

# VIRUS KLOTOTIČNE PRSTENASTE PJEGAVOSTI TREŠNJE NA BADEMU

Mit deutscher Zusammenfassung

NADA PLEŠE

(Institut za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primitljeno 3. 2. 1972.

## Uvod

Dosadašnja istraživanja virusa na bademima pokazala su da latentna infekcija, koja općenito nije rijetka na vočkama, nastaje i kod ove vrste. Tako je Németh (1965) utvrdila da su naoko zdrava stabla badema bila u znatnom broju inficirana virusom nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje (VNPP). Nasuprot tome, Nyland i Lowe (1964) utvrdili su da poseban soj VNPP uzrokuje na bademu tzv. bolest kaliko (almond calico), pri kojoj se na listovima badema pojavljuju vrlo izraziti simptomi. Iz radova talijanskih istraživača (Scaramuzzi 1957; Canova, Faccioli i Tacconi 1965; Majorana i Martelli 1966) možemo vidjeti da i kod mozaika badema (almond mosaic), koji se inače odlikuje vrlo uočljivim simptomima na listovima, može zaraza biti prita-jene naravi.

Navedeni podaci, kao i prijašnje iskustvo u istraživanju virusa na koštičavu voću, naveli su nas na pretpostavku da bi i na izgled zdrava stabla badema u našim primorskim krajevima mogla biti u većem ili manjem obimu latentno virusno zaražena. Zbog toga smo poduzeli istraživanja badema u našim primorskim područjima.

## Materijal i metode

Testiranje badema i izolacija virusa iz stabala provedena je na uobičajen način, tako da smo lisne pupove ili razvijene mlade vršne listove homogenizirali uz dodatak nekoliko kapi stabilizacijske smjese (Opel i Kegler 1969) i tim homogenatom natrljali kotiledone krastavaca sorte »Delikates«.

Tri virusna izolata (B2, B4 i B5) koje smo detaljnije analizirali potjecala su od triju stabla badema s Brusja na otoku Hvaru. Izolate

smo održali na kotiledonima krastavca. Pokušaj identifikacije navedenih izolata izvršen je na osnovi simptoma na specifičnim pokusnim biljkama. Prilikom priređivanja infektivnog inokuluma soku iz kotiledona krastavca dodano je nekoliko kapi 0,03 M fosfatnog pufera pH 7,5.

## Rezultati

### *Pregled stabala badema*

Ukupno smo ispitali 30 stabala badema, i to iz sedam različitih lokaliteta primorskog područja. Stabla su bila nasumce odabrana i nisu pokazivala nikakve uočljive vanjske simptome virusnog oboljenja. Lokaliteti, broj ispitanih kao i broj virusno inficiranih stabala prikazani su na tabeli 1.

Iz tabele 1 se vidi da je od ukupno 30 ispitanih stabala badema u 12 stabala utvrđena virusna infekcija, a to znači da je 40% ispitanih stabala bilo inficirano. Ova, iako tek orijentacijska istraživanja, navode nas na zaključak da su stabla badema u nas prilično često latentni nosioci virusne infekcije.

Tabela 1. Učestalost virusno inficiranih stabala badema  
Tabelle 1. Häufigkeit der virusinfizierten Mandelbäume

Lokalitet Lokalität	Broj ispitanih stabala Anzahl von getesteten Bäumen	Broj inficiranih stabala Anzahl von infizierten Bäumen
Kaštel Stari	8	5
Brusje (Hvar)	5	3
Lastovo	5	1
Sukošan	5	1
Mlini (Dubrov.)	3	1
Podgora	3	1
Sinj	1	—
Ukupan broj stabala	30	12
Gesamte Anzahl der Bäume		

### *Identifikacija virusnih izolata iz badema*

Da bismo utvrdili koji je virus prisutan u latentno inficiranim bademima, pobliže smo analizirali izolate B2, B4 i B5. Budući da su već simptomima na krastavcima prilikom izolacije virusa iz stabala dali naslutiti da bi testirana stabla mogla biti zaražena nekim virusom iz skupine prstenaste pjegavosti trešnje, usmjerili smo naša istraživanja u tom pravcu.

Identifikaciju izolata B2, B4 i B5 iz badema izvršili smo s pomoću nekoliko važnijih pokusnih biljaka i diferencijalnih zeljastih domaćina koji se upotrebljavaju u istraživanju virusa prstenaste pjegavosti trešnje (K e g l e r 1963, 1965b; N é m e t h 1965). Na niže navedenim biljkama izolati su uzrokovali ove simptome:

*Cucumis sativus* L. (Delikates). Na inokuliranim kotiledonima nastaje manji broj ili samo pojedinačne klorotične lezije. Na pravim listovima pojavljuju se blaže deformacije plojke i mozaik (sl. 1 C), koji daljim rastom biljke postupno slabi i iščezava.

*Cucurbita maxima* Duch. Pravi listovi razvijaju karakteristično zlatno-žuto šarenilo lisne plojke (sl. 1 A).

*Nicotiana tabacum* L. (Samsun). Zaraza je lokalna. Na inokuliranim listovima izolati uzrokuju tanke bijele isprekidane nekrotične linije, koje formiraju različite koncentrične prstenove i šare (sl. 1 B).

*Sesbania exaltata* (Raf.) Cory. Na inokuliranim kotiledonima nastaju smeđe nekrotične lokalne lezije.

*Tithonia speciosa* Hook. Zaraza je sistemična. Na lisnoj plojci razvijaju se žučkastozelene pjege i linije.

Inokulirani primjerci vrste *Momordica balsamina* L. i *Antirrhinum majus* L. nisu pokazivali nikakve vanjske simptome, no moguća latentna infekcija nije provjerena.

Izolati B2, B4 i B5 nisu inficirali vrste *Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn i *Ch. quinoa* Willd.

Na osnovi opisanih simptoma na pokusnim biljkama zaključili smo da navedeni virusni izolati iz badema pripadaju virusu klorotične prstenaste pjegavosti trešnje (VKPP). Karakteristični simptomi koje su analizirani izolati uzrokovali na pokusnim biljkama *Cucurbita maxima*, *Sesbania exaltata*, *Tithonia speciosa* (K e g l e r 1965 b) i *Nicotiana tabacum* (Samsun) (K e g l e r 1963; N é m e t h 1965) te nemogućnost infekcije vrsta *Chenopodium amaranticolor* i *Ch. quinoa* (K e g l e r 1965 b) potvrđuju da su bademi inficirani tim virusom.

Prema simptomima na krastavcu vrlo je vjerojatno da i ostalih 9 virusnih izolata iz badema pripadaju VKPP trešnje, i da su prema tome stabla badema u našim primorskim krajevima prilično često latentno inficirana navedenim virusom.

#### *Simptomi na zeljastim biljkama uzrokovani bakterijom koja parazitira na bademima*

Istraživači R a m a s w a m y i G a r r e t t (1970) prilikom pokušaja izolacije virusa iz cvjetova kruške i pupova trešnje slučajno su izolirali bakteriju, koja je na kotiledonima krastavca i bundeve i listovima crnokice uzrokovala nekrotične lokalne lezije. Te lezije bile su vrlo slične virusnim lezijama. Ustanovili su da ih uzrokuje bakterija *Pseudomonas syringae* van Hall, koja prezimi u pupovima i lako se prenosi mehaničkom inokulacijom.

Mi smo također prilikom testiranja stabala badema izolirali jedan agens (označen NL-agens), koji na kotiledonima krastavca (*Cucumis sativus* L. »Delikates«) i bundeve (*Cucurbita maxima* Duch.) te listovima vrste *Vigna sinensis* (Torn.) Endl. uzrokuje točkaste i prstenaste nekrotične lezije. Te lezije su jako nalikovale virusnim lezijama, i u prvi mah

smo smatrali da su izazvane nekim drugim virusom iz badema. Međutim kako su nekrotične lezije uzrokovane NL-agensom bile po svom izgledu gotovo identične nekrotičnim lezijama koje su opisali Ramaswamy i Garrett (1970), to smo naslutili da se i u našem slučaju radi o bakteriozi, a ne o virusnoj bolesti. Kao i spomenuti autori, i mi smo utvrdili da se uzročnik nekrotičnih lezija lako prenosi mehaničkom inokulacijom iz krastavca na krastavac, bundevu ili crnokicu.

U prilog bakterijske naravi NL-agensa govori činjenica, što sok krastavca sa NL-agensom nije uzrokovao nekrotične lezije na kotiledonima nakon prolaza kroz bakterijske filtre. Osim toga, s pomoću svjetlosnog mikroskopa mogli smo u području nekrotičnih lezija zapaziti živo gibanje mnoštva sićušnih bakterija. Dalja će istraživanja pokazati da li se i u slučaju NL-agensa radi o bakteriji iz roda *Pseudomonas*.

Prema tome smatramo da i u pupovima badema prezimljuje parazit-ska bakterija koja na pokusnim biljkama izaziva simptome vrlo slične virusnim. Zbog toga je potreban oprez prilikom istraživanja.

Na tabeli 2 prikazana je raširenost bakterije (NL-agensa) na ispitanim stablima badema:

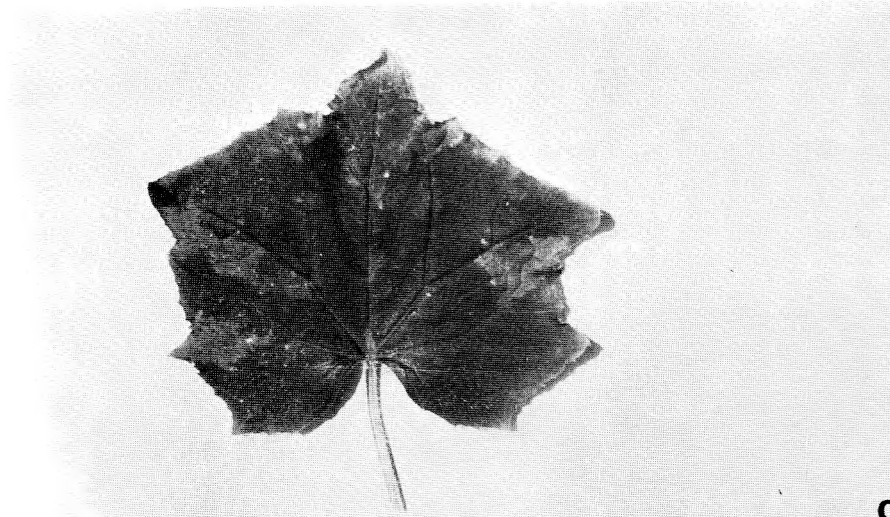
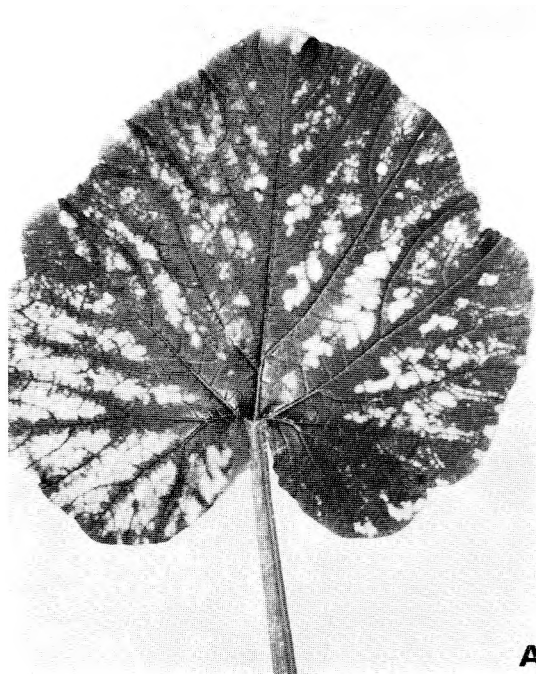
Tabela 2. Učestalost parazitske bakterije (NL-agensa) na ispitanim stablima badema

Tabelle 2. Häufigkeit des parasitischen Bakteriums (NL-Agens) auf Mandelbäumen

Lokalitet Lokalität	Broj ispitanih stabala Anzahl von getesteten Bäumen	Broj stabala inficiranih NL-agensom Anzahl von mit NL-Agens infizierten Bäumen
Kaštel Stari	8	3
Brusje (Hvar)	5	—
Lastovo	5	5
Sukošan	5	5
Mlini (Dubrovn.)	3	3
Podgora	3	—
Sinj	1	—
Ukupan broj stabala Gesamte Anzahl der Bäume	30	16

Sl. 1. Zlatnožuto šarenilo na listu vrste *Cucurbita maxima* (A), bijele isprekidane nekrotične linije i koncentrični prstenovi na inokuliranom listu vrste *Nicotiana tabacum* (Samsun) (B), mozaik na listu vrste *Cucumis sativus* (C).

Abb. 1. Goldgelbe Verfärbung von *Cucurbita maxima* (A), weiße gestrichelte nekrotische Linien und konzentrische ringförmige Zeichnungen auf Abreibblatt von *Nicotiana tabacum* (Samsun) (B), mosaik an Laubblatt von *Cucumis sativus* (C).



Sl. 1. — Abb. 1.

## Diskusija

Virusne bolesti prstenaste pjegavosti trešnje vrlo su rasprostranjene i imaju širok domaćina, osobito među nekim vrstama koštičavog voća. Osim što znatno smanjuju urod, karakterizirane su prilično velikim postotkom inficiranih stabala (Kegler 1964) i učestalom latentnom infekcijom, što je osobito čest slučaj kod infekcije VKPP trešnje (Kegler 1965 a).

Kako dosadašnja virusna istraživanja na bademima nisu mnogobrojna, malo je poznato o infekciji badema virusima prstenaste pjegavosti trešnje, osobito o infekciji VKPP trešnje.

Infekcija badema VNPP trešnje utvrđena je u šest evropskih zemalja, i to Bugarskoj, Čehoslovačkoj, Francuskoj, Mađarskoj, SSSR-u i Španjolskoj (Kristensen 1970). Međutim, prisutnost VKPP trešnje u bademima u Evropi utvrđena je dosad jedino u Francuskoj (Kristensen 1970). Našim smo ispitivanjima utvrdili da su na izgled zdrava stabla badema na jadranskom području Jugoslavije također prirodni domaćini VKPP trešnje.

NL-agens iz badema najvjerojatnije predstavlja bakteriju. Čini se da je to još jedan slučaj da izolirana bakterija na listovima pokusnih biljaka uzrokuje simptome koji su vrlo slični virusnim simptomima. Osim Ramaswamy i Garrettove (1970), takve su bakterije prije izolirali Yarwood i sur. (1961) iz repe, Schmelzer i Molnár (1964) iz suncokreta i dr. Pojave bakterioza s virusnim simptomima upućuju na oprez prilikom izolacije virusa iz matičnih biljaka, kako ne bi bile zamijenjene virozom.

## Zaključak

Ispitali smo 30 stabala badema sa sedam različitih lokaliteta naših primorskih područja i ustanovili da je oko 40% latentno inficirano, i to virusom klorotične prstenaste pjegavosti trešnje (cherry chlorotic ring spot virus). To smo zaključili na osnovi detaljnije analize triju izolata na pokusnim biljkama, na kojima su se pojavili karakteristični simptomi.

Iz većeg broja ispitanih stabala badema izolirana je također bakterija (nazvana NL-agens), koja na kotiledonima krastavca (*Cucumis sativus* L. »Delikates«) i bundeve (*Cucurbita maxima* Duch.) i listovima vrste *Vigna sinensis* (Torn.) Endl. uzrokuje nekrotične lokalne lezije. Te se lezije ne razlikuju po izgledu od virusnih lezija.

## Literatura — Schrifttum

- Canova, A., G. Faccioli and R. Tacconi, 1965: A virus associated with almond mosaic. *Zaštita bilja* 16, 477—478.
- Kegler, H., 1963: Versuche zur Identifizierung von Ringfleckenviren der Kirsche. *Phytopath. mediterranea* 2, 175—180.
- Kegler, H., 1964: Viruserkrankheiten des Steinobstes. *Biolog. Zentralanst. DAL zu Berlin, Flugbl.* 26.
- Kegler, H., 1965 a: Untersuchungen über Ringfleckenkrankheiten der Kirsche. I Symptomatologie. *Phytopath. Z.* 53, 174—189.

- Kegler, H., 1965 b: Untersuchungen über Ringfleckenkrankheiten der Kirsche. II Wirtspflanzen und physikalische Eigenschaften von Ringfleckenviren. *Phytopath. Z.* 54, 305—327.
- Kristensen, H. R., 1970: List of fruit tree virus diseases in Europe 1970. *Materijali sa VIII evropskog simpozija o virusnim bolestima voćaka*. Bordeaux, 24—30 lipnja 1970.
- Majorana, G. e G. Martelli, 1966: Tentativi di termoterapia di mandorli affetti da »mosaico«. *Phytopath. mediterranea* 5, 103—108.
- Németh, M., 1965: Study and identification of ringspot viruses occurring on stone-fruits in Hungary. *Zaštita bilja* 16, 441—457.
- Nyland, G. and S. K. Lowe, 1964: The relation of cherry rugose mosaic and almond calico viruses to *Prunus* ringspot virus. *Phytopathology* 54, 1435.
- Opel, H. und H. Kegler, 1969: Tablettierung eines Stabilisierungsgemisches zur mechanischen Virusübertragung beim Obst. *Arch. Gartenbau* 17, 155—159.
- Ramaswamy, S. and Constance M. E. Garrett, 1970: Virus-like symptoms on cotyledons of *Cucurbita* plants caused by *Pseudomonas syringae* van Hall. *Pl. Path.* 19, 22—24.
- Scaramuzzi, G., 1957: Secondo contributo allo studio del »mosaico« del mandorlo in Puglia. Ulteriori ricerche sperimentali sulla malattia ed esperienze preliminari per la individuazione di »ceppi« virosici responsabili dei sintomi di essa. *Atti Ist. bot. Univ. Lab. critogam. Pavia*, 14, 156—173.
- Schmelzer, K. und A. Molnár, 1964: *Pseudomonas aptata* (Brown et Jamieson) Stevens im Zusammenhang mit vermeintlichen pflanzlichen Virusinfektionen. *Phytopath. Z.* 50, 112—128.
- Yarwood, C. E., E. C. Resconich, P. A. Ark, D. E. Schlegel and K. M. Smith, 1961: So-called beet latent virus is a bacterium. *Plant Dis. Rptr.* 45, 85—89.

## ZUSAMMENFASSUNG

### CHLOROTISCHES RINGFLECKENVIRUS DER KIRSCHEN IN MANDELBÄUMEN

Nada Pleše

(Botanisches Institut der Universität Zagreb)

Während der Untersuchung der Mandelbäume im Gebiet des jugoslawischen Küstenlandes stellten wir fest, daß diese Bäume häufig mit Virus latent infiziert sind. Von Mandelbäumen haben wir drei Isolate (B2, B4 und B5) näher analysiert. Die Identifizierung der Isolate wurde auf Grund der charakteristischen Symptome durchgeführt, die auf folgenden Testpflanzen beobachtet wurden:

*Cucumis sativus* (»Delikatess«), chlorotische Lokalläsionen auf Kotyledonen, Deformationen und Mosaik auf Folgeblättern (Abb. 1 C); *Cucurbita maxima*, charakteristische goldgelbe Verfärbung der Blätter (Abb. 1 A); *Nicotiana tabacum* (»Samsun«), graue bis weiße gestrichelte nekrotische Linien und ringförmige Zeichnungen auf den Abreibblättern (Abb. 1 B); *Sesbania exaltata*, braune nekrotische Lokalläsionen auf Kotyledonen; *Tithonia speciosa*, gelbgrüne Flecke und Linien auf Folgeblättern.

Demgegenüber waren *Chenopodium amaranticolor* und *Ch. quinoa* für das Virus nicht anfällig.

Auf Grund der charakteristischen Symptome und Reaktionen an oben erwähnten Wirtspflanzen (K e g l e r 1963, 1965 b; N é m e t h 1965) sind wir der Meinung, daß unsere drei Mandelisolat dem chlorotischen Ringfleckenvirus der Kirsche (cherry chlorotic ring spot virus) angehören.

Auf Grund der Symptome an Gurkenpflanzen konnten wir beschließen, daß auch die anderen Mandelbäume mit demselben Virus wahrscheinlich befallen sind. Insgesamt haben wir 30 Mandelbäume auf Gurkenkotyledonen geprüft. Die untersuchten Bäume stammten von sieben verschiedenen Lokalitäten des Küstenlandes (Tabelle 1). Im Laufe dieser Untersuchungen haben wir konstatiert, daß von 30 Mandelbäumen 12 Bäume, d. h. 40% virusinfiziert sind (Tabelle 1). Obwohl diese Untersuchungen nur einen Orientationscharakter hatten, zeigten sie doch, daß die Mandelbäume in Jugoslawien ziemlich oft latente Virusträger des chlorotischen Ringfleckenvirus der Kirsche sind. Bis jetzt wurde dieses Virus in Mandelbäumen nur in Frankreich nachgewiesen (K r i s t e n s e n 1970).

\* \* \*

Während dieser Untersuchungen haben wir aus Blätterknospen von mehreren Mandelbäumen ein sog. NL-Agens isoliert (Tabelle 2), das auf Gurken- und Kürbiskotyledonen und auf den Blättern von *Vigna sinensis* virusähnliche Symptome in Form von punkt- und ringförmigen nekrotischen Lokalläsionen verursachte. NL-Agens war mechanisch von einer krautigen Pflanze auf die andere sehr leicht übertragbar. Diese nekrotischen Läsionen waren fast identisch jenen, die R a m a s w a m y und G a r r e t t (1970) beschrieben haben, und die von Bakterium *Pseudomonas syringae* verursacht waren. Das Bakterium wurde von erwähnten Autoren aus Kirschen und Birnenbäumen zufällig isoliert.

Infolge der Ähnlichkeit der Symptome haben wir vermutet, daß auch die Läsionen auf unseren Pflanzen von einem Bakterium hervorgerufen sind. Eine Bestätigung, daß sich wirklich um ein Bakterium handelt, brachte uns folgender Versuch: der mit NL-Agens infizierte Gurkensaft konnte nach Passage durch Bakterienfilter nicht mehr nekrotische Läsionen verursachen. Außerdem sprach dafür die Tatsache, daß im Bereich der nekrotischen Läsionen schon mit Hilfe des Lichtmikroskops bewegliche Bakterien bemerkt werden konnten. Im Laufe weiterer Untersuchungen werden wir dieses Bakterium genauer bestimmen.

Nada Pleše, mr biol.,  
Institut za botaniku  
Sveučilišta u Zagrebu  
Marulićev trg 20/II  
41000 Zagreb (Jugoslavija)