu izolirali smo dva virusa. Na osnovu istraživanja na test-biljkama i nekim indikatorima kao i istraživanjem fizikalnih svojstava i serološkim istraživanjem ustanovili smo da jedan od tih izolata predstavlja soj virusa nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje, koji na test-biljkama *Chenopodium amaranticolor* i *Ch. quinoa* uzrokuje klorotične umjesto nekrotičnih promjena. Drugi izolat iz šljive determinirali smo na osnovu vanjskih simptoma na matičnoj biljci kao i na osnovu karakterističnih simptoma na vrsti *Chenopodium foetidum* kao virus šarke šljive.

3. Također smo izvršili orijentaciona istraživanja na 16 stabala trešnje iz sela Lukšić u okolici Zagreba i utvrdili, da je 50% ispitanih stabala trešnje inficirano virusom. Preliminarna istraživanja nekih izolata (T1, T2, T3 i T8) iz ovih trešanja daju naslutiti, da su istraživane trešnje iz sela Lukšić inficirane virusom klorotične prstenaste pjegavosti trešnje.

Literatura — Literaturverzeichnis

- Fulton, R. W.*, 1957: Comparative host ranges of certain mechanically transmitted viruses of *Prunus*. *Phytopathology* 47, 215—220.
- Fulton, R. W.*, 1959: Purification of sour cherry necrotic ringspot and prune dwarf viruses. *Virology* 9, 522—535.
- Jordović, M.*, 1955: Kržljivost šljive — virozna bolest u našoj zemlji. *Zaštita bilja* 30, 61—62.
- Jordović, M.*, 1958: O nekim malo poznatim virozama voćaka u našoj zemlji. *Zaštita bilja* 47/48, 109—111.
- Kegler, H.*, 1962: *Chenopodium*-Arten als Test- und Wirtspflanzen für Kirschen-viren. *Phytopath. Z.* 45, 248—259.
- Kegler, H.*, 1963: Versuche zur Identifizierung von Ringflecken-viren der Kirsche. *Phytopath. mediterranea* 2, 175—180.
- Kegler, H.*, 1964: A contribution to identification of cherry viruses. U knjizi: *Plant virology. Proceedings of the 5th Conference of the Czechoslovak Plant Virologists.* Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.
- Kegler, H.*, 1965: Untersuchungen über Ringfleckenkrankheiten der Kirsche. II. Wirtspflanzen und physikalische Eigenschaften von Ringflecken-viren. *Phytopath. Z.* 54, 305—327.
- Kegler, H., H. B. Schmidt* und *D. Trifonow*, 1964: Identifizierung, Nachweis und Eigenschaften des Scharkavirus der Pflaume (plum pox virus). *Phytopath. Z.* 50, 97—111.
- Klinkowski, M.*, 1963: Analyse der Virose des Kern- und Steinobstes. *Abh. sächs. Akad. Wiss. (Math.-nat. Kl.)* 46 (6).
- Németh, M.*, 1963: Field and greenhouse experiments with plum pox virus. *Phytopath. mediterranea* 2, 162—166.
- Németh, M.*, 1965: Study and identification of ringspot viruses occurring on stone-fruits in Hungary. *Proceed. VI. Symp. Virus Diseases of Fruit Trees in Europe.* *Zaštita bilja* 16, 441—457.
- Paulechová-Králiková, K.* and *H. Kegler*, 1967: Investigations on the properties of a virus isolate from prune dwarf diseased plum trees. *Biológia* 9, 673—677.
- Posnette, A. F.*, 1954: Virus diseases of cherry trees in England. 1. Survey of diseases present. *J. hortic. Sci., London*, 29, 44—58.
- Sarić, A.*, 1966: Studies on virus diseases of sweet cherry. I. Detection of a dual virus infection. *Rev. Roum. Biol. — Botanique* 11, 191—196.
- Waterworth, H. E.* and *R. W. Fulton*, 1964: Variation among isolates of necrotic ringspot and prune dwarf viruses isolated from sour cherry. *Phytopathology* 54, 1155—1160.
- Willison, R. S., G. H. Berkeley* and *E. M. Hildebrand*, 1951: Tatter leaf. In: *Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America.* *U. S. D. A. Handb.* 10, 141—146.



T a b l a I — T a f e l I

Simptomi na listovima različitih test-biljaka uzrokovani virusom klorotično-nekrotične prstenaste pjegavosti (Izolat Tv): Nekrotične lezije i prstenovi na vrsti *Nicotiana megalosiphon* (sl. 1), bijele isprekidane nekrotične linije i koncentrični prstenovi na vrsti *Nicotiana tabacum* var. Samsun (sl. 2), male ljubičastosmeđe lokalne lezije na listovima vrste *Solanum sisymbriifolium* (sl. 3), nekrotične lezije na inokuliranim listovima vrste *Momordica balsamina* (sl. 4), svijetložuto šarenilo plojke na vrsti *Cucurbita maxima* (sl. 5), zelenkastožuto šarenilo na vrsti *Ammi majus* (sl. 6), sivosmeđe nekrotične lezije na kotiledonima vrste *Sesbania exaltata* (sl. 7) i prstenaste klorotične lokalne lezije na kotiledonima vrste *Cucumis sativus* (sl. 8).

Symptome auf den Blättern der verschiedenen Testpflanzen durch chlorotisch-nekrotisches Ringfleckenvirus (Isolat Tv): Nekrotische Läsionen und Ringe an *Nicotiana megalosiphon* (Abb. 1), weiße gestrichelte nekrotische Linien und konzentrische Ringe an *Nicotiana tabacum* var. Samsun (Abb. 2), kleine bräunliche Lokalläsionen auf Abreibblatt von *Solanum sisymbriifolium* (Abb. 3), nekrotische Läsionen auf inokuliertem Blatt von *Momordica balsamina* (Abb. 4), hellgelbe Buntheit an *Cucurbita maxima* (Abb. 5), grüngelbe Buntheit an Folgeblatt von *Ammi majus* (Abb. 6), graue bis braune nekrotische Läsionen an Keimblättern von *Sesbania exaltata* (Abb. 7) und ringförmige chlorotische Läsionen auf Kotyledonen von Gurkenkeimlingen (Abb. 8).

T a b l a II — T a f e l II

Simptomi na listovima nekih drvenastih indikatora uzrokovani virusom klorotično-nekrotične prstenaste pjegavosti (Izolat Tv):

Svijetlozelene i pojedinačne nekrotične pjege i koncentrični prstenovi na sorti »Bing« (sl. 9), crvenosmeđi prstenovi i smeđe nekrotične pjege na sorti »F12/1« (sl. 10), smeđe nekrotične pjege i rupičavost plojke na sorti »Montmorency« (sl. 11), rdastosmeđe nekrotične pjege i rupičavost plojke na sjemenjaku vrste *Prunus avium* L. (sl. 12) i svijetlozelena mozaična pjegavost na sjemenjaku vrste *Prunus persica* Batsch. (sl. 13).

Symptome auf den Blättern einiger Gehölzindikatoren durch chlorotisch-nekrotisches Ringfleckenvirus (Isolat Tv):

Hellgrüne vereinzelt nekrotische Flecke und konzentrische Ringe auf »Bing« (Abb. 9), rotbraune Ringe und braune nekrotische Flecke auf »F12/1« (Abb. 10), braune nekrotische Flecke und Löcher auf »Montmorency« (Abb. 11), rotbraune nekrotische Flecke und Löcher auf Sämlingen von *Prunus avium* L. (Abb. 12) und hellgrüne Mosaikfleckung auf *Prunus persica* Batsch. (Abb. 13).

TABLA 1 — TAFEL 1

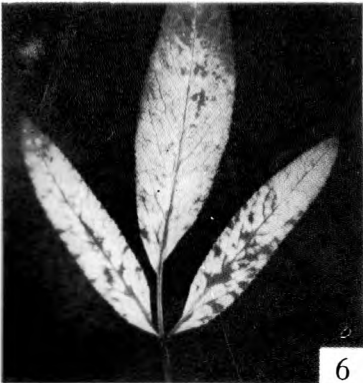
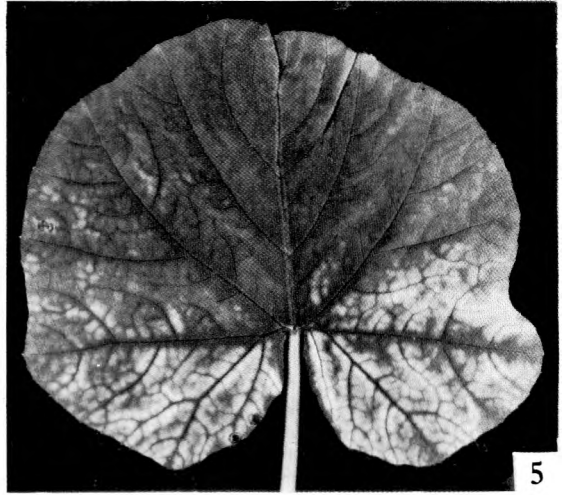
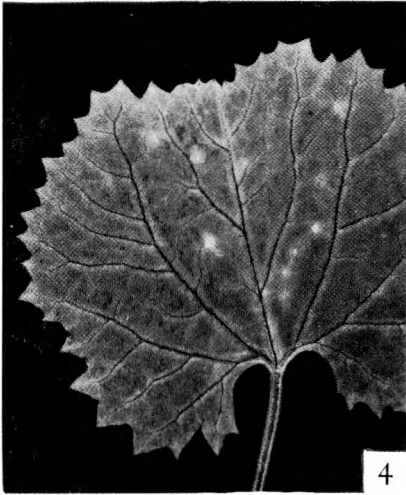
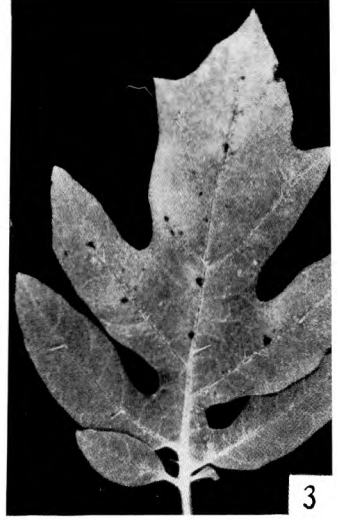
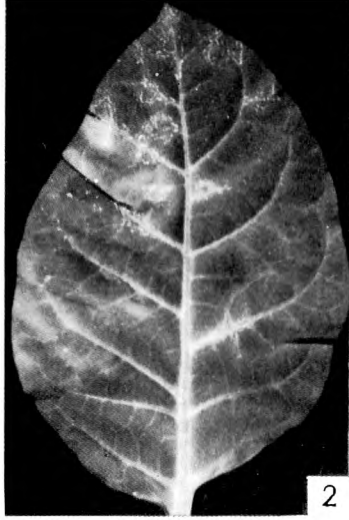
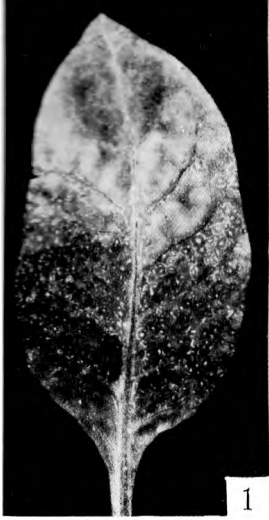
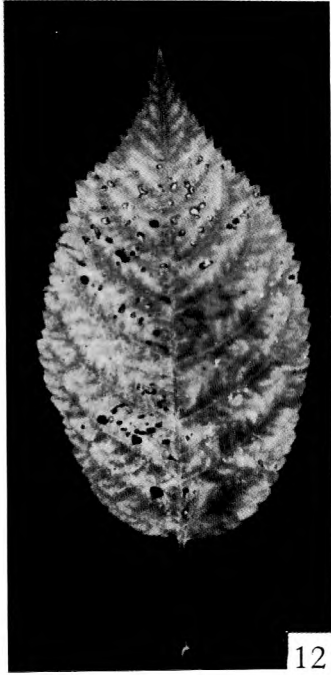
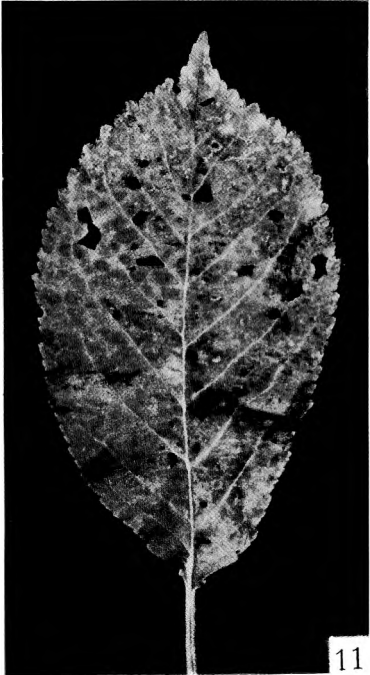
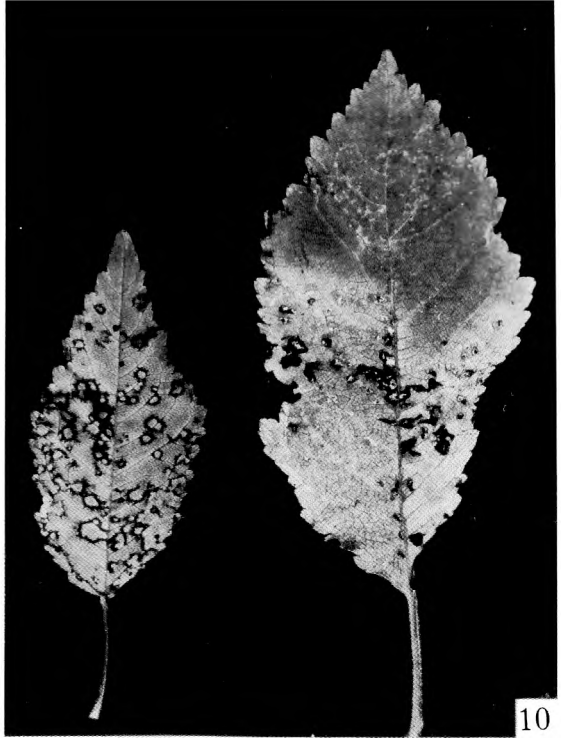


TABLA 2 — TAFEL 2

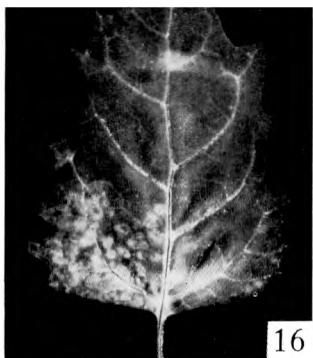




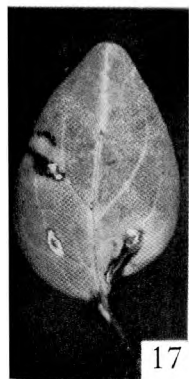
14



15



16



17



18



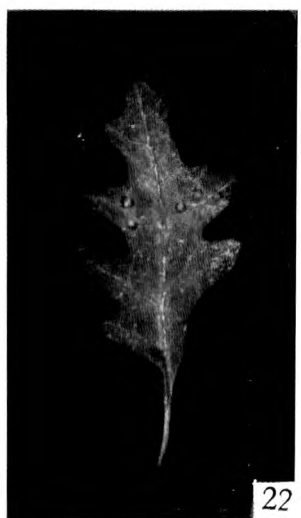
19



20



21



22

◀ Tabla III — Tafel III

Simptomi na listovima različitih test-biljaka i nekih drvenastih indikatora uzrokovani virusom nekrotične prstenaste pjegavosti (Izolat Šv) (sl. 14—21) i virusom šarke šljive (sl. 22):

Klorotične pjege i prstenovi (sl. 14) i klorotične šare u obliku hrastova lista (sl. 15) na vrsti *Chenopodium amaranticolor*, klorotične pjege i prstenovi na vrsti *Chenopodium quinoa* (sl. 16), sivkastosmeđe nekroze i nekrotični prstenovi na vrsti *Antirrhinum majus* (sl. 17 i 18), jaka žučkastozelena mozaična pjegavost i deformacija listova kod vrste *Cucumis sativus* (sl. 19), filoidne enacije na sjemenjaku vrste *Prunus avium* L. (sl. 20) i istjecanje smole i nekroze na mjestu okulacije kod sorte »Shirofugen« (sl. 21). Okeržute lokalne lezije obrubljene smeđim nekrotičnim prstenom na vrsti *Chenopodium foetidum* (sl. 22).

Symptome auf den Blättern der verschiedenen Testpflanzen und Gehölzindikatoren durch nekrotisches Ringfleckenvirus (Isolat Šv) (Abb. 14—21) und durch Scharkavirus (Abb. 22).

Chlorotische Flecke und Ringe (Abb. 14) und Eichenblattmuster (Abb. 15) auf *Chenopodium amaranticolor*, chlorotische Flecke und Ringe auf *Chenopodium quinoa* (Abb. 16), graue bis braune nekrotische Ringe und Zeichnungen bei *Antirrhinum majus* (Abb. 17 und 18), starke gelbgrüne Mosaikfleckung und Deformation der Laubblätter an *Cucumis sativus* (Abb. 19), B-Eraktionen auf dem Vogelkirschesämling (Abb. 20) und Nekrosen und Gummifluß um die Okulationsstelle an »Shirofugen« (Abb. 21). Ockerfarbene dunkelumrandete Lokalläsionen auf *Chenopodium foetidum* (Abb. 22).

ZUSAMMENFASSUNG

UNTERSUCHUNGEN ÜBER RINGFLECKENVIREN DER KIRSCHEN

Nada Pleše und Nikola Juretić

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Zagreb)

Die ersten sicheren Angaben über das Vorkommen von Ringflecken-viren der Kirsche in Jugoslawien stammen von Jordović (1955 und 1958) und von Šarić (1966), die die Anwesenheit des chlorotischen und nekrotischen Ringfleckenvirus festgestellt haben. Im Laufe unserer Untersuchungen, die im Jahre 1965 begannen, haben auch wir in Jugoslawien einige Viren von dieser Gruppe genauer analysiert, und darüber möchten wir hier berichten.

Chlorotisch-nekrotisches Ringfleckenvirus

Das erste Isolat Tv stammte von einer Vogelkirsche, die etwa vor 10 Jahren aus südlichen Abhängen von Zagrebačka gora in den Botanischen Garten der Universität Zagreb überpflanzt wurde. Ob dieser Kirschenbaum schon vor der Überpflanzung mit diesem Virus infiziert worden ist, ist uns nicht bekannt. Dieser Kirschenbaum zeigte weder vor noch nach der Überpflanzung keine besonderen äußeren Symptome.

Im Laufe der Untersuchungen des Isolates Tv haben wir es auf 11 krautige Testpflanzen und 6 Gehölzindikatoren übertragen. Auf krautigen Testpflanzen, die für die Identifizierung des Virus wichtig sind, verursachte unser Isolat Tv folgende Symptome: Auf den inokulierten Keimblättern von *Cucumis sativus* (Delikateß) entstanden chlorotische, oft ringförmige Lokalläsionen (Taf. I, Abb. 8), auf den Folgeblättern ein Mosaik, und eine leichte Wuchshemmung der ganzen Pflanze. *Cucurbita maxima* reagierte mit hellgelber Adernbänderung und Fleckung der Laubblätter (Taf. I, Abb. 5). Bei *Momordica balsamina* haben sich auf Abreibblättern nekrotische Läsionen (Taf. I, Abb. 4) und ein Mosaik auf den Folgeblättern geäußert. Auf inokulierten Kotyledonen von *Sesbania exaltata* verursachte das Virus braune bis graue nekrotische Flecke (Taf. I, Abb. 7). *Nicotiana tabacum* (Samsun) entwickelte auf den Blättern graue bis weiße gestrichelte nekrotische Linien und ringförmige, oft auch konzentrische Zeichnungen (Taf. I, Abb. 2). Bei *Antirrhinum majus* war die Infektion latent, und bei *Ammi majus* zeigten die Blätter heftige gelbgrüne Buntheit der Blattspreite (Taf. I, Abb. 6). Unser Isolat verursachte auch auf den Abreibblättern von *Solanum sisymbriifolium* kleine bräunliche Lokalläsionen (Taf. I, Abb. 3). Das Isolat Tv haben wir auch auf *Cucurbita pepo*, *Cyclanthera pedata* und *Nicotiana megalosiphon* (Taf. I, Abb. 1) mit Erfolg übertragen. Bei allen den erwähnten krautigen Testpflanzen gelang auch die Rückübertragung.

Folgende Arten wiesen aber keine Symptome auf und konnten auch nach Rückübertragungsversuchen nicht als infiziert bewiesen werden: *Chenopodium album*, *Ch. amaranticolor*, *Ch. murale*, *Ch. quinoa*, *Momordica charantia* und *Zinnia elegans*.

Auch bei Gehölzindikatoren waren die Symptome gut ausgeprägt: hellgrüne, vereinzelt nekrotische Flecke und konzentrische Ringe auf »Bing« (Taf. II, Abb. 9) und rotbraune Ringe und braune nekrotische Flecke auf »F12/1« (Taf. II, Abb. 10). Auf »Montmorency« erschienen braune nekrotische Flecke und Löcher (Taf. II, Abb. 11) wie auch Vergilbung. Bei »Shirofugen« zeigten sich um die Okulationsstellen Nekrosen und Gummifluß. Auf Sämlingen von *Prunus avium* L. verursachte dieses Isolat rotbraune nekrotische Flecke und Löcher auf den Blättern (Taf. II, Abb. 12). Auf *Prunus persica* Batsch. äußerte sich nach der Frühjahrsinfektion eine hellgrüne Mosaikfleckung (Taf. II, Abb. 13) auf jüngeren Blättern, wie auch eine leichte Wuchshemmung der ganzen Pflanze.

Es sei vor allem gesagt, daß die positive Reaktion an »Shirofugen« bewiesen hat, daß unser Isolat Tv der Gruppe von Ringfleckenviren der Kirsche angehört.

Im Laufe der Untersuchungen der physikalischen Eigenschaften des Isolates Tv haben wir konstatiert, daß sein thermaler Inaktivierungspunkt zwischen 50° und 52° C liegt. Dieser thermale Inaktivierungspunkt steht aber innerhalb der Grenzen des thermalen Inaktivierungspunktes für PDV Isolate, d. h. von 45° bis 54° C (Waterworth und Fulton 1964). Mit Rücksicht auf den thermalen Inaktivierungspunkt unser Isolat stimmt aber ziemlich gut mit dem Isolat CNRV aus der Tschechoslowakei überein, das auch einen hohen thermalen Inaktivierungspunkt zwischen 48° und 50° C hat (Paulechová-Králiková und Kegler 1967). Das Isolat Tv zeigte eine positive serologische Reaktion mit dem Serum gegen PDV (homologer Titer 1:1024), das uns liebenswürdigerweise Herr Dr. R. W. Fulton (Madison, Wisconsin) gesendet hatte. Unser Isolat reagierte mit diesem Serum im Agargel bis zur Verdünnung 1:64. Aus diesem Ergebnis ist zu schließen, daß unser Isolat der Gruppe PDV von Fulton angehört.

Da wir bei den schon erwähnten Testpflanzen und Gehölzindikatoren charakteristische Symptome erzielt haben, konnten wir auf Grund davon unser Virus noch näher bestimmen. Dabei war die positive Reaktion auf *Solanum sisymbriifolium* sehr wichtig, die nach Németh (1965) als Testpflanze für Identifizierung des chlorotisch-nerkotischen Ringfleckenvirus (CNRV) der Kirsche dienen kann (vgl. auch Kegler 1965). Daß das Isolat Tv dem CNRV angehört, zeigten auch die Reaktionen an einigen Indikatoren, z. B. auf »Bing« chlorotisch-nekrotische Läsionen und auf »Montmorency« nekrotische Läsionen und Vergilbung (vgl. Kegler 1963, 1965).

Das Isolat Tv zeigt mit Rücksicht auf die Pflanzensymptome und auf die physikalischen Eigenschaften (Verdünnungsendpunkt ist 1:20 bis 1:40, Beständigkeit *in vitro* bei Zimmertemperatur nur ein Tag) eine Übereinstimmung mit den Eigenschaften von CNRV. Unser Isolat unterscheidet sich aber vom CNRV von Kegler in Hinsicht auf den thermalen Inaktivierungspunkt, der bei CNRV zwischen 44° und 46° C und bei unserem Isolat — wie schon angeführt ist — zwischen 50° C und 52° C liegt, und in Hinsicht auf die Symptome auf *Prunus persica*, bei der unser Isolat eine Mosaikfleckung und das Virus von Kegler nur Wuchshemmung verursacht (Kegler 1965).

Aus allen diesen Angaben geht hervor, daß unser Isolat (Tv) ein Stamm von CNRV ist und daß er der Gruppe PDV angehört. Unser Isolat weist eine ziemlich große Beständigkeit auf, so daß es auch im Sommer auf Gurken kultiviert werden kann.

Nekrotisches Ringfleckenvirus

Das zweite Isolat Šv stammte aus einer Pflaume, die ebenso in unserem Botanischen Garten gezogen wurde. In diesem Baum wurde das Isolat Šv mit dem Scharkavirus gemischt. Im Laufe dieser Untersuchung wurde dieses zweite Virus mit Hilfe von *Chenopodium foetidum* (Taf. III, Abb. 22) isoliert und identifiziert.

Gelegentlich der Identifizierungsversuche haben wir das Isolat Šv auf 10 krautige Testpflanzen und 3 Gehölzindikatoren mit Erfolg übertragen.

Bei *Cucumis sativus* (Delikateß) verursachte das Isolat Šv auf den Kotyledonen runde hellgrüne oder verwaschene Flecke, auf den ersten Laubblatt Nekrotisierung oder Mosaikfleckung und Deformationen (Taf. III, Abb. 19), wie auch eine starke Wuchshemmung der ganzen Pflanze. Auf *Cucurbita maxima* entstanden vereinzelte gelbgrüne oder nekrotische Flecke auf den Laubblättern. Bei infizierten *Momordica balsamina*-Pflanzen entwickelten sich vereinzelte nekrotische Flecke auf Abreibblättern und leichte chlorotische Fleckung auf Folgeblättern. Bei *Chenopodium amaranticolor* und *Ch. quinoa* entstanden auf Folgeblättern chlorotische Flecke und Ringe (Taf. III, Abb. 14 und 16) manchmal auch Eichenblattmuster (Taf. III, Abb. 15). Auf inokulierten Blättern und auf Folgeblättern von *Antirrhinum majus* äußerten sich gewöhnliche oder gezonte graue bis braune nekrotische Ringe und nekrotische Zeichnungen (Taf. III, Abb. 17 und 18). Bei *Nicotiana tabacum* (Samsun) und *Ammi majus* war die Infektion latent. Das Isolat Šv haben wir auch noch auf *Cucurbita pepo* und *Cyclanthera pedata* mit Erfolg übertragen.

Daß die angeführten Testpflanzenreaktionen durch das Isolat Šv herfergerufen wurden, wurde durch das positive Ergebnis der Rückübertragungsversuche bestätigt. Bei folgenden Arten gelangen uns aber keine Infektionen und Rückübertragungen: *Chenopodium album*, *Ch. foetidum*, *Ch. murale*, *Sesbania exaltata*, *Nicotiana megalosiphon*, *Solanum sisymbriifolium* und *Zinnia elegans*.

Was die Symptome auf den Gehölzindikatoren betrifft, reagierte »Shirofugen« mit Nekrosen und Gummifluß um die Okulationsstelle (Taf. III, Abb. 21). Auf der Vogelkirsche haben sich B-Enationen geäußert (Taf. III, Abb. 20). Nach der Frühjahrsinfektion zeigte *Prunus persica* Spitzennekrosen und doch später wieder Erholung.

Bei den Untersuchungen der physikalischen Eigenschaften haben wir folgende Ergebnisse bekommen: der thermale Inaktivierungspunkt befindet sich zwischen 57° und 60° C, der Verdünnungsendpunkt zwischen 1 : 120 und 1 : 150 und die Beständigkeit in vitro beträgt bei 22° C über 3 Tage.

Das Isolat Šv reagierte positiv mit dem Serum gegen necrotic ringspot virus (NRV), das uns liebenswürdigerweise Herr Dr. R. W. Fulton gesendet hat (homologer Titer 1 : 2048). Unser Isolat reagierte mit diesem Serum im Agargel bis zur Verdünnung 1 : 512. Demzufolge zeigt es eine Verwandtschaft mit dem NRV von Fulton.

Damit haben wir unser Isolat Šv als einen Stamm des NRV identifiziert. Es unterscheidet sich aber von dem typischen Stamm des NRV durch die Reaktion auf *Chenopodium amaranticolor* und *Ch. quinoa*, wo es keine nekrotischen sondern chlorotische Veränderungen verursacht (vgl. K e g l e r 1962 und 1965.). Außerdem sind auch die Symptome auf *Momordica balsamina* und *Ammi majus* unterschiedlich von jenen, die K e g l e r (1964, 1965) beschrieben hat. Auf *Momordica balsamina* kommt es zu keiner Spitzennekrose, sondern nur zu nekrotischen und chlorotischen Symptomen auf den Blättern. Auf *Ammi majus* bleibt unser Isolat latent. Mit Rücksicht auf seine physikalischen Eigenschaften unterscheidet sich aber unser Isolat nicht wesentlich von dem NRV, das K e g l e r genauer untersucht hat.

Testung der Süßkirschenbäume

Im Laufe unserer Untersuchungen haben wir auch die Testung mehrerer Süßkirschenbäume in Umgebung von Zagreb (Lukšić) durchgeführt. Dabei wollten wir feststellen, wie groß der Virusanfall der Süßkirschenbäume bei uns ist. Während der Testung von 16 zufällig ausgewählten Kirschenbäumen haben wir festgestellt, daß 8 Kirschenbäume schon virusinfiziert waren. Die Anzahl der kranken Bäume muß also hier sehr groß sein.

Einige Isolate aus diesen Süßkirschen (T1, T2, T3, T8) versuchten wir auf *Cucumis sativus* zu kultivieren. Während dieser Versuche hatten wir viele Schwierigkeiten sogar bei der Übertragung dieser Isolate von Gurken auf Gurken, so daß es uns im bestem Fall gelang 40% von den inokulierten Exemplaren zu infizieren. Auf Gurkenkotyledonen verursachten diese Isolate einzelne chlorotische Läsionen, oder blieben die Symptome ganz aus. Auf den ersten Laubblättern von Gurken konnten Mosaik, Fleckung und leichte Deformationen wahrgenommen werden. Diese Isolate sind sehr auf höhere Temperatur empfindlich, so daß mit den wärmeren Tagen das Prozent der infizierten Gurken immer kleiner wurde. Während des Sommers zeigten sich auf den infizierten Gurken keine Symptome.

Wie aus dem Oberen ersichtlich ist, sind die untersuchten Süßkirschenisolate sehr unbeständig. Sie haben auch einen niedrigen thermalen Inaktivierungspunkt, der z. B. bei dem Isolat T8 unter 42° C lag. Zum Vergleich kann angeführt werden, daß die CRV Isolate von K e g l e r einen thermalen Inaktivierungspunkt von 40° bis 44° C hatten (K e g l e r 1963, 1965).

Auf Grund dieser Beobachtungen sind wir der Meinung, daß die Süßkirschenbäume aus Lukšić mit dem CRV infiziert sind.

Ein Teil dieser Untersuchungen wurde mit Hilfe von Dr. H K e g l e r (Aschersleben) ausgeführt, dem wir dafür auch an dieser Stelle schönstens danken.