

Zlata Štefanac,

Institut za botaniku Sveučilišta, Zagreb

NEKA SVOJSTVA KUKURUZNOG SOJA VIRUSA MOZAIKA ŠEĆERNE TRSKE IZ JUGOSLAVIJE*

UVOD

Zbog sve većeg značaja viroza trava u poljoprivredi, počeli smo u ljetu 1965. godine, u okviru teme koju financira Savezni fond za naučni rad, proučavati virus koji uzrokuje mozaične promjene na kukuružu, sirku i drugim biljkama. Već na osnovu prvih zapažanja smo naslućivali da se radi o mozaičkoj bolesti šećerne trske (sinonimi: sugarcane mosaic, maize mosaic, sorghum red stripe) koju je u Jugoslaviji prvi istraživao **Panjan** (1960).

Ta je bolest bila u Italiji već ranije poznata pod nazivom crvena prugavost sirka (**Goidanich** 1938, 1939). Da su mozaik kukuruza i crvena prugavost sirka uzrokovani istim virusom, utvrdio je **Grancini** (1960). Nadalje su **Grancini** (1957) i **Lovisolo** (1957) na osnovu simptomatologije i fizičkih svojstava, te **Dijkstra** i **Grancini** (1960) pomoću seroloških pokusa i elektronsko-mikroskopskih zapažanja ustanovili da virus crvene prugavosti sirka i virus mozaika šećerne trske također predstavljaju isti virus. Serološko srodstvo između ovih dvaju posljednjih virusa nedavno je utvrdio i **Shepherd** (1965). Prema njegovim istraživanjima ova se dva virusa ne na'aze u bliskom nego u dalekom srodstvu, ali ih treba tretirati kao sojeve virusa mozaika šećerne trske (u daljnjem tekstu VMST).

Virus je vezan u Evropi na višegodišnju biljku **Sorghum halepense** (L.) Per. (**Lovisolo** i **Aćimović** 1961, **Pop** i **Tussa** 1966). Na kukuružu izaziva mozaik. Osim toga, dolazi i do drugih promjena na kukuružu. Tako **Pop** i **Tussa** (1966) navode da mozaik kukuruza reducira dužinu, težinu i dijametar inficiranih biljaka što sve znatno utječe na prirodu. Prema **Panjanu** (1966) može doći do sniženja prinosa kukuruza i do 40%. Na vrsti **Sorghum bicolor var saccharatum** (L.) Moench., koja je često zaražena ovim virusom, u kasnim stadijima nastaju infekcije-purpurnocrvene pruge na listu i stabljici. Upravo po simptomima na sirku, **Goidanich** je opisao ovu bolest pod nazivom »arrossamento striato del sorgo«.

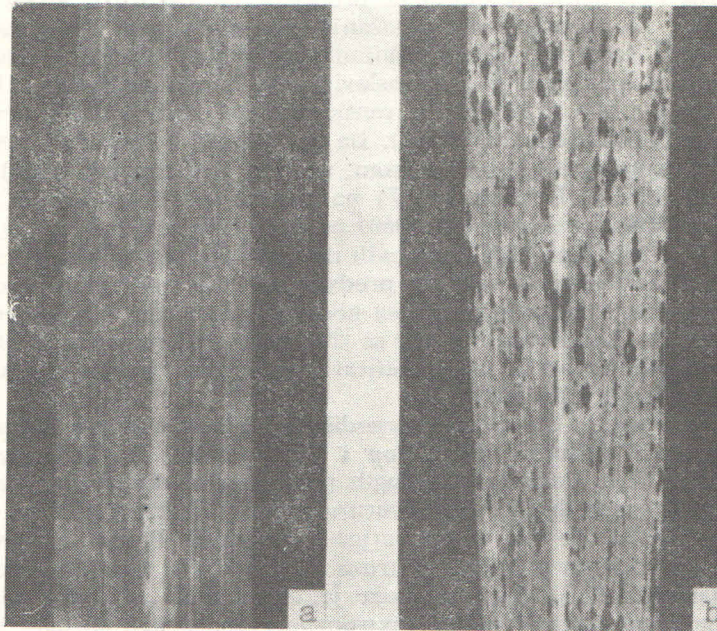
U pogledu rasprostranjenosti u Evropi, ovaj virus je nađen najprije u Italiji na sirku (**Goidanich** 1938), a poslije toga u Jugoslaviji na kukuružu (**Panjan** 1960). Kasnije je virus mozaika kukuruza pronađen i u srednjoj Evropi, u Mađarskoj (**Szirmai** i **Parisz** 1963) i ČSSR (**Benada**, **Kvičala** i **Schmidt** 1964).

Mozaične promjene na kukuružu prvi put je u Jugoslaviji — u okolici Zagreba — zapazio dr **Panjan** (1960). Nakon detaljnih istraživanja **Panjan** je 1963. godine utvrdio da se radi o VMST. **Lovisolo** i **Aćimović** (1961) su opisali VMST u Jugoslaviji na sirku, i to na nekoliko lokaliteta u Hrvatskoj, Vojvodini i Bosni. Nedavno je i **Tošić** (1965) iznio podatke detaljnog istraživanja ovog virusa na području Srbije. Simptome mozaika kukuruza, koji se po svojstvima podudaraju s ranije opisanim izolatima VMST u Jugoslaviji su zapaženi (**Panjan** 1960, **Lovisolo** i **Aćimović** 1961, **Panjan** 1963) u Srijemu, južnom Banatu i većem broju lokaliteta u užoj Srbiji.

* Za pomoć prilikom izvođenja pokusa zahvaljujem studentu biologije Vladi Kozumpliku.

MATERIJAL I METODE

Zaraženi kukuruz i divlji sirak (*Sorghum halepense Pers.*) iz kojih smo dobili dva izolata za daljnja laboratorijska istraživanja, potjecali su iz mjesta Otok u okolici Zagreba. Listovi zaraženog kukuruza su pokazivali mozaik ili kratke prugave šare koje su bile finije ili grublje izražene (sl. 1a). Na zaraženom divljem sirku također se zapažao izraziti mozaik ili nekrotične promjene.



Sl. 1a — Mozaik na listu kukuruza zaraženog virusom mozaika šećerne trske (izolat iz kukuruza)

Fig. 1a — Mosaic symptoms of sugarcane mosaic virus on leaf of corn (corn isolate)

Sl. 1b — Purpurnocrvene pruge na listu šećernog sirka sorte »Sumac« zaraženog virusom mozaika šećerne trske (izolat iz kukuruza)

Fig. 1b — Purple-red stripe symptoms of sugarcane mosaic virus on leaf of *Sorghum bicolor* var. *saccharatum* sort »Sumac« (corn isolate)

Ove izolate smo prenijeli na mlade biljke kukuruza čiste linije 16—83—7—1 i na njima ih održavali. Kukuruz nam je služio kao izvor virusnog materijala za sva istraživanja, a i kao test-biljka u reinfekcijskim pokusima.

Elektronsko-mikroskopska istraživanja o obliku virusnih čestica su izvršena u Odjelu za elektronsku mikroskopiju Instituta »Ruđer Bošković« u Zagrebu. Preparati su priređeni pomoću zaraženog kukuruza metodom uranjanja (Brandes 1957).

Za utvrđivanje serološke srodnosti između izolata iz kukuruza i izolata iz divljeg sirka priredili smo antiserum od izolata iz kukuruza. Kao izvrš virusnog materijala služio nam je pet tjedana zaraženi kukuruz. Djelomičnu purifikaciju virusa izveli smo prema metodi koju su koristili Pérez i Adsuar (1954) prilikom prepariranja antigena VMŠT. Pročišćeni antigen u smrznutom stanju smo čuvali do imuniziranja na temperaturi od -18°C raspoljjen u manjim količinama u većem broju epruveta.

Antiserum smo priredili pomoću kunića koji je na početku imuniziranja prvi dan primio intramuskularnu injekciju sa Freundovim adjuvansom od 5 ml i intraperitonealnu injekciju od 1 ml čistog antigena. Deset dana nakon ovog osnovnog imuniziranja uslijedila je serija intravenoznih injekcija s povećavajućom količinom virusne otopine, i to: 0,5 ml, 0,5 ml, 1 ml, 1 ml, 1,5 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2 ml. Intravenozne injekcije davali smo svaki drugi dan. Tjedan dana nakon završetka imuniziranja uzeli smo kuniću krv i priredili serum. Prije upotrebe serum smo zasićavali sokom zdrave biljke slijedećim postupkom. Smjesu seruma i soka u odnosu 1:1 smo inkubirali najprije 2 sata kod 37°C , a nakon toga pohranili preko noći na $+2^{\circ}\text{C}$. Slijedećeg dana smo izvršili centrifugiranje na 2000 okr. kroz 20 minuta. Tada je serum bio gotov za upotrebu.

Serološke reakcije smo vršili metodom kapljičnog testa. Reakcije smo očitavali nakon inkubacije od 45 minuta kod 25°C .

REZULTATI ISTRAŽIVANJA

1. Domadari virusa

Izolate iz kukuruza i divljeg sirka smo prenijeli tokom ovih istraživanja uspješno na 11 od 30 ispitanih vrsta trava (usp. tabl. 1). Karakteristično je da su oba izolata imala posve jednak krug domadara, tj. oba su inficirala istih 11 vrsta, a isto tako nijedan nije prelazio na istih 19 vrsta trava. Pokusi na test-biljkama su pokazali da domadari našeg virusa pripadaju slijedećim tribusima trava: **Andropogoneae**, **Festuceae**, **Maydeae** i **Panicaceae**. Ovi se rezultati približno slažu sa dosadašnjim istraživanjima domadara VMŠT koji su, kako se čini, vezani za familiju trava, i to samo za neke tribuse ove skupine. Vrste, koje u našim pokusima nisu reagirale na infekciju, predstavnici su tribusa **Agrostideae**, **Aveneae**, **Hordeae** i **Phalarideae**. To se podudara s ranijim istraživanjima **Lovisola** i **Aćimovića** (1961) koji također, nisu mogli zaraziti mnoge pripadnike ovih tribusa sa VMŠT.

Čini se, da smo tokom ovih istraživanja po prvi puta prenijeli VMŠT na vrstu **Brachypodium ramosum**. Ova vrsta je, prema tome, novi domadar VMŠT.

U pogledu oblika reakcije na pojedinim domadarima, oba izolata su izazivala jednake promjene. Kukuruz i divlji sirak, umjetno inficirani u stakleniku, pokazali su slične simptome kao i na polju. Prvi simptomi na kukuruzu su zapaženi kod baze mlađih listova većinom 10—14 dana poslije

inokulacije i imali oblik lagano izraženog mozaika. Kasnije su se znaci zaraze proširili na čitavu površinu tih listova (vidi sl. 1a). Na isti način su nastajale promjene i na mlađim novonastalim listovima. Simptomi mozaika vremenom su postajali izrazitiji. Osim toga su zaražene biljke rastom zaostajale za zdravima.

Kod vrste *Sorghum bicolor* var. *saccharatum* inkubacija je trajala 8 dana. Uskoro poslije jasno izražene prugavosti i mozaika počele su se formirati purpurnocrvene pruge različite veličine, i to najprije na starijim listovima. Purpurnocrvene pruge nastajale su na mjestu klorotičnih pruga. U kasnim stadijima infekcija crvene prugavosti bila je veoma izražena (vidi sl. 1b). Dolazilo je i do nekrotiziranja. Tako su pod utjecajem infekcije stariji listovi ugibali dok su na zdravim kontrolnim primjercima najstariji listovi bili normalno zeleni. Ispitane sorte šećernog sirka (***Sorghum bicolor*** var. ***saccharatum***) su pokazale različitu otpornost prema našim izolatima. Najotporniji je bio Novi Sad br. 7, dok je najžešće reagirao sirak Lindsey 92 F. Na ovom posljednjem sirku nastale su pored purpurnocrvenih pruga još i purpurnocrvene pjege u obliku koncentričnih nepravilnih krugova.

Na vrsti *Arundo donax* nastaju najprije lagano izražene klorotične uzdužne pruge na inokuliranim listovima. Nismo uspjeli izvršiti reinfekciju sa ovih listova na kukuruz. Već je od prije poznato (**Klinkowski** 1958) da nije moguće VMŠT prenijeti sa vrste *A. donax* na druge trave. U literaturi se navodi da VMŠT stvara kod vrste *A. donax* samo lokalnu infekciju (**Klinkowski** 1958, **Bojnansky** i dr 1963). Mi smo, međutim, kod duže zaraženih biljaka zapazili znakove infekcije i na listovima iznad inokuliranih. Pokusi reinfekcije sa sokom iz gornjih listova nisu također dali pozitivan rezultat, pa bi u daljnjim istraživanjima trebalo dokazati da li je infekcija lokalna ili sistemična.

Sorghum halepense i svi ostali domadari su reagirali mozaičnim simptomima vrlo sličnim onima koji nastaju na kukuruzu (usp. tab. 1).

Tabela 1 — Vrste na koje smo pokušali prenijeti izolate VMŠT i njihova reakcija

Table 1 — Species, to which we tried to transmit sugarcane mosaic virus isolates, and the reaction of the species

Vrsta Species	Način reagiranja Symptoms produced
Agrostideae	
<i>Agrostis alba</i> L.	—
<i>Gastridium ventricosum</i> (Gau.) Schinz. et Thell.	—
<i>Lagurus ovatus</i> L.	—
<i>Polypogon monspeliensis</i> (L.) Desf.	—
Andropogoneae	
<i>Sorghum bicolor</i> var. <i>saccharatum</i> (L.) Moench. (sorta Sumac, hibridi Lindsey 92 F, Lindsey 101 F, Novi Sad br. 4, Novi Sad br. 7, NK 320, Rocket, (Trudan)	+ (M, N)
<i>S. halepense</i> Pers.	+ (M)
<i>S. sudanense</i> (Piper) Stapf.	+ (M)
Aveneae	
<i>Avena sativa</i> L.	—
<i>A. pubescens</i> (Huds.) Jess.	—
<i>Gaudinia fragilis</i> (L.) P. B.	—
<i>Holcus lanatus</i> L.	—
Festuceae	
<i>Arundo donax</i> L.	+ (M)
<i>Brachypodium pinnatum</i> (L.) P. B.	—
<i>B. ramosum</i> (L.) R. S.	+ (M)
<i>Bromus hordeaceus</i> L.	—
<i>Dactylis glomerata</i> L.	—
<i>Poa nemoralis</i> L.	—
Hordeae	
<i>Haynaldia villosa</i> Schur.	—
<i>Lolium perenne</i> L.	—
<i>Hordeum vulgare</i> L.	—
<i>Triticum vulgare</i> Vill.	—
Maydeae	
<i>Zea mays</i> L.	+ (M)
Paniceae	
<i>Panicum sanguinale</i> L.	+ (M)
<i>P. crus-galli</i> L.	+ (M)
<i>P. miliaceum</i> L.	+ (M)
<i>Setaria glauca</i> (L.) P. B.	—
<i>S. italica</i> (L.) P. B.	+ (M)
<i>S. viridis</i> (L.) P. B.	+ (M)
Phalarideae	
<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	—
<i>Phalaris paradoxa</i> L.	—

Oznake: + inficirane vrste, — neinficirane vrste, M mozaik, N nekroze.

Signs: + infected species, — noninfected species, M mosaic, N necrosis.

2. Fizička svojstva virusa

Pokusi utvrđivanja termalne tačke inaktivacije su pokazali da se oba izolata inaktiviraju između 55°—60°C (usp. tab. 2). To se u potpunosti slaže s podacima koje su dobili za VMST **Costa** i **Penteado** (1951). Prema **Smithu** (1957) termalna tačka inaktivacije VMST leži između 53°—55°C, a prema **Klinkowskom** (1958) između 40°—50°C. **Benada, Kvičala** i **Schmidt** (1964) navode da se VMST inaktivira između 50°—55°C. Termalna tačka inaktivacije izolata, koje je proučavao **Tošić** (1965), nalazila se kod 52°C.

Našim mjerenjima smo postigli nešto veću vrijednost termalne tačke inaktivacije nego neki drugi autori. To je djelomično posljedica upotrebe kukuruza kao test-bijke, koja je prema istraživanjima **Coste** i **Penteada** (1951) mnogo osjetljivija nego sirak i šećerna trska.

Tabela 2 — Pokusi utvrđivanja termalne tačke inaktivacije VMST

Table 2 — Tests for determination of the thermal inactivation point of sugarcane mosaic virus

Temperatura °C	Broj zaraženih biljaka (No of infected plants)	
	Broj inokul. biljaka (No of inoculated plants)	
	Zea mays	Sorghum halepense
Kontrola	12/12	11/12
40°	11/12	10/12
45°	8/12	5/12
50°	1/12	3/12
55°	1/12	1/10
60°	0/12	0/12

Krajnja tačka razrjeđenja naših izolata se nalazi između 10^{-3} i 10^{-4} odnosno 10^{-5} (usp. tab. 3). **Smith** (1967) navodi da je krajnja tačka razrjeđenja VMST 10^{-3} . Ovu vrijednost je dobio i **Lovisolo** (1957). Prema **Panjanu** (1963) infektivan je VMST još kod razrjeđenja od 10^{-4} .

Tabela 3 — Pokusi utvrđivanja krajnje tačke razrjeđenja VMST

Table 3 — Tests for determination of the dilution end—point of sugarcane mosaic virus

Stupanj razrjeđenja Degree of dilution	Broj zaraženih biljaka (No of infected plants)	
	Broj inokul. biljaka (No of inoculated plants)	
	Zea mays	Sorghum halepense
10^{-1}	9/10	8/10
10^{-2}	8/10	7/10
10^{-3}	5/11	4/10
10^{-4}	0/12	1/20
10^{-5}	0/13	0/14

Iz upravo iznesenog proizlazi da se podaci koje smo dobili prilikom određivanja fizičkih svojstava VMST, općenito uzevši, prilično dobro podudaraju s rezultatima drugih autora.

3. Elektronsko-mikroskopska istraživanja

U preparatima priređenim metodom uranjanja (Brandes 1957) od bolesnih listova kukuruza se zapažao prilično mali broj nitastih fleksibilnih čestica. Pokušali smo odrediti veličinu čestica koje su ležale okomito na smjer sjenčanja. Njihova dužina je iznosila oko 750 nm. I druge pojedinačne čestice su bile otprilike jednake dužine. U preparatima zdravih biljaka takvih čestica uopće nije bilo.

4. Serološka istraživanja

Rezultati seroloških pokusa su prikazani na tabeli 4, pa vidimo da ne reagira samo izolat iz kukuruza sa svojim homolognim antiserumom nego da dolazi do jednake pozitivne reakcije i sa heterolognim antigenom koji je izoliran iz vrste *Sorghum halepense*. U kontrolnim pokusima sa sokom zdrave biljke i normalnim serumom kunića nikada nije došlo do formiranja pahuljastog precipitata. Antiserum je imao titar 1/64.

Tabela 4 — Serološke reakcije s antiserumom virusnog izolata iz kukuruza

Table 4 — Serological reactions with antiserum against the corn isolate

Antigen	Razrjeđenje antiseruma (Antiserum dilution)									
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
Izolat iz (isolate from) Zea mays	+	+	+	+	+	+	+	—	—	
Izolat iz (isolate from) Sorghum halepense	+	+	+	+	+	+	+	—	—	
Sok zdrave biljke (Healthy juice)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Serološke reakcije potvrđuju rezultate dobivene ispitivanjem na test-biljkama, tj. pokazuju da su ovi izolati međusobno vrlo srodni ili posve identični.

5. Terenska istraživanja

U ljetu 1965. i 1966. godine smo izvršili niz terenskih zapažanja o rasprostranjenosti virusa na kukuruзу i divljem sirku. Pregledali smo kukuruz na većem broju lokaliteta u Hrvatskoj. Na pregledanim površinama posebnu pažnju smo obratili na dolaženje višegodišnje korovne biljke *Sorghum halepense*, koja je prema navodima iz literature prirodni doma-

dar VMŠT, a ujedno rezervoar virusa u kojem virus prezimljuje (**Lovisolo i Aćimović 1961, Pop i Tussa 1966**).

Prva zapažanja smo izvršili u mjestu Otok kod Zagreba gdje smo na jednoj parceli zasijanoj kukuruzom zapazili na kukuruзу znakove mozaika. Na toj parceli i u njenoj blizini nalazio se divlji sirak koji je u velikom postotku pokazivao znakove zaraze (tabela 5). Izvršili smo prebrojavanje zdravih i zaraženih biljaka na više od 1000 primjeraka svake od navedenih vrsta i dobili rezultate prikazane na tabeli 5. Na drugoj parceli zasijanoj kukuruzom u mjestu Odra uopće nismo našli divlji sirak, a kukuruz je bio zaražen u manjem postotku nego li u Otoku. Nalazi u mjestima Otok i Odra jasno govore da je veći postotak zaraženog kukuruza u mjestu Otok posljedica prisutnosti zaraženog divljeg sirka. To je potpuno u skladu i s navodima drugih autora o divljem sirku kao domadaru VMŠT u kojem ovaj virus prezimljuje.

Kada smo iduće godine posjetili ta dva nalazišta, postotak inficiranog divljeg sirka i kukuruza u Otoku i kukuruza u Odri bio je veći nego u 1965. godini. Ova zapažanja su od važnosti, jer nam se čini da mozaik na kukuruзу uzrokovan VMŠT pokazuje u našim krajevima tendenciju širenja.

Naša terenska zapažanja u okolici Novske, Slavonskog Broda i Siska su pokazala da je VMŠT raširen i u tim krajevima, ali u znatno manjem postotku nego li kod Zagreba. Na pregledanim lokalitetima između Karlovca i Plitvičkih jezera postotak zaraženog kukuruza bio je još manji. Budući da na svim navedenim lokalitetima između Novske i Siska te Karlovca i Plitvičkih jezera ili nije bilo sirka ili sirak nije bio inficiran, smatramo da je odsustvo sirka, odnosno infekcije kod sirka, uzrok veoma niskom postotku zaraze kukuruza.

DISKUSIJA

Rezultati istraživanja pokazuju da naši izolati pripadaju virusu mozaika šećerne trske. Ovaj je virus u Jugoslaviji opisan već ranije pod nazivom virus mozaika kukuruza (**Panjan 1960, Panjan 1963, Tošić 1965, Panjan 1966**) i virus crvene prugavosti sirka (**Lovisolo i Aćimović 1961**). Da naši izolati predstavljaju VMŠT, proizlazi iz činjenice da nismo ustanovili nikakvu značajniju razliku u pogledu kruga domadara i fizičkih svojstava između naših izolata i izolata VMŠT koje su proučavali drugi autori. Isto se tako dobro podudara veličina čestice našeg izolata s veličinom čestica VMŠT koje su izmjerili drugi autori. Vrijednost veličine čestice od 750 nm, koju smo dobili, prilikom naših istraživanja, potpuno se podudara s nalazom **Dijkstre i Grancinia (1960)**. **Herold i Weibel (1963)** utvrdili su da je veličina čestice VMŠT 760 ± 10 nm. Prema istraživanjima **Benade, Kvičale i Schmidta (1964)** dužina VMŠT iznosi 765 nm.

Prilikom utvrđivanja raširenosti VMŠT postotak zaraženih biljaka je iznosio između 0—12,5 (usp. tab. 5). To se uglavnom, podudara s podacima o rasprostranjenosti ovog virusa u Rumunjskoj gdje postotak bolesnih biljaka varira u napadnutim krajevima od 1—5, a samo rijetko iznosi iznad 10 posto. (**Pop i Tussa 1966**). Mnogo veći postotak zaraženog kukuruza je ustanovio **Tošić (1965)** u Srbiji, u nekim područjima čak 30—50%. Kako smo sva naša terenska zapažanja vodili u razdoblju od kraja lipnja do sre-

Tabela 5 — Postotak biljaka zaraženih VMŠT na pojedinim lokalitetima u Hrvatskoj

Table 5 — Percentage of plants infected with sugarcane mosaic virus on various localities in Croatia

Nalazište Locality	Datum obilaska Date of survey	Zea mays		Sorghum halepense	
		Sveukupni broj pregledanih biljaka (Total number of surveyed plants)	Postotak inficiranih biljaka (Percentage of infected plants)	Sveukupni broj pregledanih biljaka (Total number of surveyed plants)	Postotak inficiranih biljaka (Percentage of infected plants)
Otok	19. VII 1965.	1130	8,1	1184	61,1
Odra	19. VII 1965.	1123	0,62	—	—
Otok	24. VI 1966.	1834	12,5	371	72,0
Odra	24. VI 1966.	1165	1,8	—	—
Rakov Potok	24. VI 1966.	900	0,2	—	—
Karlovac	24. VI 1966.	984	0,2	—	—
Slunj	24. VI 1966.	986	0,2	—	—
Drežnik	24. VI 1966.	596	0,1	—	—
Bročice (kod Novske), I	6. VII 1966.	1383	0,9	—	—
Bročice (kod Novske), II	6. VII 1966.	1004	1,4	500	0,0
Bročice (kod Novske), III	6. VII 1966.	1096	1,1	100	0,0
Slavonski Brod I	6. VII 1966.	997	0,6	115	0,0
Slavonski Brod II	6. VII 1966.	973	2,7	1350	0,0
Slavonski Brod III	6. VII 1966.	200	0,0	394	0,0
Slavonski Brod IV	6. VII 1966.	991	2,5	—	—
Slavonski Brod V	6. VII 1966.	981	1,9	—	—
Sisak (bašta uz Kupu)	7. VII 1966.	994	0,6	—	—
Sisak (lijeva obala Kupe)	7. VII 1966.	1799	1,7	—	—
Sisak (nasip uz njivu)	7. VII 1966.	—	—	1000	0,0
Sisak (nasip uz Savu)	7. VII 1966.	—	—	919	1,5

dine srpnja, dakle u doba kada kukuruz još nije dostigao svoj puni rast, nije isključeno da je postotak zaraženih biljaka i u ovim područjima na kraju bio veći.

VMŠT dovodi do značajnih promjena na kukuruzu, pa je od važnosti nalaz da je kukuruz u nekim predjelima Hrvatske zaražen u dosta velikom postotku sa ovim virusom. Zaražene biljke, prema zapažanjima **Tošića** (1965), često ostaju sterilne ili se na njima formiraju nepotpuni klipovi s umanjenim brojem redova zrna te brojem zrna u redovima koji postoje. Težina klipa prirodno zaraženog kukuruza u polju za 17—29% niža je negoli zdravog, a prinos opada do 254kg/ha (**Pop** i **Tussa** 1966).

U svrhu suzbijanja infekcije sa VMŠT trebalo bi uzgajati otporne sorte i hibride. Tako su **Pop** i **Tussa** (1966) pronašli šest veoma rezistentnih hibrida kukuruza, a **Panjan** je (1966) također u ispitivanjima osjetljivosti nekoliko raznih hibrida i sorata kukuruza pronašao jedan dosta otporan hibrid. Iz istraživanja rasprostranjenosti VMŠT na sirku u Jugoslaviji **Lovisol** i **Acimović** (1961) proizlazi da su i neki hibridi sirka prilično otporni na infekciju.

Kako je kod nas VMŠT vezan na korovnu biljku **Sorghum halepense**, u kojoj se održava preko zime, bilo bi potrebno u svrhu suzbijanja infekcije u našim krajevima obratiti također pažnju na uništavanje ovog korova na njivama i njihovoj blizini. Na taj način bi se smanjila mogućnost rane infekcije koja je prema istraživanjima drugih autora (**Pop** i **Tussa** 1966, **Panjan** 1966) mnogo opasnija od kasne zaraze. **Pop** i **Tussa** navode gubitak u prirodu rano inficiranog kukuruza od 43—44% nasuprot gubitku od 24—13% kod biljaka inficiranih u kasnom stadiju.

ZAKLJUČAK

Iz kukuruza (*Zea mays* L.) i divljeg sirka (*Sorghum halepense* Pers.) s mozaičnim simptomima, koji su rasli na istom lokalitetu u okolici Zagreba, izolirali smo dva virusa. Ova dva izolata smo uspjeli prenijeti na 11 istih vrsta iz porodice trava, dok na 19 drugih vrsta iste porodice izolate nismo mogli prenijeti. Na osnovu kruga domadara, simptoma, fizičkih svojstava, kao i na osnovu elektronsko-mikroskopskih istraživanja, ustanovili smo da oba izolata pripadaju virusu mozaika šećerne trske (VMŠT; sinonimi: virus crvene prugavosti sirka, virus mozaika kukuruza). Budući da su se oba izolata vladala posve jednako, i da su na antiserum priređen protiv izolata od kukuruza reagira a do istog stupnja razrjeđenja seruma, smatramo da su međusobno vrlo srodni ili posve identični.

Ovim istraživanjima smo potvrdili već poznatu činjenicu da je VMŠT raširen u našim krajevima na kukuruзу i divljem sirku. Da divlji sirak predstavlja kao višegodišnja korovna biljka važni rezervoar virusa, pokazuju i naša terenska istraživanja. U krajevima Hrvatske gdje je divlji sirak bio inficiran, bolesnih primjeraka kukuruza bilo je do 12,5% a tamo gdje nije bilo inficiranog sirka zaraza je bila mnogo slabija i kretala se od 0—2,5%.

SOME PROPERTIES OF MAIZE STRAIN OF SUGARCANE MOSAIC VIRUS FROM YUGOSLAVIA

Summary

Zlata Štefanac, Institute for Botany of the University in Zagreb

From *Zea mays* L. and *Sorghum halepense* Pers. with mosaic symptoms, which were collected at Otok near Zagreb, two viruses were isolated. On ground of the first experiments on test plants it was suspected that the disease is caused by the maize strain of the sugarcane mosaic virus (synonyms: sorghum red stripe virus, maize mosaic virus; see **Shepherd** 1965).

This disease is of economic importance for cultures of corn plants and sorghum plants in this part of Europe. In order to get better acquainted with the properties of the mentioned isolates, we have started detailed research on them.

At first it was attempted to transmit the isolates to a larger number of different species of grasses. By these experiments we succeeded to transfer both isolates to 11 from 30 examined species which are listed in Table 1. The infected plants are members of the following tribes of the family **Gramineae: Andropogoneae, Festuceae, Maydeae and Paniceae**. In our experiments it was not possible to infect a single examined grass species from the tribes **Agrostideae, Aveneae, Hordeae and Phalarideae** (see Table 1). The host range of our isolates agrees on the whole with earlier investigations of sugarcane mosaic virus hosts, from which it is known that this virus is limited only to certain tribes of the grasses.

In the course of this research **Brachypodium ramosum** was discovered to be a new host of sugarcane mosaic virus.

As regards the reaction on particular species, both isolates caused the same symptoms. Mosaic symptoms were observed on corn and the majority of other hosts (Fig. 1a). On *Sorghum bicolor* var. *saccharatum*, in addition to the mosaic, purple-red stripes were formed (Fig. 1b), which turned at later stages into red necrotic lesions. These symptoms correspond to those of the sugarcane mosaic virus.

The results of investigation on physical properties are shown in Tables 2 and 3. The thermal inactivation temperature of both isolates lies between 55° and 60° C. The dilution end point is between 10⁻³ and 10⁻⁴ for the first, and between 10⁻⁴ and 10⁻⁵ for the second isolate. The values of physical properties also show that our isolates belong to the sugarcane mosaic virus.

In order to determine the isolates with more certainty the isolate from **Zea mays** was examined by electron microscopy. Dipping preparations of diseased plants showed long filamentous particles about 750 nm long. The particle length of our isolate coincides very well with those previously noted for sugarcane mosaic virus; so **Dijkstra and Grancini** (1960) state 750 nm and **Herold and Weibel** (1961) a similar value of 760 ± 10 nm.

That the isolate from corn and the isolate from **Sorghum halepense** are exceedingly related has been concluded on basis of similar reaction on host plants as well as by the agreement in physical properties. The degree of similarity in the cited properties has been correlated with the degree of relationship indicated by serology. The antiserum against the isolate from corn was prepared for this purpose. Both isolates reacted with this antiserum to the same degree of serum dilution, that is to 1/64 (see Table 4).

During 1965—1966 a series of field observations concerning the distribution of the sugarcane mosaic virus on corn and **Sorghum halepense** was carried out in a considerable number of localities in Croatia (Table 5). Special attention was devoted to the presence of the perennial **S. halepense**, which is, according to statements from literature, the natural host of sugarcane mosaic virus, in which this virus winters **Lovisol and Acimović** 1961, **Pop and Tussa** 1966).

A connection between infected corn and *S. halepense* was established in the inspected localities (Table 5). Thus the corn was constantly infected in a more considerable rate in the localities where *S. halepense* was also infected, while the corn was slightly attacked or it was healthy where *S. halepense* was also healthy or where *S. halepense* was not present at all. Consequently it seems that *S. halepense* as a perennial weed plant represents an important reservoir of sugarcane mosaic virus in our regions.

In the course of two years of observation in two localities near Zagreb, where corn was successively cultivated for two years, it was established that sugarcane mosaic virus shows the tendency of slow increase (see Table 1).

Literatura

- 1) Benada J., B. A. Kvičala, und H. B. Schmidt, 1964: Die Rotstreifigkeit des Sorghum und das Streifenmosaik des Mais, eine für die ČSSR neue Viruskrankheit. Zentralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten u. Hygiene 117, 683—691.
- 2) Brandes J. 1957: Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) 9, 151—152.
- 3) Bojnansky V. i dri, 1963: Virusové choroby rastlin. Slovenské vydavateľstvo pôdohospodárskej literatúry, Bratislava.
- 4) Costa A. S. and M. P. Penteado, 1951: Corn seedlings as a test plants for the sugarcane mosaic virus. Phytopathology 41, 758—763.
- 5) Dijkstra J. P. Grancini, 1960: Serological and elektronmicroscopical investigations of the relationship between sorghum red stripe virus and sugar cane mosaic virus. Tijdschrift Over Plantenziekten 66, 295—300.
- 6) Goidanich G. 1938: Le malattia del sorgo zuccherino in Italia nelle ultime annate agrarie. Cellulosa 2, 245—250.
- 7) Goidanich G. 1939: Ricerche sul deperimento del sorgo zuccherino verificatosi in Italia nella primavera del 1938. Boll. Staz. Pat. Veg. Roma 19, 1—74.
- 8) Grancini P. 1957: Un mosaico del mais e del sorgo in Italia. Maydica 2, 83—104.
- 9) Herold F. and J. Weibel, 1963: Electron microscopic demonstration of sugarcane mosaic virus particles in cells of *Saccharum officinarum* and *Zea mays*. Phytopathology 53, 469—471.
- 10) Klinkowski M. 1958: Pflanzliche Virologie, Bd II. Akademie-Verlag, Berlin.
- 11) Lovisolo O. 1957: Contributo sperimentale alla conoscenza ed alla determinazione del virus agente dell'arrossamento striato del sorgo e di un mosaico del mais. Boll. Staz. Pat. Veg. Roma 14, 261—321.
- 12) Lovisolo O. and M. Aćimović, 1961: Sorghum red stripe disease in Yugoslavia. FAO, Plant protection Bull. 9, 98—102.
- 13) Panjan M. 1960: Virusni mozaik kukuruza u Jugoslaviji. »Zaštita bilja« 62, 3—8.
- 14) Panjan M. 1963: Prilog ispitivanju virusa mozaika kukuruza. »Ljetopis Jug. akademije« 68, 270—273.
- 15) Panjan M. 1966: Maisvirozen in Jugoslawien. Referat na Simpoziju o problemima istraživanja biljnih virusa u Ascherslebens 20—23. VII 1966. Rukopis.
- 16) Pérez J. E. and J. Adsuar, 1954: Serological reactivity of sugarcane-mosaic virus. J. Agr. Univ. Puerto Rico 38, 9—15.
- 17) Pop J. and C. Tussa, 1966: Influence of maize mosaic on the growth and yield of some maize hybrids. In: Viruses of plants, Proceedings of the International conference on plant viruses. Wageningen, July 1965. North-Holland publishing company — Amsterdam.
- 18) Shepherd R. J. 1965: Properties of a mosaic virus of corn and Jonnsons grass and its relation to the sugarcane mosaic virus. Phytopathology 55, 1250—1256.
- 19) Smith K. M. 1957: A textbook of plant virus diseases. J. and A. Churchill Ltd., London.
- 20) Szirmai J. és L. Parizs, 1963: A kukorica csikos mosaic betegsége. Növénytermelés 12, 43—50.
- 21) Tošić M. 1965: Proučavanje viroznog mozaika kukuruza u Srbiji. Zbornik radova Poljoprivrednog fakulteta (Beograd) 13 (392), 1—19.