

UDC 576.858.8:582.951.4(497.1) = 20

Izvorni znanstveni rad

VIRUS MOZAIKA KRASTAVCA IZDVOJEN IZ PAPRIKE (*CAPSICUM ANNUUM* L.) U BiH

With Summary in English

ĐEMO SUBAŠIĆ*, GORDANA RUSAK i DAVOR MILIČIĆ

(*UPI Institut za istraživanje i razvoj, Sarajevo i Botanički zavod Prirodoslovno-
-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 06. 02. 1990.

Iz zaraženih biljaka paprike (*Capsicum annuum* L.) uzgajanih u okolici Bijeljine (Bosna i Hercegovina) izoliran je dosta nestabilan virusni izolat koji pripada skupini cucumovirusi. Po svojim biološkim svojstvima, tj. krugu eksperimentalnih domaćina i njihovoj reakciji, te svojstvima u sirovom soku, virus je sličan tipičnim sojevima virusa mozaika krastavca (VMK; cucumber mosaic virus), dok njegovo ponašanje u serološkim pokusima dvostruke radijalne imunodifuzije ukazuje na to da pripada nestabilnim izolatima toga virusa.

Uvod

Vrsta *Capsicum annuum* L. vrlo je čest domaćin virusa mozaika krastavca (VMK; cucumber mosaic virus, skupina cucumovirusi) i stoga su u literaturi prisutni mnogobrojni podaci o nalazu tog virusa na paprici u različitim dijelovima svijeta. Tako je npr. VMK detektiran na paprici u Keniji (Bock i sur. 1975), Indiji (Awasthi i Singh 1976), Maroku (Lockhart i Fischer 1976), Italiji (Conti i Musenga 1978), Kanadi (Kemp 1978), Jugoslaviji (Aleksić i sur. 1975, Šarić i Stefanac 1988) i drugdje. Osim na paprici, VMK je u našoj zemlji utvrđen također na nizu drugih povrtnih biljaka kao što su grah (Babović i sur. 1978, Taraku 1982, Šarić i Stefanac 1988), grašak

(Štefanac i sur. 1981), salata (Šarić i Štefanac 1988), i neke druge. Različite povrtno kulture, korovne biljke (usp. Štefanac 1988) i biljke trajnice s pravom se mogu smatrati rezervoarima VMK u prirodi. Inače, virus je kozmopolitski rasprostranjen, ima širok krug prirodnih domaćina i prenosi se na neperzistentan način preko lisnih uši (Frankci i sur. 1979). U prirodi VMK obično sudjeluje u smjesnim infekcijama, a rjeđe ostvaruje pojedinačne infekcije (Bock i sur. 1975). Virusi koji najčešće dolaze u smjesi s VMK u inficiranim biljkama paprike su: Y virus krumpira (potato virus Y) (Lockhart i Fischer 1976), virus mozaika duhana (tobacco mosaic virus) (Lana i Peterson 1980), virus ugraviranosti listova duhana (tobacco etch virus) (Edwardson i Christie 1979) i virus mozaika lucerne (alfalfa mosaic virus) (Kemp 1978). VMK kao i ostali cucumovirusi ima trodijelni genom, pa se pretpostavlja postojanje rekombinantnih sojeva u prirodnim infekcijama. U prilog tome govori činjenica da se između različitih članova skupine cucumovirusi mogu prirediti rekombinantni sojevi (cf. Štefanac i sur. 1981).

U radu izlažemo podatke o identifikaciji i svojstvima izolata VMK izdvojenog iz paprike na području BiH.

Materijal i metode

Virusni izolat potječe iz paprike (*C. annuum* L.) koja se uzgajala u okolici Bijeljine. Inficirane biljke paprike bile su često krzljave te na kovrčavim i deformiranim listovima pokazivale klorotične pjege i šarenilo.

Virus je izdvojen iz inficiranih listova uz pomoć 0,03 M fosfatnog pufera pH 7,2 koji je sadržavao 0,1% tioglikolne kiseline, te dalje održavan na duhanu (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun).

Prilikom utvrđivanja svojstava virusa *in vitro* u sirovom soku, upotrijebljen je sok iz zaraženih biljaka duhana. Pri određivanju razrjeđenja infektivnog soka korištena je vodovodna voda.

U serološkim pokusima koristili smo se antiserumom protiv soja VMK iz karanfila koji je priredio dr. E. Luisoni (Torino, Italija). Serum je sadržavao antitijela protiv cijelog, neoštećenog virusa (titar 1/128) i nešto antitijela protiv topivog virusnog proteina. Pokuse smo vršili metodom dvostruke radijalne imunodifuzije u 0,9% agarском gluu s 0,05% NaN₃ priređenom u destiliranoj vodi. Kao izvor virusnog i kontrolnog zdravog soka za serološke reakcije poslužili su listovi zaraženih odnosno zdravih biljaka duhana. Virus je bio stabiliziran pomoću 0,5 M citratnog pufera pH 6,5 koji je sadržavao 5 mM EDTA i 0,5% TGK (Frankci i Hatt 1980).

Rezultati

Krug domaćina

Ekperimentalni krug domaćina izdvojenog izolata iz paprike istražili smo s pomoću pokusnih biljaka koje reagiraju karakteristično na VMK.

Chenopodiaceae. Vrste *Chenopodium amaranticolor* i *Ch. murale* reagirale su karakterističnim nekrotičnim lokalnim lezijama bez pojave

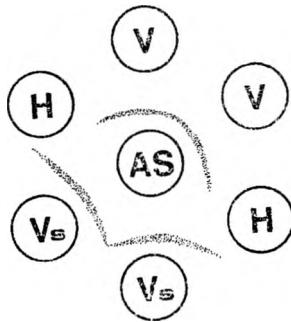
sistemičnih simptoma. Primjerci *Ch. quinoa* pokazivali su osim okeržutih lezija na inokuliranim listovima u nekim slučajevima i sistemične simptome, što je rjeđa pojava pri infekciji s VMK. *Azioaceae*. Vrsta *Tetragonia expansa* reagirala je lokalnim klorotičnim pjegama i sistemskom reakcijom. *Solanaceae*. Vrsta *Nicotiana tabacum* cvs. Hicks resistant, Sam-sun, White Burley te vrste *N. debney*, *N. glutinosa*, *N. megalosiphon*, *N. rustica*, *N. sylvestris* i *Datura stramonium* reagirale su lokalno i sistemsko uz pojavu nekrotičnih prstenova, nekrotičnih i klorotičnih lezija, zatim pojavom prosvjetljivanja lisnih nerava, deformacijama listova i drugim simptomima karakterističnim za infekcije s VMK.

Postojanost virusa u sirovom soku

Točka termalne inaktivacije virusa iznosila je između 65—70°C, krajnja točka razrijeđenosti između 10^{-3} i 10^{-4} , a postojanost *in vitro* na sobnoj temperaturi (22°C) između 2—3 dana, što je svojstveno za većinu izolata VMK.

Serološki pokusi

Serološki pokusi s antiserumom protiv VMK bili su pozitivni. Međutim, između bazena ispunjenog serumom i bazena sa sirovim infektivnim sokom koji nije sadržavao stabilizirajući pufer, pojavljivale su se ravne precipitacijske linije svojstvene serološkoj reakciji raspadnutog virusnog proteina s antitijelima protiv raspadnutog virusa, tj. proteinskih podjedinica (sl. 1). Nakon što je virus stabiliziran pomoću citratnog pufera niske molarnosti, precipitacijske linije bile su izgledom tipične za intaktne virusne čestice (sl. 1).



Sl. 1. Ponašanje izolata iz paprike u reakciji dvostruke radijalne imunodifuzije s antiserumom protiv VMK-Car (AS). Rubni bazeni sadrže izolat u čistom sirovom soku (V), izolat u soku kojem je prilikom ekstrakcije dodan stabilizirajući pufer (Vs) te sok zdrave biljke *Chenopodium quinoa* (H).

Fig. 1. Behaviour of the pepper isolate in reaction of double radial immunodiffusion with antiserum against CMV-Car (AS). Peripheral wells contain the isolate in row sap (V), in row sap extracted by stabilizing buffer (Vs), and sap of healthy *Chenopodium quinoa* (H).

Diskusija

Eksperimentalni krug domaćina virusnog izolata iz paprike te način reagiranja pojedinih vrsta uklapaju se u podatke o svojstvima VMK. Kad se uzjmu u obzir pozitivni rezultati seroloških pokusa, u kojima je korišten serum protiv VMK, te podaci o svojstvima virusa u sirovom soku, može se sa sigurnošću tvrditi da izdvojeni virus pripada skupini cucumovirusi (Matthews 1982) i da predstavlja VMK.

Prema podacima nekih autora, inficirane biljke paprike (*Capsicum annum* L.) imaju smanjen postotak askorbinske kiseline (Awasthi i Singh 1976), fosfora, mangana, željeza, bakra (Cordrey i Bergman 1979). Utvrđeno je također da VMK uzrokuje destrukciju fotosintetskog aparata, dezorganizaciju vaskularnog cilindra stabljike i korijena (Misra i sur. 1972) i smanjenje produkcije plodova paprike (Lalman i Tewari 1977, Cordrey i Bergman 1979). Pojedini autori vršili su također istraživanja s različitim aspektata radi mogućnosti kontrole i smanjenja virusnih bolesti paprike. Uspjelo je proizvesti više linija (sorti) paprike koje su u određenom stupnju otporne na VMK (Aleksić i sur. 1975, Pochard i Chambonnet 1975, Jarnail i Thakur 1980). Kao zaštitni mehanizmi u cilju suzbijanja širenja i kontrole VMK, s određenim uspjehom korišteni su mrežasti pokrivači određenih boja (bijela, svijetlozelena, žuta) iznad nasada paprike, čime se postiže redukcija krilate populacije afida (vektora virusa) na biljkama za više od 40 puta (Cohen 1981). Određen uspjeh u smislu inaktivacije VMK postignut je upotrebom nekih kemijskih agensa (bioregulatora rasta biljaka) kao što su α -naftalen octena kiselina, giberelinska kiselina, indol-3-octena kiselina itd. (Joshi i Dubey 1975).

U nas su dosta rijetki bili podaci o nestabilnim izolatima VMK, koji u serološkim pokusima izvršenim u agarском gelu stvaraju nespecifične reakcije s topljivim proteinom. Uglavnom se radilo o stabilnijim sojevima VMK jer fotografije seroloških reakcija u objavljenim radovima većinom pokazuju specifične virusne precipitacijske linije. Ovaj izolat iz paprike u tom je smislu dosta sličan soju VMK izdvojenom iz graška (*Pisum sativum* L.) u BiH (Štefanac i sur. 1981), te sojevima iz bijelog luka (*Allium sativum* L.) (Štefanac 1980) i vrste *Cucurbita pepo* (Šarić i Štefanac 1988), koji su izolirani iz biljaka uzgajanih u okolini Zageba.

Literatura

- Aleksić, Ž., D. Aleksić, Ž. Miladinović, 1975: Bolesti paprike i mogućnosti njihovog suzbijanja gajenim otpornih sorti. *Agronom. glasnik* 37 (1/4), 73—82.
- Awasthi, D. N., B. P. Singh, 1976: Influence of cucumber mosaic virus on ascorbic acid and capsaicin content from the fruits of tolerant and susceptible varieties of chilli. *Indian Phytopath.* 28 (2), 272—274.
- Babović, M., S. Marković, M. Perišić, M. Spasić, S. Milijić, 1978: Pojava virusa mozaika krastavca na pasulju u Jugoslaviji. *Zaštita bilja* 146, 329—335.
- Bock, K. R., E. J. Guthrie, M. N. Pearson, 1975: Notes on East African plant virus diseases. 9. Cucumber mosaic virus. *E. Afr. agric. for. J.* 41 (1), 81—84.
- Cohen, S., 1981: Reducing the spread of aphid-transmitted viruses in peppers by coarse-net cover. *Phytoparasitica* 9 (1), 69—76.

- Conti, M., V. Musenga, 1978: Identification and prevalence of pepper viruses in Northwest Italy. Review of Plant Pathology 57 (9), 4267 (abstr.).
- Cordrey, T. D., E. L. Bergman, 1979: Influence of cucumber mosaic virus on growth and elemental composition of susceptible (*Capsicum annuum* L.) and resistant (*Capsicum frutescens* L.) peppers. J. Amer. Soc. hort. Sci. 104 (4), 505—510.
- Edwardson, J. R., R. G. Christie, 1979: Light microscopy of inclusions induced by viruses infecting peppers. Fitopatologia Brasileira 4, 341—379.
- Francki, R. I. B., T. Hatta, 1980: Cucumber mosaic virus — variation and problems of identification. Acta Horticulturae 110, 167—174.
- Francki, R. I. B., D. W. Mossop, T. Hatta, 1979: Cucumber mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 210.
- Jarnail, S., M. R. Thakur, 1980: Reaction of some hot pepper (*Capsicum annuum*) lines to cucumber mosaic virus. Indian J. Mycol. Pl. Pathol. 9 (2), 267. Ref.: Review of Plant Pathology 55 (11), 5449.
- Joshi, R. D., L. N. Dubey, 1975: Studies on the inhibition of cucumber mosaic virus in chilli (*Capsicum annuum* L.). III Effect of growth regulators. Sci. and Cult. 41 (7), 351—353.
- Kemp, W. G., 1978: Mulches protect peppers from viruses. Can. Agric. 23 (2), 22—24.
- Lalman, I. P. Tewari, 1977: Effect of cucumber mosaic virus on productivity of *Capsicum annuum* L. Review of Plant Pathology 56 (10), 4805 (abstr.).
- Lana, A. F., J. F. Peterson, 1980: Identification and prevalence of pepper viruses in southern Quebec. Phytoprotection 61, (1), 13—18.
- Lockhart, B. E. L., H. V. Fischer, 1976: Cucumber mosaic virus infections of pepper in Morocco. Review of Plant Pathology 55 (12), 6046 (abstr.).
- Matthews, R. E. F., 1982: Classification and nomenclature of viruses. Fourth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Intervirology 17, 1—199.
- Misra, A., A. Jha, T. K. S. Singh, 1972: Note on morbid anatomy of the chilli (*Capsicum frutescens* L.) plants infected with cucumber mosaic virus. J. agric. Sci. (Tokyo) 42 (2), 178—179.
- Pochard, E., D. Chambonnet, 1975: Methods of selecting pepper for resistance to *Phytophthora capsici* and cucumber virus. Review of Plant Pathology 54 (6), 2578 (abstr.).
- Šarić, A., Z. Štefanac, 1988: The incidence and variation of cucumber mosaic virus in four vegetable species in Croatia. Acta Bot. Croat. 47, 7—13.
- Štefanac, Z., 1980: Cucumber mosaic virus in garlic. Acta Bot. Croat. 39, 21—26.
- Štefanac, Z., 1988: Korovi na području srednje Dalmacije — potencijalni izvori virusnih infekcija za kultivirane biljke. Fragm. herbol. Jugosl. 17 (1—2), 87—94.
- Štefanac, Z., J. Grbelja, Ž Erić, 1981: Kukumovirus izdvojen iz graška (*Pisum sativum* L.). Acta Bot. Croat. 40, 35—41.
- Taraku, N., 1982: Virus mozaika krastavca izoliran iz graha na Kosovu. Acta Bot. Croat. 41, 13—18.

SUMMARY

CUCUMBER MOSAIC VIRUS OBTAINED FROM PEPPER (*CAPSICUM ANNUUM* L.)
IN BOSNIA AND HERZEGOVINA

Demo Subašić, Gordana Rusak and Davor Miličić*

(*UPI Institute for Research and Development, Sarajevo, and Department of Botany,
Faculty of Science, University of Zagreb)

From infected pepper (*Capsicum annum* L.) plants grown in the surroundings of the town of Bijeljina a rather unstable cucumovirus isolate was obtained. Concerning the host range reactions and its stability in sap, the virus was similar to the typical strains of cucumber mosaic virus (CMV). Its behaviour in experiments of double radial immunodiffusion showed the affiliation to unstable CMV isolates.

Mr. Demo Subašić
Institut za istraživanje i
razvoj, Butmirska c. 22
YU-71210 Iliđa (Jugoslavija)

Inž. Gordana Rusak
Prof. dr. Davor Miličić
Prirodoslovno-matematički fakultet
Marulićev trg 20/II
YU-41000 Zagreb (Jugoslavija)