

UDC 576.858.8:582.683.2(497.1) = 862

SPONTANA INFEKCIJA DVAJU VARIJETETA
RODA *BRASSICA* VIRUSOM MOZAIKA
ROTKVE (RADISH MOSAIC VIRUS)

DORDE MAMULA

(Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 01. 02. 1984

Na području Zagreba nađeni su primjerci biljaka *Brassica napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga* i *B. rapa* var. *sylvestris* s deformiranim, mozaičnim i šarenim listovima i nekrotičnim promjenama na njima. Na osnovi seroloških pokusa, reakcije pokusnih biljaka i virusnih staničnih uklopina dokazano je da je te simptome uzrokovala infekcija virusom mozaika rotkve (RaMV). Serološki pokusi su pokazali da virusni izolat Brs iz biljke *B. rapa* var. *sylvestris* i izolat Bnr iz biljke *B. napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga* pripadaju evropskom soju RaMV. Utvrđeno je da je izolat Brs serološki identičan evropskom soju, dok se izolat Bnr od njega razlikuje. Izgleda da do sada nisu zabilježene spontane infekcije navedenih biljaka s RaMV. Ustanovljeno je da RaMV zaražava vrstu *Nicotiana debneyi*, na čijim inokuliranim listovima uzrokuje simptome.

Uvod

Do sada je u svijetu a posebno u Evropi nađen veći broj virusa na biljkama iz porodice krstašice (*Brassicaceae*), i to na povrtnim, ukrasnim i samoniklim vrstama (usp. Štefanac 1967, Shukla i Schmelzer 1972, 1975). Iz takvih biljaka izolirano je na području Jugoslavije 6 virusa: virus mozaika postrne repe (turnip mosaic virus), virus mozaika cvjetače (cauliflower mosaic virus), virus žutog mozaika postrne repe (turnip yellow mosaic virus), virus mozaika rotkve (radish mosaic virus, RaMV) (usp. Mamula i Miličić 1971), virus kovrčavosti postrne repe (turnip crinkle virus; Štefanac 1969) i virus mozaika trpuca (ribgrass mosaic virus; Juretić i sur. 1973). RaMV je u našoj zemlji nađen na većem broju domaćina nego ostali navedeni virusi. To su bile

vrste: *Brassica napus* L. var. *napobrassica* (L.) Rchb., *B. oleracea* L. cultivar. *botrytis* L., *B. oleracea* cultivar. *gemmifera* DC., *B. rapa* L. var. *rapa* i *Sinapis arvensis* L. (usp. M a m u l a i sur. 1972). U ostalom svijetu, pretežno u Evropi, utvrđene su prirodne infekcije s RaMV i na nekim drugim krstašicama: *B. oleracea* convar. *acephala* (DC.) Alefeld (C a r r 1971), *B. chinensis* L. (T o m l i n s o n i sur. 1977), 3 vrste roda *Erysimum* (S h u k l a i S c h m e l z e r 1973), *Raphanus sativus* L., *Sinapis nigra* L. (usp. Plakolli i Štefanac 1976) i *Eruca sativa* Mill. (Milne i sur. 1980).

RaMV je do sada nađen u SAD, Japanu, na području nekoliko evropskih zemalja, te vjerojatno i u kontinentalnom dijelu Azije (usp. M a m u l a i J u r e t i ć 1984). Veća serološka razlika bila je ustanovljena samo između tipičnog izolata RaMV iz SAD (neotipični soj) i tipičnog evropskog izolata (HZ) koji pripada evropskom soju (Štefanac i M a m u l a 1971).

Krajem rujna 1983. godine zapazio sam u okolici mjesta Buzin kraj Zagreba brojne primjerke korovne biljke *Brassica rapa* L. var. *sylvestris* (Lam.) Briggs., od kojih je znatan broj (oko 30%) imao mozaik i šarenilo na deformiranim listovima (Sl. 1A). U blizini nalazili su se manji nasadi biljke *B. rapa* var. *rapa* u kojima su mnogi primjerci (mjestimično do 50%) pokazivali simptome karakteristične za RaMV (Štefanac i M a m u l a 1971). Iste godine krajem listopada uočio sam u okolici mjesta Dragonožec (područje Zagreba) u nasadu biljke *Brassica napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga* (DC.) Thell. oko 10% primjeraka na čijim ponešto deformiranim listovima su se zapažali mozaik i nekrotične šare (Sl. 1C). Na primjercima sve tri vrste biljaka boja listova bila je mjestimično oker žuta, nervatura listova i peteljka često su nekrotizirale, listovi su otpadali prije vremena, a biljke su zaostajale u razvitku, osobito *B. rapa* var. *rapa* koja je često kolabirala. Navedeni simptomi ukazivali su da su osim vrste *B. rapa* var. *rapa* i ostale dvije biljke vjerojatno inficirane s RaMV.

U toku ovoga rada ustanovio sam da je uzročnik opisanih patoloških promjena na svim navedenim biljkama bio RaMV. Podrobnije sam istražio virusne izolate iz biljaka *B. napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga* i *B. rapa* var. *sylvestris* budući da dosad, kako se čini, RaMV nije bio izoliran iz tih biljaka.

Materijal i metode

Od četiri virusna izolata iz biljke *B. rapa* var. *sylvestris* i dva izolata iz biljke *B. napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga* koji su reagirali s antiserumom od RaMV u radu sam detaljnije proučio po jedan izolat. Prema izvornom domaćinu obilježio sam ih oznakama Brs i Bnr.

Prijenos izolata na pokusne biljke, svjetlosno-mikroskopska opažanja i serološke pokuse vršio sam kao prije (Štefanac i M a m u l a 1971). U svim serološkim pokusima izvor antigena bio je niskookretajno centrifugirani sok zaraženih (i za kontrolu zdravih) biljaka. U pokusima sam koristio tipični evropski izolat (HZ) RaMV i njegov antiserum titra 1/256-1/512 (Štefanac i M a m u l a 1971), te antiserume od virusa kovrčavosti postrne repe (TCV) i virusa rozete postrne repe (turnip rosette virus, TRV). Antiserumi protiv dvaju posljednjih virusa bili su već prije pribavljeni, a titar im je bio 1/256-1/512.

Rezultati i diskusija

Izolatima Bnr i Brs inokulirao sam 9 vrsta biljaka iz 3 porodice koje su reagirale tipično za RaMV (Tabl. 1). Vrsta *N. debneyi*, čini se, dosad nije zabilježena kao domaćin RaMV. Lokalne lezije javljaju se na toj biljci desetak dana poslije inokulacije (Sl. 1E). Izostanak infekcije vrste *D. stramonium* i dosta slaba reakcija vrsta *Chenopodium* pokazali su da izvorni domaćini izolata Bnr i Brs nisu sadržavali neke češće viruse, npr. virus mozaika duhana i virus mozaika krastavca. Smjesne infekcije RaMV s drugim virusima inače su zabilježene (Mamula i Mličić 1971, Shukla i Schmelzer 1975).

Tablica 1. Reakcija pokusnih biljaka nakon inokulacije izolatima Bnr i Brs

| Pokusna biljka | Simptomi |
|----------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Brassica chinensis</i> | L: (Ln); S: (M) |
| <i>B. rapa</i> var. <i>rapa</i> | L: Ln; S: M, V, N, D, Z (Sl. 1 B i D) |
| <i>Raphanus landra</i> | L: O; S: O |
| <i>Chenopodium amaranticolor</i> | L: (Lk); S: O |
| <i>Ch. quinoa</i> | L: (Lk); S: O |
| <i>Datura stramonium</i> | L: O; S*: O |
| <i>Lycopersicon chilense</i> | L: O; S*: O |
| <i>Nicotiana debneyi</i> | L: Ln, Lk; S: O |
| <i>N. megalosiphon</i> | L: Ln; S: Pk, Pn, N, D, Z |

Tumač znakova: L simptomi na inokuliranim listovima, S simptomi sistemične infekcije; D deformacije listova, Lk klorotične lezije, Ln nekrotične lezije, M mozaik, N nekroza tkiva (većinom nervature listova), Pk klorotične pjege, Pn nekrotične pjege, V vrpčasto obojenje uz veće žile lista, Z zaostajanje u rastu, () simptomi u zagradi slabijeg su intenziteta ili se javljaju manje često; * Potvrđeno serološki

U stanicama donje epiderme lista u području glavne žile zapažene su u izvorno inficiranim biljkama *B. rapa* var. *sylvestris* virusne stanične uklopine karakterističnog izgleda za RaMV.

Prilikom testiranja izvornih uzoraka s antiserumima od RaMV, TCV i TRV svi su uzroci reagirali samo s antiserumom od RaMV. Kod toga je nešto slabija bila reakcija izolata iz biljke *B. napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga*. Uzorci tog izolata iz eksperimentalno inficiranih biljaka reagirali su sličnim intenzitetom kao i drugi izolati (Sl. 1F). Izolate Bnr i Brs usporedio sam s izolatom HZ koristeći antiserum protiv posljednjeg izolata. U pokusu ostruge izolat Brs se pokazao identičnim izolatu HZ, dok se izolat Bnr nešto razlikovao jer je prema njemu nastajala ostruga. Ta razlika došla je nešto bolje do izražaja u pokusu unakrsnog zasićenja. Serum zasićen izolatom Bnr naknadno je reagirao podjednako s izolatom Brs i izolatom HZ (Sl. 1G). Izolati HZ i Bnr nisu reagirali kad je zasićenje bilo izvršeno izolatom Brs, što je ponovno potvrdilo veću sličnost izolata Brs i HZ.

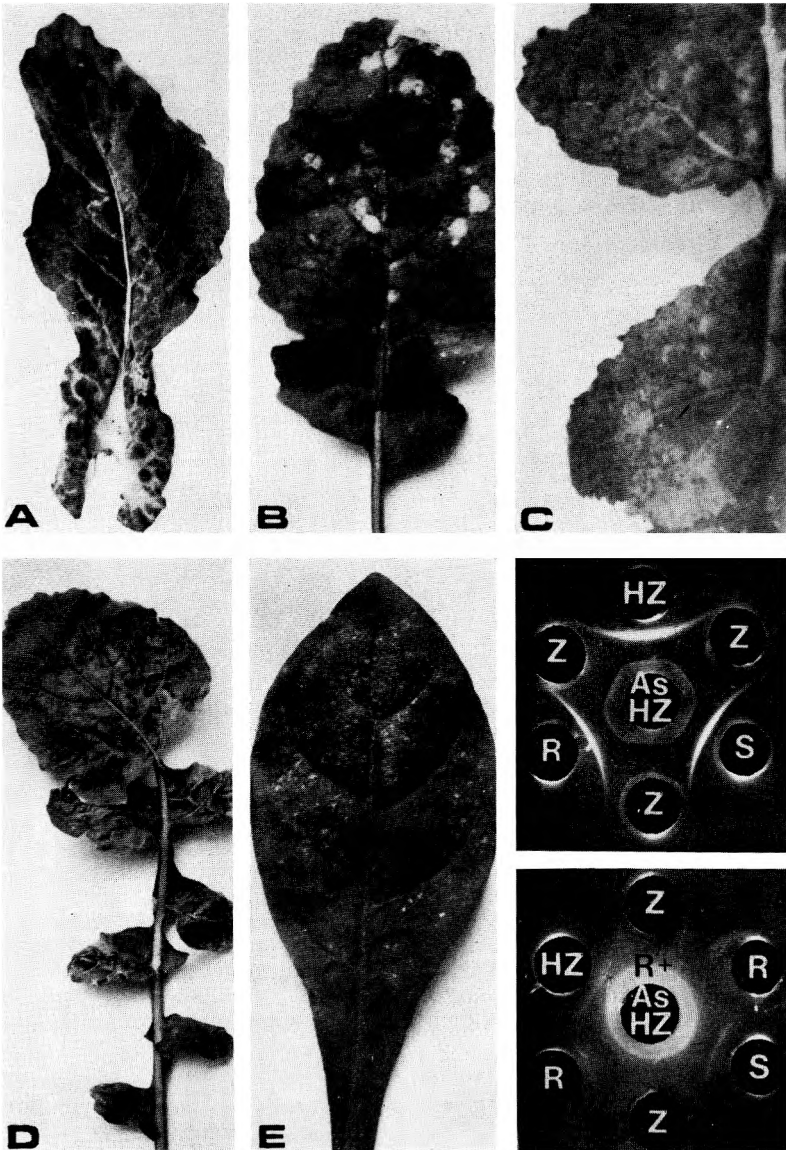
Iako nešto različit od tipičnog evropskog izolata (HZ) RaMV, izolat Bnr isto kao i izolat Brs najvjerojatnije pripada evropskom soju. To ukazuje da su među izolatima evropskog soja osim simptomatoloških (Plakolli i Štefanac 1976) češće prisutne i određene serološke razlike. One su dosad ustanovljene samo sporadično (Kassanis i sur. 1973).

Literatura

- Carr, A. J. H., 1971: Plant Pathology Rep. Welsh Pl. Breed. Stn 1970, pp. 40—44. (Citirano prema Review of Applied Mycology 51/1972., ref. 2118g).
- Juretić, N., D. Miličić, Đ. Mamula, 1973: Identification of a tobamovirus isolated from *Roripa amphibia*. Acta Bot. Croat. 32, 29—35.
- Kassanis, B., R. F. White, R. D. Woods, 1973: Genetic complementation between middle and bottom components of two strains of radish mosaic virus. J. gen. Virol. 20, 277—285.
- Mamula, Đ., N. Juretić, 1984: A study of two isometric viruses infecting turnip in Austria. (U pripremi za tisak).
- Mamula, Đ., D. Miličić, 1971: Prilog poznavanju rasprostranjenosti virusa krstašica u južnoj Evropi. Acta Bot. Croat. 30, 41—52.
- Mamula, Đ., D. Miličić, Z. Štefanac, J. Horváth, 1972: Neue Angaben über Verbreitung und Wirtspflanzen des Rettichmosaik-Virus (radish mosaic virus). Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung. 7, 369—375.
- Milne, R. G., V. Masenga, R. Lenzi, O. Lovisolo, 1980: Radish mosaic virus in *Eruca sativa* Miller. Phytopathol. medit. 19(2—3), 145—149.
- Plakolli, M., Z. Štefanac, 1976: Serological and other relationships among the isolates of radish mosaic virus. Phytopath. Z. 87, 114—119.

Sl. 1. A—E. Simptomi izolata Brs i Bnr od RaMV na spontanim domaćinima i pokusnim biljkama. A. List prirodno inficirane biljke *Brassica rapa* var. *sylvestris*. B. Nekrotične lezije izolata Brs na inokuliranom listu biljke *B. rapa* var. *rapa*. C. Dio lista prirodno inficirane biljke *B. napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga*. D. Sistemični simptomi izolata Bnr na listu biljke *B. rapa* var. *rapa*. E. Nekrotične lezije izolata Bnr na inokuliranom listu vrste *Nicotiana debneyi*. F i G. Serološke reakcije s antiserumom protiv izolata HZ od RaMV (ASHZ). F. Reakcija izolata Bnr (R), Brs (S) i HZ, sok zdrave biljke *B. rapa* var. *rapa* (Z); precipitacija uz bazen s antiserumom potječe od proteina biljke. G. Reakcija izolata iz slike F s antiserumom koji je bio zasićen izolatom Bnr.

Fig. 1. A—E. Symptoms of isolates Bnr and Brs on spontaneous hosts and test plants. A. Leaf of naturally infected *Brassica rapa* var. *sylvestris*. B. Necrotic lesions caused by Brs on inoculated leaf of *B. rapa* var. *rapa*. C. Leaf (a part) of naturally infected *B. napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga*. D. Systemic symptoms of Bnr in leaf of *B. rapa* var. *rapa*. E. Necrotic lesions of Bnr in inoculated leaf of *Nicotiana debneyi*. F and G. Serological reactions with antiserum to HZ isolate of RaMV (ASHZ). F. Reaction of Bnr (R), Brs (S) and HZ isolates, sap of healthy *B. rapa* var. *rapa* (Z); precipitation close to antiserum well derives from plant proteins. G. Reaction of the isolates with antiserum previously absorbed with isolate Bnr.



Sl. 1.

- Shukla, D. D., K. Schmelzer*, 1972: Studies on viruses and virus diseases of cruciferous plants. IV. The previously undescribed *Erysimum* latent virus. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 7, 157—167.
- Shukla, D. D., K. Schmelzer*, 1973: Occurrence of turnip yellow mosaic and radish mosaic viruses in the German Democratic Republic on previously unknown cruciferous hosts. *Zbl. Bakt., Abt. II*, 128, 81—83.
- Shukla, D. D., K. Schmelzer*, 1975: Studies on viruses and virus diseases of cruciferous plants. XIX. Analysis of the results obtained with ornamental and wild species. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 10, 217—229.
- Stefanac, Z.*, 1967: Prilozi poznavanju svojstava virusa krucifera. Doktorska disertacija. Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Stefanac, Z.*, 1969: Nalaz virusa kovrčavosti postrne repe (turnip crinkle virus) u Jugoslaviji. *Mikrobiologija* 6, 27—35.
- Stefanac, Z., Đ. Mamula*, 1971: A strain of radish mosaic virus occurring in turnip in Yugoslavia. *Ann. appl. Biol.* 69, 229—234.
- Tomlinson, J. A., S. V. Ward, M. J. W. Webb*, 1977: 27th Ann. Rep. for 1976, National Vegetable Res. Stn, Wellesbourne, Warwick, U. K. (citirano prema Review of Plant Pathology 57/1978., ref. 1562).

SUMMARY

SPONTANEOUS INFECTION OF TWO *BRASSICA* VARIETIES WITH RADISH MOSAIC VIRUS

Đorđe Mamula

(Department of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb)

Radish mosaic virus (RaMV) has been found in Zagreb area (Yugoslavia) naturally infecting yellow swede (*Brassica napus* var. *napobrassica* subvar. *rutabaga*) (isolate Bnr) and rape (*B. rapa* var. *sylvestris*) (isolate Brs), the latter one known as a weed plant. The percentage of infected plants was approx. 10% (swede) and 30% (rape). Symptoms on the leaves of infected swede specimens included mild mosaic, malformations and sporadic occurrence of ochre yellow on blades. Sometimes premature fall of lower leaves was present. The infection did not cause much damage to the roots. Leaves of infected rape specimens displayed variegation, malformations, faint necrosis and moderate stunting. The identity of isolates Bnr and Brs with RaMV was proved serologically, on basis of test plant reaction and intracellular inclusion bodies. It seems that yellow swede and rape plants have not been described so far as natural hosts of the virus.

By means of spur test and intragel absorption test, using an antiserum to the HZ (type) isolate of the European strain, the isolates have been found to be serologically identical (isolate Brs) with or slightly different (isolate Bnr) from the HZ isolate.

It was found that the virus (isolate Bnr) caused necrotic and chlorotic lesions in inoculated leaves of *Nicotiana debneyi*.

Đorđe Mamula, mr. biol.
 Botanički zavod
 Prirodoslovno-matematički fakultet
 Marulićev trg 20/II
 YU-41000 Zagreb (Jugoslavija)