

NATÜRLICHES VORKOMMEN
VON CARNATION MOTTLE VIRUS
IN *CHENOPODIUM QUINOA* WILLD.

ANA ŠARIĆ

(Institut für Pflanzenschutz der Landwirtschaftlichen Fakultät
der Universität, Zagreb)

Eingegangen am 3. Februar 1972

Einleitung

Vor einigen Jahren haben wir bei den im Gewächshaus kultivierten *Chenopodium quinoa*-Pflanzen eine Virusinfektion beobachtet. Das Virus verursachte ein systemisches, stark ausgeprägtes Mosaik. Einige anscheinend gesunde Pflanzen waren latent infiziert: die Symptome aber konnten an diesen Pflanzen nach Abreiben der Blätter induziert werden. Nach dieser Eigenschaft ähnelt dieses Virus dem sowbane mosaic virus (SMV) (Dias und Waterworth 1967, Kado 1967). Serologische Untersuchungen mit Antiseren gegen verschiedene SMV-Isolate zeigten aber keine serologische Verwandtschaft unseres Virus mit SMV. Es handelte sich um ein samenübertragbares Virus, das in den Pflanzen, die aus infizierten Samen ausgewachsen waren, latent blieb.

Wir haben sämtliche Pflanzen im Gewächshaus untersucht, um die Infektionsquelle zu entdecken, jedoch ohne Erfolg. Erst im Jahre 1970 wurde unser Isolat im Institut für Viroserologie in Braunschweig als carnation mottle virus (CarMV) indentifiziert. Da wir aber in unserem Gewächshaus mit diesem Virus nie gearbeitet haben und sogar nie eine Nelkenpflanze hatten und da es nicht bekannt ist, daß dieses Virus einen Vektor hätte, konnten wir das Vorkommen des CarMV nicht erklären.

Obwohl das CarMV bei Nelken sehr verbreitet ist und seine Eigenschaften gut erforscht sind (Devergne und Cardin 1967a, 1967b, Hollings und Stone 1960, 1967, 1968, 1970, Kassanis 1955, Kemp 1964, 1966, Tremaine 1970), wollten wir feststellen, ob sich unser Isolat nach seiner Antigenstruktur sowie nach anderen Eigenschaften von dem bekannten typischen Stamm des CarMV unterscheidet.

Material und Methoden

Das Isolat von carnation mottle virus aus *Chenopodium quinoa*, das aus einem Gewächshaus in Zagreb stammte, wurde vergleichsweise mit dem von Hollings (Littlehampton) erhaltenen typischen Stamm aus Nelken geprüft. Die serologischen Untersuchungen erfolgten im Agargel-diffusionstest. Für diese Untersuchungen standen uns auch die Seren gegen diese zwei Viren zur Verfügung.

Für Reingewinnung des Virus aus infizierten *Chenopodium quinoa* Pflanzen wurde die modifizierte Chloroform-Butanol Methode mit nachfolgender Ultrazentrifugierung (Harrison und Nixon 1960) angewendet.

Ergebnisse

Die physikalischen Eigenschaften des *Chenopodium*-Isolates, die im rohen Saft von *Chenopodium quinoa* geprüft wurden, stimmten im allgemeinen mit den für CarMV Literaturangaben überein: der Verdünnungsendpunkt betrug 10^{-7} bis 10^{-8} , der Thermalinaktivierungspunkt lag zwischen 85° und 90° C, das Virus behielt seine Infektiosität bei Zimmertemperatur etwa 50 Tage, in dehydrierten Blättern bei 4° C sogar mehr als 3 Jahre.

Hinsichtlich der biologischen Eigenschaften wurde festgestellt, daß die Übertragung des Virus durch die Samen von *Ch. quinoa* bis zu 25% betrug. Bei den Pflanzen die durch Samen infiziert waren, war das Virus meist latent; die Symptome konnten aber nachträglich durch mechanische Verletzung der latent infizierten Pflanzen induziert werden.

Das Virus konnten wir aus Blättern und Pollen isolieren, jedoch nicht aus Wurzeln.

Abb. 1. Blätter von *Chenopodium quinoa* mit Symptomen; a: lokale Symptome, b: systemische Symptome.

Sl. 1. Simptomni na listovima *Chenopodium quinoa*; a: lokalni simptomi; b: sistemični simptomi.

Abb. 2. Sedimentationsverhalten des purifizierten *Chenopodium*-Stammes von CarMV im Phosphatpuffer 0,03 M, ph 7, Verdünnung 1 : 2, Versuchsdaten: 24.000 U/min, 20° C, 8 Minuten nach Erreichen der Geschwindigkeit.

Sl. 2. Sedimentacijske karakteristike purificiranog CarMV iz *Chenopodium quinoa* u fosfatnom puferu 0,03 M, ph 7,5; razrjeđenje 1 : 2; 24.000 o/min, 20° C, 8 minuta nakon postizanja brzine.

Abb. 3. Serologische Reaktionen im Agargel; Ca: CarMV, typischer Stamm; C: *Chenopodium* Stamm; G: gesunde *Chenopodium quinoa*, AC: Antiserum gegen *Chenopodium* Stamm von CarMV (Titer 1 : 640), 16 fach verdünnt.

Sl. 3. Serološke reakcije u agargelu: Ca: CarMV, tipični soj; C: soj iz *Chenopodium quinoa*; G: zdrava biljka *Ch. quinoa*; AC antiserum od CarMV (soj *Chenopodium*), titar 1 : 640, 16 puta razrijeđen.

Abb. 4. Elektronenmikroskopische Aufnahme des purifizierten Virus. Negativkontrastierung mit Phosphorwolframsäure, 150.000 : 1.

Sl. 4. Elektronskomikroskopska fotografija purificiranog virusa. Kontrastirano s fosfornovolframskom kiselinom, 150.000 : 1.

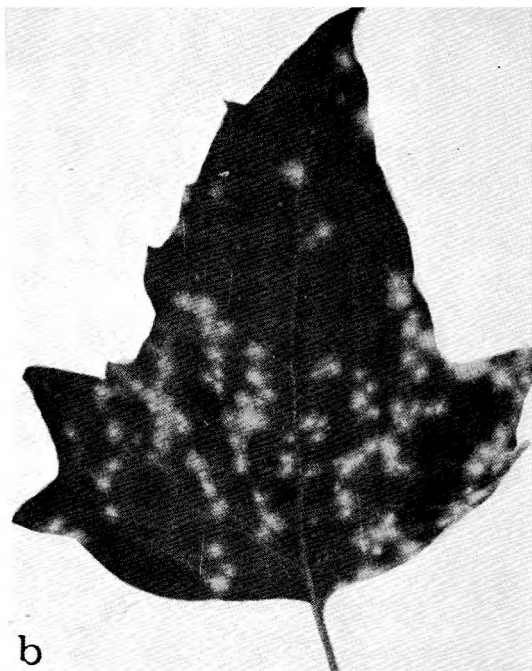
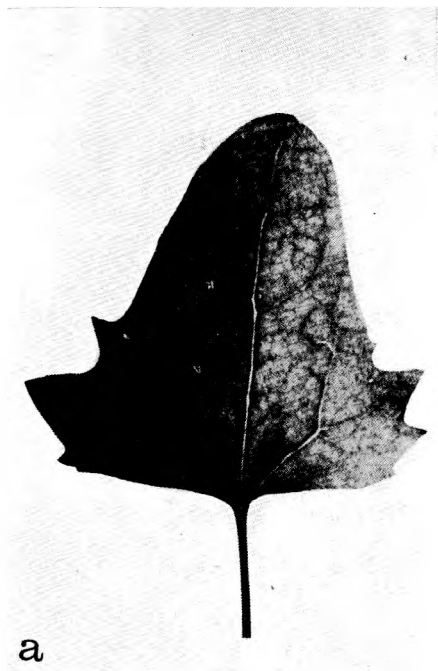


Abb. 1.

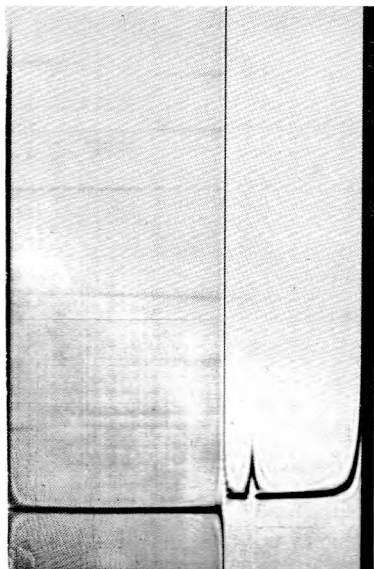


Abb. 2.

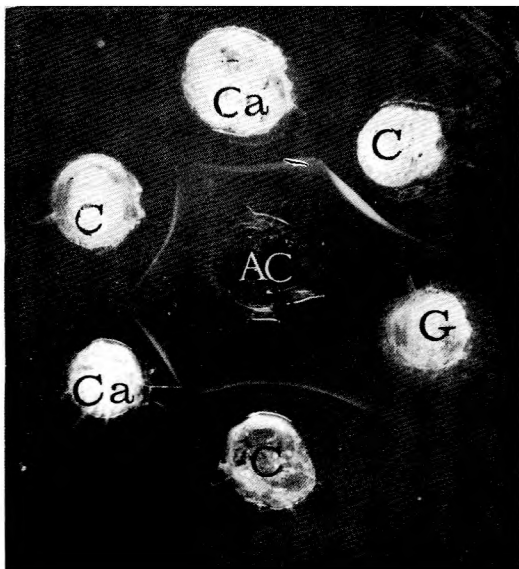


Abb. 3.

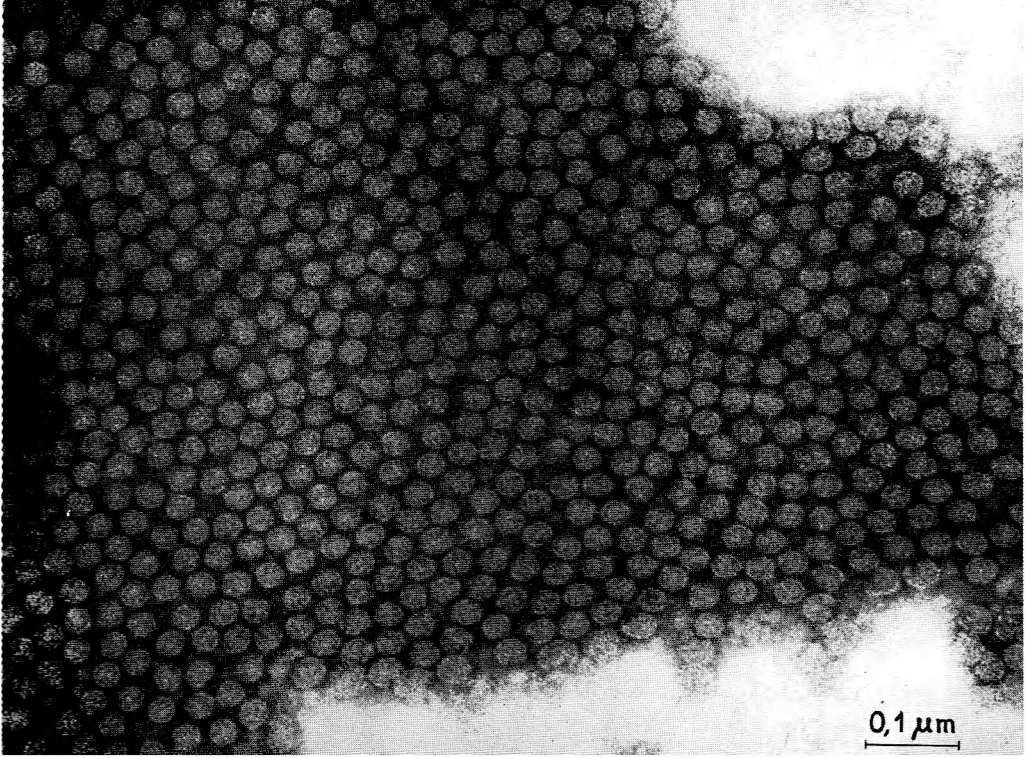


Abb. 4.

Die Symptome, die der *Chenopodium*-Stamm und der typische Stamm hervorrufen, sind an den Wirtspflanzen nicht zu unterscheiden. Eine lokale Varietät von *Dianthus barbatus* konnte nur latent infiziert werden, doch die Anwesenheit des Virus konnte sowohl serologisch als auch durch Überimpfen auf *Ch. quinoa* nachgewiesen werden.

Mit Hilfe der Butanol-Chloroform Methode wurde ein sauberes Viruspräparat gewonnen, das sich in der analytischen Ultracentrifuge als eine einzige Komponente mit einem Sedimentationskoeffizient 115 S_{20} , w sedimentierte. Bei dieser Methode geht jedoch ein beträchtlicher Teil des Virusmaterials wegen seiner geringen Stabilität im Phosphatpuffer verloren, weshalb es notwendig ist, das Virus nach der Ultrazentrifugierung in Tris-HCl Puffer aufzunehmen (T r e m a i n e 1970).

Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen isodiametrische Partikeln mit gelegentlichen hexagonalen Profilen und mit Durchmesser von 23—25 nm (Abb. 4).

Serologische Untersuchungen in Agargeldiffusionstest zeigten, daß zwischen unserem Isolat und dem typischen Nelkenstamm keine Unterschiede bezüglich der serologischen Eigenschaften bestehen. Unser Isolat reagierte mit dem homologen Antiserum sowie mit dem Antiserum gegen den typischen Stamm bis zu demselben Serumtiter, wobei sich eine dünne Präzipitatlinie bildete, die sich mit der Linie des Vergleichisolates völlig vereinigte (Abb. 3). Die geprüften Isolate sind also serologisch nahe verwandt oder sogar identisch.

Unser Isolat reagierte weder mit den Antiseren von SMV, noch mit den Antiseren von einigen anderen isometrischen Viren (*Arabis mosaic virus*, grapevine fanleaf virus, turnip crinkle virus, *Cucumis mosaic virus*, tomato bushy stunt virus).

D i s k u s s i o n

Das untersuchte *Chenopodium*-Isolat unterscheidet sich nicht vom typischen CarMV in seinen serologischen Eigenschaften. Es unterscheidet sich jedoch von anderen Nelkenstämmen, d.h. dem typischen Stamm und PSR-Stamm, durch folgende Eigenschaften: 1. es ist durch Pollen und Samen von *Chenopodium quinoa* übertragbar, 2. es kann in den aus infizierten Samen ausgewachsenen Pflanzen latent bleiben und 3. die Symptome von latent infizierten Pflanzen können nach Abreiben der Blattspreiten auf denselben Pflanzen hervorgerufen werden. Diese Eigenschaft erinnert an SMV, weshalb der Verdacht bestand, daß es sich um eine gemischte Infektion mit CarMV und SMV handelte. Die Ergebnisse der analytischen Ultrazentrifugierung zeigten jedoch die Anwesenheit nur einer Komponente (Abb. 2), was übrigens auch die elektronenmikroskopischen Untersuchungen sowie die negativen serologischen Reaktionen mit SMV-Antiserum beweisen konnten. Zahlreiche serologische Reaktionen wurden mit dem SMV-Antiseren verschiedener Herkunft (kanadischer, südafrikanischer und deutscher) durchgeführt und alle waren immer negativ. Wir meinen jedoch, daß das *Chenopodium*-Isolat, abgesehen von der serologischen Verwandtschaft mit dem typischen Stamm, wegen der bestehenden Unterschiede im Bezug auf die biologischen Eigenschaften dennoch als ein besonderer Stamm betrachtet werden soll. Der PSR-Stamm unterscheidet sich serologisch ebenfalls nicht vom typischen, wird aber gerade wegen unterschiedlicher Symptome, die er an einigen Wirts-

pflanzen hervorruft, als ein besonderer Stamm betrachtet (Hollings und Stone 1964). Die natürliche Infektion von *Ch. quinoa* mit diesem Nelkenvirus lässt sich z.Z. nicht interpretieren, ebenso wie auch die Infektion der Nelken mit dem an *Chenopodium* häufig vorkommenden SMV nicht erklärt wurde (Hollings 1967).

Soweit uns bekannt ist, dies der erste Befund des CarMV in Jugoslawien.

Zusammenfassung

Das hier beschriebene *Chenopodium*-Isolat von carnation mottle virus (CarMV) unterscheidet sich von bekannten Nelkenstämmen des CarMV indem es durch Samen und Pollen von *Ch. quinoa* übertragbar ist und indem es auf den durch Samen infizierten *Ch. quinoa*-Pflanzen latent bleibt. Nach Verletzung der Blätter symptomloser Pflanzen können die Symptome hervorgerufen werden. Serologisch ist es jedoch vom typischen Nelkenstamm nicht unterscheidbar. Die physikalischen Eigenschaften *in vitro* stimmen mit den in der Literatur bestehenden Angaben für CarMV überein.

Auf Grund der Unterschiede in Bezug auf diese biologische Eigenschaften ist das *Chenopodium*-Isolat als ein besonderer Stamm von CarMV anzusehen.

Dies ist unseres Wissens der erste Befund von CarMV in Jugoslawien.

*

Frau Dr. Mercedes Wrischer, die die elektronenmikroskopischen Untersuchungen durchführte, soll bestens gedankt werden.

Herrn Dr. M. Hollings (Littlehampton, England) danke ich herzlichst für die Übersendung des typischen CarMV-Stammes und des entsprechenden Antiserums.

Herren Prof. R. Bercks (Braunschweig), Prof. M. H. Van Regenmortel (Stellenbosch, Südafrika) und Dr. H. Dias (St. Catherines, Canada), bin ich für die Antiseren von SMV zu Dank verpflichtet.

Schrifttum — Literatura

- Devergne, J.-C. et L. Cardin, 1967a: Isolement, purification et analyse immunoelectrophoretique des virus du mottle et du ringspot de l'Oeillet. Ann. Epiphyties 18, n. H.S., 65—83.
- Devergne, J.-C. et L. Cardin, 1967b: Utilisation de la reaction serologique en immunodiffusion, comme test de diagnostic du virus du mottle de l'Oeillet. Ann. Epiphyties 18, n. H.S., 85—103.
- Dias, H. F. and H. E. Waterworth, 1967: The identity of a seedborne virus of *Chenopodium amaranticolor* and *C. quinoa*. Canad. J. Bot. 45, 1285—1295.
- Harrison, B. D. and H. L. Nixon, 1960: Purification and electron microscopy of three soil-borne viruses. Virology 12, 104—117.
- Hollings, M., 1967: In Annual Rep. Glasshouse Res. Inst. 1966, 92.
- Hollings, M., 1968: In Annual Rep. Glasshouse Res. Inst. 1967, 94.
- Hollings, M. and O. M. Stone, 1964: Investigation of carnation viruses. I. Carnation mottle virus. Ann. appl. Biol. 53, 103—118.

- Hollings, M., and O. M. Stone, 1970: Carnation mottle virus. CMI/AAB, Description of plant viruses № 7.
- Kado, C. I., 1967: Biological and biochemical characterization of Sowbane mosaic virus. *Virology* 31, 217—229.
- Kassanis, B., 1955: Some properties of four viruses isolated from carnation plants. *Ann. appl. Biolo.* 43, 103—113.
- Kemp, W. G., 1964: The identity of two sap transmissible viruses of carnation in Ontario. *Canad. J. Bot.* 43, 45—55.
- Kemp, W. G. and L. J. Fazekas, 1966: Differentiation of strains of Carnation mottle virus in crude plant extracts by immunodiffusion in agar plates. *Can. J. Bot.* 44, 1261—1265.
- MacLeod, R. and R. Markham, 1963: Experimental evidence of a relationship between turnip yellow mosaic virus and wild cucumber mosaic virus. *Virology* 19, 190—197.
- Šarić, A., 1969: Pojava semilatentnog virusa u biljci *Chenopodium quinoa* Willd. III Kongres biologa Jugosl. Knjiga plen. referatov in povzetkov 255—256.
- Tremaine, J. H., 1970: Physical, chemical, and serological studies on Carnation mottle virus. *Virology* 42, 611—620.

S A D R Ź A J

PRIRODNA ZARAZA VRSTE *CHENOPODIUM QUINOA* VIRUSOM ISARANOSTI KARANFILA (CARNATION MOTTLE VIRUS)

Ana Šarić

(Institut za zaštitu bilja Poljoprivrednog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu)

Pred nekoliko godina zapažena je u uzgoju biljaka *Chenopodium quinoa* Willd. u staklenicima Poljoprivrednog fakulteta u Zagrebu zaraza virusom koji je izazivao jaki sistemični mozaik. Neke biljke prividno zdrava izgleda bile su također latentno zaražene, a simptomi su se mogli izazvati trljanjem njihovih listova vodom. Po ovom posljednjem svojstvu taj virus je sličan drugom izometričnom virusu roda *Chenopodium* koji je poznat kao sowbane mosaic virus (SMV). Serološka su istraživanja, međutim, pokazala da ne postoji nikakva serološka srodnost sa SMV. Izolirani virus bio je potom identificiran kao virus karanfila carnation mottle virus (CarMV).

Iako su svojstva CarMV bila već dobro poznata, jer se radi o najrasprostranjenijem virusu karanfila, smatralo se ipak da je potrebno temeljitije proučiti izolat iz biljke *Chenopodium* kako bi se utvrdilo da li postoje neke razlike u biološkim, fizikalnim i serološkim svojstvima u odnosu na već poznate sojeve iz karanfila.

Virus je bio purificiran, određen je sedimentacijski koeficijent virusa i izrađene su elektronskomikroskopske fotografije čestica.

Ispitivanja su pokazala da se izolat iz biljke *Chenopodium* po fizikalnim svojstvima *in vitro* bitno ne razlikuje od postojećih sojeva iz karanfila. Također su i serološka ispitivanja, primjenom imunodifuzije u gelu, pokazala da među njima nema razlike ni u serološkim svojstvima. Međutim, u biološkim svojstvima utvrđene su razlike. Po svojstvima da se

virus prenosi sjemenom i polenom biljke *Ch. quinoa* zatim da u tim biljkama, zaraženim s pomoću sjemena, može biti latentan, kao i da se simptomi kod latentno zaraženih biljaka mogu inducirati, izolat biljke *Chenopodium* razlikuje se od postojećih sojeva iz karanfila.

Na osnovi dijagrama dobivenog analitičkom ultracentrifugacijom, koji prikazuje prisutnost samo jedne komponente, na osnovi elektronsko-mikroskopske fotografije, te na osnovi pozitivne serološke reakcije CarMV-antiserumom, potpuno se isključuje mogućnost da je uz CarMV bio prisutan i neki drugi virus koji bi bio uzrokom navedenih razlika u biološkim svojstvima.

Diferenciranje dvaju postojećih sojeva iz karanfila — tipičnog i PSR-soja — temelji se na razlikama u biološkim svojstvima. PSR-soj, za razliku od tipičnog soja, izaziva lokalne nekrotske lezije na određenim test-biljkama. Smatramo stoga da izolat iz biljke *Chenopodium* na osnovi utvrđenih razlika u biološkim svojstvima također treba smatrati za posebni soj CarMV.

Ovo je prvi nalaz CarMV u Jugoslaviji.

Prof. dr Ana Šarić
Zavod za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu
Šimunska 25
41000 Zagreb (Jugoslavija)