

UDC 576.858.8:582.998.4 = 862

PICRIS ECHIOIDES L. (CICHORIACEAE) —
— REZERVOAR VIRUSA MOZAIKA SALATE
(LETTUCE MOSAIC VIRUS)

(With Summary in English)

NADA PLEŠE i NADA BEZIĆ

(Botanički zavod Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
i Filozofski fakultet Sveučilišta u Splitu)

Primljeno 23. 11. 1986.

Na području srednje Dalmacije (Split i okolica) zapaženi su na cirkummediteranskoj ruderalnoj i korovnoj biljci *P. echioides* izraziti virusni simptomi. Virozni primjerci te samonikle biljke nađeni su na njezinom prirodnom staništu, tj. na zapuštenim i napuštenim područjima i travnatim površinama. Izdvojeni virus, identificiran na osnovi reakcije pokusnih biljaka, vrlo karakterističnih submikroskopskih virusnih inkluzija i seroloških svojstava, pripada tipičnim, odnosno običnim izolatima virusa mozaika salate (VMS). Isti je soj virusa nađen i u salati na tom području. Budući da je iz vrste *P. echioides* izdvojen VMS i u SAD u Kaliforniji (Zink, Duffus, Kimble, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98, 1973, 41—45), to nema dvojbe da je ta samonikla trajnica nadaleko rasprostranjena kao rezervoar i dodatni izvor VMS u prirodi.

Uvod

Za mnoge su biljne viruse divlje biljke, napose ruderalne i korovne, alternativni domaćini, koji predstavljaju rezervoar i početni izvor infekcije ekonomski važnih kultiviranih biljaka. U tim samoniklim biljkama virusi preživljavaju nepovoljno vremensko razdoblje i prenose se putem vektora na kultivirane domaćine u kojima su često mnogo agresivniji, pa smanjuju ili čak potpuno uništavaju urod.

U uzgoju nekih povrtnih kultura virusne infekcije djeluju vrlo štetno na urod i kvalitetu povrća. Među takve povrtne kulture spada i salata, koja se zaražena virusom mozaika salate (VMS) mnogo slabije razvija i ne stvara normalne glavice, osobito ako se zaraze sasvim mlade biljke (Zink i Kimble 1960, Ryder i Duffus 1966). Stoga je, ako se uzmu u obzir mjere kontrole virusne infekcije salate, važno naći koje su samonikle biljke rezervoar i stalan izvor VMS. Nema sumnje da među takve biljke spada ruderalna i korovna trajnica *P. echioides* (*Helminthia echioides* (L.) Gärtn.) (sl. 1A), iz koje smo u nekoliko navrata izdvojili VMS. Inače, ta biljka ima svoj prirodni areal u mediteranskom i submediteranskom području, ali se kao antropofit proširila u veći dio srednje i zapadne Evrope, a unesena je i u pacifički dio Sjeverne Amerike, pa i u Južnu Ameriku (Kovačević i Slavnić 1968).

Upravo mediteranska regija u nas je područje gdje se zbog blage klime intenzivno uzgaja salata tokom cijele godine. Takav uzgoj pogoduje infekciji i širenju VMS, pa je zaraza salate tim virusom zabilježena u srednjoj Dalmaciji već ranije (Štefanac 1976, Štefanac i Mamula 1976). U ovom radu govorit ćemo o našim istraživanjima VMS izdvojenog na istom području iz prirodno zaražene ruderalne trajnice *P. echioides*.

Materijal i metode

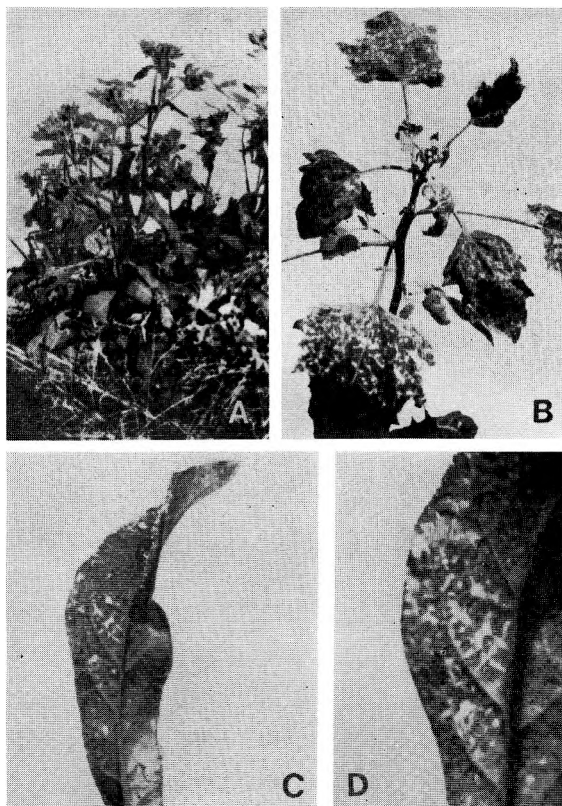
Učestalost izrazitih virusnih simptoma na samonikloj biljci *P. echioides* na području Splita i okolice potakla nas je na detaljnija istraživanja te viroze. Zaražene primjerke spomenute vrste nalazili smo na ruderalnim staništima i travnatim površinama.

Pri izolaciji virusa inokulum je priređen homogeniziranjem listova s virusnim simptomima u 0,06 M fosfatnom puferu pH 7,2 koji je sadržavao 0,1% tioglikolne kiseline. Inokulacija pokusnih biljaka izvršena je mehaničkim putem.

Analiza virusnih čestica u elektronskom mikroskopu izvršena je s pomoću metode uranjanja (dipping) u 2% (w/v) otopinu kalijeva fosfovolframata, pH 6,9, a ultratanki prerezi kroz lisno tkivo inficirane pokusne biljke *Chenopodium quinoa* priređeni su kao u radu Erić i sur. 1986.

Serološki su pokusi izvedeni s pomoću mikroprecipitinskog testa na stakalcu. Za serološku identifikaciju virusa korišten je imuni serum protiv VMS (homologni titar seruma 1/256, provenijencija dr. D. Z. Maat, Wageningen), i to u nizu dvostrukih razrjeđenja. Virus je dodan u sirovom soku zaražene pokusne biljke *Ch. quinoa*, koji je prethodno centrifugiran na 4000 okr./20 min. U kontrolnim serološkim pokusima upotrijebili smo VMS iz salate u blizini staništa zaražene biljke *P. echioides* te sok zdravih primjeraka test biljke *Ch. quinoa*.

Za istraživanje prisutnosti virusa u sjemenu zaražene vrste *P. echioides* koristili smo se metodom Marroua i Messiaena (1966), tj. nakon naklijavanja sjemenke su usitnjene i homogenatom inokulirana pokusna vrsta *Ch. quinoa*.

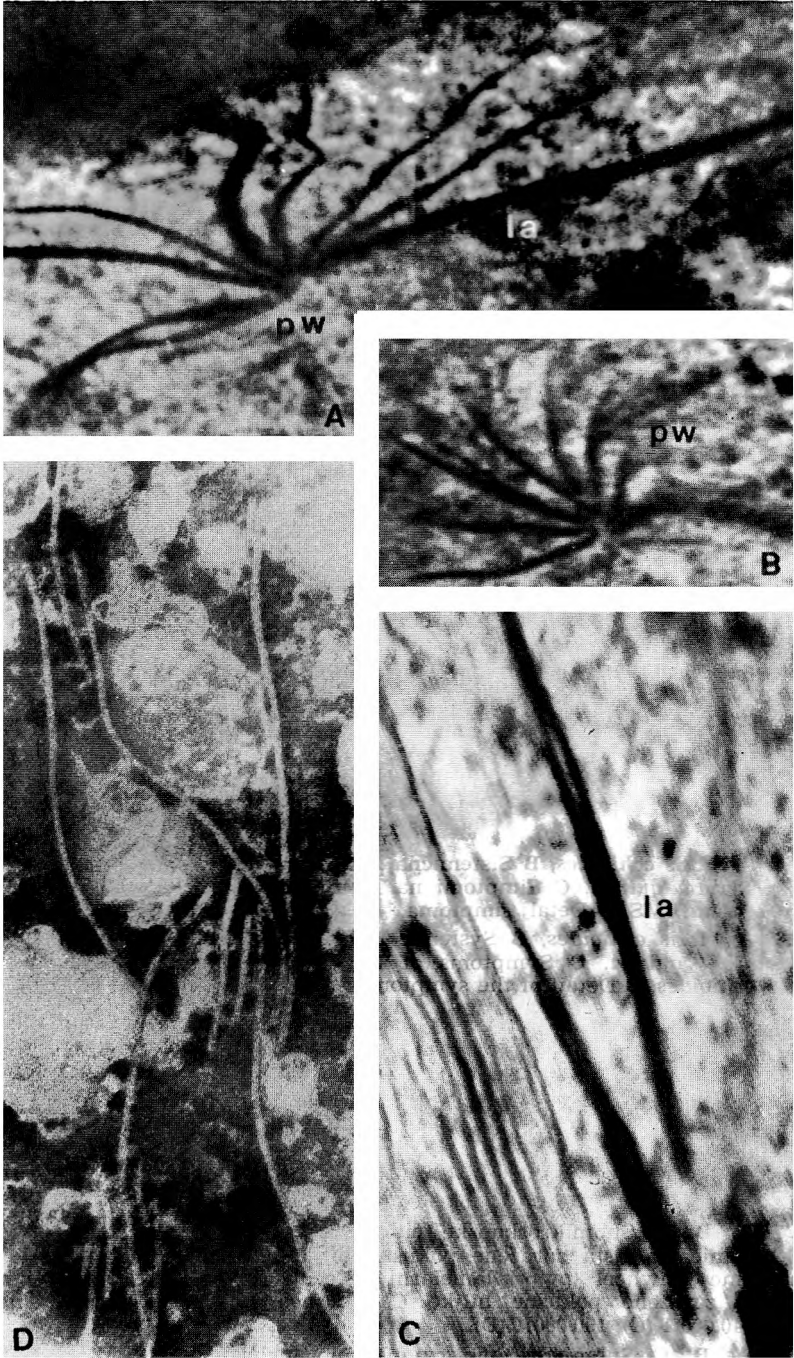


Sl. 1. **A** *Picris echioides*, **B** Sistemična infekcija izolata VMS na biljci *Chenopodium quinoa*, **C** Simptomi na listu domaćina *P. echioides* pod utjecajem VMS, **D** Detalj simptoma.

Fig. 1. **A** *Picris echioides*, **B** Systemic infection of LMV isolate in *Chenopodium quinoa*, **C** Symptoms of LMV on a leaf of original plant *P. echioides*, **D** Detail of the symptoms.

Sl. 2. **A, B, C** Submikroskopske citoplazmatske inkluzije izolata VMS u stanicama lista zaražene pokusne biljke *Chenopodium quinoa*; uklopine pinwheel (pw) i lamelarni agregati (la) **D** Čestice izolata VMS iz zaražene pokusne biljke *Ch. quinoa* (dipping). 87.000:1 (A, B), 140.000:1 (C), 100.000:1 (D).

Fig. 2. **A, B, C** Submicroscopic cytoplasmic inclusions of LMV isolate in leaf cells of infected *Chenopodium quinoa*; pinwheels (pw) and laminated aggregates (la). **D** Particles of LMV isolate from infected *C. quinoa* (dipping). 87,000:1 (A, B), 140,000:1 (C), 100,000:1 (D).



Sl. 2. — Fig. 2.

Rezultati i diskusija

Virusni simptomi na listovima prirodno zaraženih primjeraka vrste *P. echiooides* imali su oblik bljedožutih pjega i bljedožutih područja uz nerve (sl. 1 C, D). Virozne biljke bile su vrlo česte, pa smo isti virus izdvojili iz zaraženih primjeraka s nekoliko lokaliteta. Kako smo već na osnovi preliminarnih istraživanja posumnjali da se radi o infekciji VMS, za kontrolna smo istraživanja uzeli izolat VMS izdvojen iz salate koja je rasla u povrtnjaku u blizini staništa zaraženih primjeraka vrste *P. echiooides*. Salata je imala tipične mozaične simptome i izrazito je zaostajala u rastu.

Virus je izoliran na pokusne biljke *Ch. amaranticolor*, *Ch. quinoa* i *Gomphrena globosa*, a zatim je još ispitana simptomatologija na salati »Vanguard«. Vrsta *Ch. amaranticolor* pokazala je sistemičnu infekciju u obliku crveno obrubljenih klorotičnih lezija koje su se u području većih lisnih nerava izdužavale u smjeru tih žila. Vrsta *Ch. quinoa* reagirala je također sistemičnim simptomima u obliku žute mreže i upadljive žute pjegavosti i savijanja vršnih listova (sl. 1 B), a *G. globosa* imala je crveno obrubljene nekrotične lokalne lezije. Na salati »Vanguard« pojavilo se blago šarenilo listova i tamnije zeleno obojenje uz lisne nerve. Iste virusne simptome na navedenim pokusnim biljkama uzrokovao je i izolat VMS iz salate.

U eksudatu lisnog tkiva zaražene pokusne biljke *Ch. quinoa* nađene su produžene savitljive elementarne čestice od oko 760 nm kakve imaju potyvirusi (sl. 2 D). Međutim, iako je reakcija pokusnih biljaka odgovarala simptomatologiji VMS (Tomlinson 1970), prve sigurnije indicije da virusni izolat iz vrste *P. echiooides* pripada VMS dobili smo analizom submikroskopskih cilindričnih virusnih inkluzija. Zapazili smo, naime, da radijalno položene lamele (arms) struktura »pinwheel« nisu zakrivljene, nego gotovo posve ravne (sl. 2 A, B), što je dosta karakteristično za cilindrične citoplazmatske uklopine VMS (Edwards 1974, Stefanac i Mamula 1976). Lamelarni agregati koji povezuju međusobno pojedine uklopine »pinwheel« bili su također dobro izraženi (sl. 2 A, C).

Serološka su istraživanja konačno potvrdila našu pretpostavku da virus iz vrste *P. echiooides* pripada VMS. U mikroprecipitinskom testu izdvojeni virus kao i kontrolni izolat VMS iz salate reagirali su sa serumom protiv VMS, i to do istog titra. Oba su heterologna titra seruma iznosila 1/64. U kontrolnom pokusu sokom zdrave biljke nije došlo do serološke reakcije.

Pri istraživanju o eventualnom prenošenju virusa sjemenom domaćina *P. echiooides* ukupno smo ispitali 300 sjemenki zaraženog domaćina. Za analizu smo uzeli 6 uzoraka koji su sadržavali po 20 sjemenki i 6 uzoraka s po 30 sjemenki. Utvrdili smo da niti jedan uzorak nije bio infektivan, tj. nije uzrokovao simptome na pokusnoj biljci *Ch. quinoa*.

Činjenice da su VMS iz vrste *P. echiooides* i VMS iz salate izazvali na pokusnim biljkama posve jednake simptome infekcije i u serološkim pokusima s heterolognim imunim serumom dali serološku reakciju do istog titra, ukazuju da se u ruderalnoj biljci *P. echiooides* i u salati nalazio jedan te isti soj VMS.

Budući da je biljka *P. echiooides*, kako smo utvrdili, vrlo često zaražena virusom mozaika salate, nema dvojbe da ta samonikla ruderalna i korovna vrsta kao trajnica predstavlja prirodni rezervoar i stalan izvor infekcije VMS i vjerojatno je kao dodatni izvor tog virusa nadaleko rasprostranjena. U prilog tome govori i činjenica da je navedeni virus već

jednom izoliran iz iste vrste, i to čak u Sjevernoj Americi u Kaliforniji (Zink i sur. 1973). Autori su utvrdili da je vrsta *P. echiooides*, koja je rasla na neuređenim površinama, izvor vrlo virulentnog soja VMS, koji je bio letalan za veći broj različitih kultivara salate. Naš izolat VMS očito ne pripada agresivnom soju jer na salati »Vanguard« nije izazvao letalnu reakciju, a u nasadu salate bio je vrlo štetan, ali ne i fatalan.

Nismo utvrdili da se VMS iz svojega prirodnog domaćina, vrste *P. echiooides*, širi sjemenom toga domaćina. Međutim, novozaraženi primjerci mogu se pojaviti, jer se virus na zdrave biljke može lako prenositi s pomoću vektora, tj. lisnih ušiju. Tako uz zaraženo sjeme salate prirodni domaćin *P. echiooides* može biti stalan izvor VMS za infekciju povrtne kulture salate na području svojeg areala.



Zahvaljujemo mr. Živojinu Eriću, i prof. dr. Julijani Grbelja s Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Sarajevu za usluge elektronske mikroskopije.

Literatura

- Edwardson, J. R., 1974: Some properties of the potato virus Y-group. Florida Agric. Exp. Stn. Monogr. Ser. 4, p. 308.
- Erić, Ž., Z. Štefanac, B. Plavšić, 1986: Characteristics of the toombusvirus from spinach (*Spinacia oleracea*). Acta Bot. Croat. 45, 7—19.
- Kovačević, J., Ž. Slavnić, 1968: *Helminthia echiooides* (L.) Gärtn. kao antropofit na našem državnom području. Agronomski glasnik 30, 823—828.
- Marrou, J., C. M. Messiaen, 1966: Lutte contre la mosaïque de la laitue. Proc. 1st Congr. Medit. Phytopath. Union, Bari-Naples 1966, 494—502.
- Ryder, E. J., J. E. Duffus, 1966: Effects of beet western yellows and lettuce mosaic viruses on lettuce seed production, flowering time, and other characters in the greenhouse. Phytopathology 56, 824—844.
- Štefanac, Z., 1976: Velika raširenost virusa mozaika salate u nekim područjima uzgoja salate u Hrvatskoj. Radovi 3. kongresa mikrobiologa Jugoslavije, Bled 1976, str. 180—181. Slovensko mikrobiološko društvo i Savez društava mikrobiologa Jugoslavije.
- Štefanac, Z., Đ. Mamula, 1976: Identifikacija virusa mozaika salate u Hrvatskoj. Zaštita bilja 27, 279—288.
- Tomlinson, J. A., 1970: Lettuce mosaic virus. C. M. I. / A. A. B. Descriptions of Plant Viruses No. 9.
- Zink, F. W., J. E. Duffus, K. A. Kimble, 1973: Relationship of a non-lethal reaction to a virulent isolate of lettuce mosaic virus and turnip mosaic susceptibility in lettuce. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98, 41—45.
- Zink, F. W., K. A. Kimble, 1960: Effect of time of infection by lettuce mosaic virus on rate of growth and yield in Great Lakes lettuce. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 76, 448—454.

SUMMARY

PICRIS ECHIOIDES L. (CICHORIACEAE) — RESERVOIR OF LETTUCE MOSAIC VIRUS

Nada Pleše and Nada Bezić

(Department of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb and Faculty of Philosophy, University of Split)

In the coastal region of central Dalmatia (Split and surroundings) circummediterranean ruderal and weed plant, bristly oxtongue, *P. echioides*, with conspicuous virus symptoms was noticed. The infected plants were common in noncultivated areas and grass-plots where *P. echioides* grows naturally. The causal virus, identified on the basis of host range reaction, characteristic cylindrical virus inclusions and serological properties, belongs to the typical or common isolates of lettuce mosaic virus (LMV). In addition, the same isolate of LMV was found in the lettuce plantation in the vicinity of infected *P. echioides* plants. Since LMV was isolated from *P. echioides* earlier in California, USA (Zink, Duffus, Kimble, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98, 1973, 41—45), there is no doubt that this perennial wild host is widespread as a reservoir and additional source of the virus in nature.

Prof. dr. Nada Pleše
Prirodoslovno-matematički fakultet
Marulićev trg 20/II
YU-41000 Zagreb (Jugoslavija)

Mr. Nada Bezić
Filozofski fakultet
Teslina ul. 12
YU-58000 Split (Jugoslavija)