

Sodininkystë ir darbininkystë *Horticulture* *Ñàäî âî äñòâî è îâî Ùåâî äñòâî*

Kopûstiniø (*Brassica* L.) darþoviø virusologinës bûklës ávertinimas

Irena Zitikaitë,
Milda Vasinauskienë

Botanikos institutas,
Paliøjø Eþerø g. 49,
LT-08406 Vilnius,
el. paðtas izitika@botanika.lt;
milda@botanika.lt

Elena Survilienë,
Alma Didlauskiæ

Lietuvos sodininkystës ir
darbininkystës institutas,
LT-4335 Babtai, Kauno r.,
el. paðtas laimis@lsdi.lt

Lietuvos valstybiniam mokslo ir studijø fondu remiant 2003 m. buvo atliki kopûstiniø darþoviø virusiniø ligø pasireiðkimo tyrimai ávairose Lietuvos agroklimatinëse zonose: Klaipëdos, Vilniaus, Kauno, Trakø, Këdainiø, Radviliðkio ir ðirvintø rajonuose. Nustatyta, kad daþniausi kopûstø virusinës kilmës paþeidimø simptomai buvo lapø gyslø iðryðkëjimas, tarpgyslinio audinio chlorotinis margumas ir ávairios lapø deformacijos. Perðvieëiamosios elektroninës mikroskopijos metodu tiriant kopûstø nevalytø ekstraktø preparatus buvo aptiktø paþeidimø sukélëjai – virusai, kurie daþnai buvo aptinkami kompleksinëje infekcijoje. Pagal eksperimentiðkai paþeidþiamø augalø spektrą, sukeliamus juose simptomus ir virionø morfologines savybes ið kopûstiniø darþoviø iðskirti skirtingos virionø morfologijos ir sukeliamos ávairios simptomatikos virusai: piediniø kopûstø mozaikos (*Cauliflower mosaic caullimovirus*, CaMV), turnepsø mozaikos (*Turnip mosaic potyvirus*, TuMV) ir tabako garbanotosios dryþligës (*Tobacco rattle tobavivirus*, TRV). Daþniai buvo aptinkamas CaMV. Iš baltagûþiø kopûstø buvo izoliuotas izometrinis virusas, kuris virionø morfologijos ir charakteringø viruso genomo fragmentø struktûros tyrimais preliminariai buvo identifikuotas kaip tabako nekrozës virusas (*Tobacco necrosis necrovirus*, TNV).

Raktapodþiai: kopûstai, virusinës ligos, virusai, identifikavimas

ÁVADAS

Brassica L. genties darþovës yra vienos plaèiausiai Lietuvoje auginamø lapiniø lauko darþoviø. Jø plotai sudaro apie 65% nuo bendro darþoviø auginimo ploto. Baltagûþiai (*Brassica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *alba* DC), piediniai (*B. oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *botrytis* L.), raudongûþiai (*B. oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *rubra* DC.), ropiniai (*B. oleracea* L. convar. *acephala* (DC.) Alef. var. *gongylodes*), gûþiniai (savojos) (*B. oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *sabauda* L.), lapiniai (*B. oleracea* L. convar. *acephala* (DC.) Alef. var. *sabellica* L.) ir briuseliniai (*B. oleracea* L. convar. *oleracea* var. *gemmifera* DC.) kopûstai, brokoliai (*B. oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.), pekininiai bastuèiai (*B.*

pekinensis (Lour.) Rupr.), valgomieji ridikai, ridikëliai (*Raphanus sativus* L.), ropës, turnepsai (*B. rapa* L. var. *rapa*) sudaro bastutiniø (*Brassicaceae* Burnett.) ðeimà. Kopûstines darþoves, kaip ir kitus þemës ûkio augalus, paþeidþia virusai, sukeliami ðiø darþoviø augimo ir vystymosi sutrikimus ir ðitaip sumenkindami prekinæ kokybæ. Nuolat áveþtant ávairias jø rûðis, veisles (sëklas), neiðvengiamai plinta ir nauji virusai.

Kopûstiniø darþoviø virusines ligas gali sukelti turnepsø mozaikos (*Turnip mosaic potyvirus*, TuMV), piediniø kopûstø mozaikos (*Cauliflower mosaic caullimovirus*, CaMV), ridikø mozaikos (*Radish mosaic comovirus*, RaMV) ir kiti virusai. Anglijoje, Vokiecijø, Lenkijoje, Rusijoje, taip pat Amerikos kontiente minimi TuMV ir CaMV epifitotijø atvejai. 1960 m. Vokietijoje piediniø kopûstø derliaus nuos-

toliai, sukelti CaMV, buvo ávertinti 1,2 mln. markio [12]. Kopūstinës darþovës yra taip pat natûralùs alternatyviø, kaip runkelio Vakarø geltos (*Beet western yellows luteovirus*, BWYV), agurkø mozaikos (*Cucumber mosaic cucumovirus*, CMV), virusø augalai ðeimininkai [14, 16]. Ispanijoje kopûstuose nustatyti: BWYV ir CaMV [8]. Rusijos Tolimuosiouse Rytuose *Brassica* L. darþovëse identifikuoti TuMV, RaMV ir CaMV [4]. Pagrindinis virusas, paþeidþiantis kopûstines darþoves, yra CaMV, kurio genetinë informacija sutelkta dvigrandëje DNR. Pirmà kartà CaMV buvo izoliuotas ið *B. campestris* L. ir *B. oleracea* L. augalø 1937 m. JAV [1]. CaMV yra paplitæs Europos ðalyse, Britø salyne, N. Zelandijoje. CaMV daþnai aptinkamas kompleksinëje infekcijoje su TuMV. Virusas kaupiasi visø augalo ðeimininko daliø epidermio lasteliø citoplazmoje sferiniai ar elipsoidiniai intarpais. Virusas yra stabilus, atsparus aplinkos poveikiui. Išlieka infektiškas 7–15 d. *in vitro* 20°C. Ið augalo á augalà virusas plinta sultimis (per þaizdas) ir amarais (25 rûðys). Natûraliai CaMV paþeidþia tik *Brassicaceae* rûðis, ypaè piedinius kopûstus, kuriø derliø redukuoja 20–50% [14]. Plaëiu paþeidþiamø augalø spektru pasiþymi TuMV, kopûstuose sukeliantis juodâjá þiediðkajá ar chlorotiná démetumà. Pagal virulentiðkumà yra iðskirta skirtingø TuMV kamienø. Virusas yra stiprus imunogenas. TuMV yra aptinkamas Amerikoje, Europoje, Azijoje. Pirmà kartà TuMV buvo izoliuotas ið ropiø (*B. rapa* var. *rapa*) augalø JAV [14]. Nustatyta, kad jis infekuoja visus svarbius ðios ðeimos augalus, áskaitant ir baltagûþius kopûstus. Pastarojø derliaus nuostoliai siekia iki 25% [7]. Kaip natûralùs TuMV ðeimininkai yra nustatyti þidiniai, briuseliniai kopûstai ir brokoliai. TuMV infekcijos þidiniai yra keletas pikþpoliø ið *Amaranthus* L., *Capsella* Med., *Sinapis* L., *Stellaria* L. genëiø. Per 40 rûðiø amaro yra ðio viruso vektoriai. Virusas plinta infekuotomis augalø sultimis, taigi, ir su produkcija. Lietuvoje, tiriant kitø darþoviø virusines ligas, pastebëti ir kopûstiniø darþoviø virusinës etiologijos paþeidimai: chlorotiná margi ir deformuoti lapai, nekrotinës lapø gyslos, þemaûgiai kopûstai.

Šio tiriamojo darbo tikslas buvo ávertinti Lietuvos auginamø kopûstiniø darþoviø virusologinæ bûklæ, virusiniø ligø simptomø pasireiðkimà ir identifikuoti labiau paplitusius kopûstines darþoves paþeidþianèius virusus.

TYRIMO SÀLYGOS IR METODAI

Kopûstiniø darþoviø su virusinës etiologijos atitinamais paþeidimais émenys buvo paimti Klaipëdos, Vilniaus, Kauno, Trakø, Kédainiø, Radviliškio ir ðirvintø r. privaëiuose sklypuose, ûkiuose, Lietuvos sodininkystës ir darþininkystës (LSDI) ir Botanikos instituto mokslinës-eksperimentinës bazës lauko bandymø kolekcijose.

Virusiniø ligø sukelėjai ið ávairio kopûstiniø darþoviø lapø ekstraktø buvo iðskiriami ir identifikuojami per ðievieëiamosios elektroninës mikroskopijos (EM) ir augalø-indikatoriø metodais, nustatant virusø morfologines ir biologines savybes [1, 3]. Diagnostiniø augalø inokuliavimo infektiðkais eksperimentai buvo atliekami Fitovirusø laboratorijos ðiltnameje. Mechaniðkai inokuliuoti ðio botaniniø ðeimø augalai-indikatoriai: **Brassicaceae** Burnett: *B. napus* var. *oleifera* DC., *B. oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *alba* DC ‘Golden Acre’, ‘Kamienna Glova’, ‘Dotnuvos baltarusiški’, ‘Podarok’, ‘Arktika’, *B. oleracea* convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *botrytis* L. ‘Diplomat’, *B. oleracea* (L.) convar. *capitata* (L.) Alef. var. *rubra* DC., *B. oleracea* L. convar. *caulorapa* var. *gongylodes* L., *B. oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch. ‘Calabrese’, *R. sativus* L. ‘Žara’, ‘Kretingos pagerinti’, ‘Krasnyj velikan’, *Sinapis alba* L.; **Solanaceae** Juss.: *Datura stramonium* L., *Nicotiana debneyi* Domin, *N. glutinosa* L., *N. rustica* L.; **Chenopodiaceae** Vent.: *Beta vulgaris* var. *saccharifera* Alef. ‘Evita’, *Chenopodium amarananticolor* Coste et Reyn., *Ch. ambrosioides* L., *Ch. quinoa* Willd., *Ch. urbicum* L.; **Amaranthaceae** Juss.: *Amaranthus caudatus* L., *Celosia argentea* f. *cristata* (L.) Kuntze, *Gomphrena globosa* L.; **Aizoaceae** Rudolphi.: *Tetragonia expansa* Murr.

Provokaciniam uþkrëtimui virusais ið LSDI buvo gauti 55 ‘Dotnuvos baltarusiški’ baltagûþio ir 32 ‘Autoro F’ raudongûþio kopûstø daigai, kurie kaip ir kiti diagnostiniai augalai buvo mechanistiðkai inokuliuoti kopûstines darþoves paþeidþianèiais trimis skirtingos biologijos virusais: TuMV, CaMV ir CMV. TuMV izoliatas (jo kilmë – Aðerslebenas, Vokietija) buvo gautas ið habil. dr. J. Staniulio fitovirusø kolekcijos. Kitø virusø izoliatai buvo paimti ið laboratorijoje saugomos virusø kolekcijos. Augalø-indikatoriø inokuliacija buvo atliekama homogenizuojant simptominius lapus 0,01 M natrio ar kalio fosfato buferiuose pH 7,0 su antioksidantais: 0,02% 2-merkaptoetanoliu ar 0,001 M Na EDTA ir átrinant homogenizatà á sveikø diagnostiniø augalø lapus. Galima latentinë virusinë infekcija buvo nustatoma EM metodu ir atgaline sveikø diagnostiniø augalø inokuliacija tiriamu virusu. Konkretaus virusinio paþeidimo sukelėjo nustatytos biologinës bei morfologinës savybës buvo lyginamos su augalø virusø apyradais.

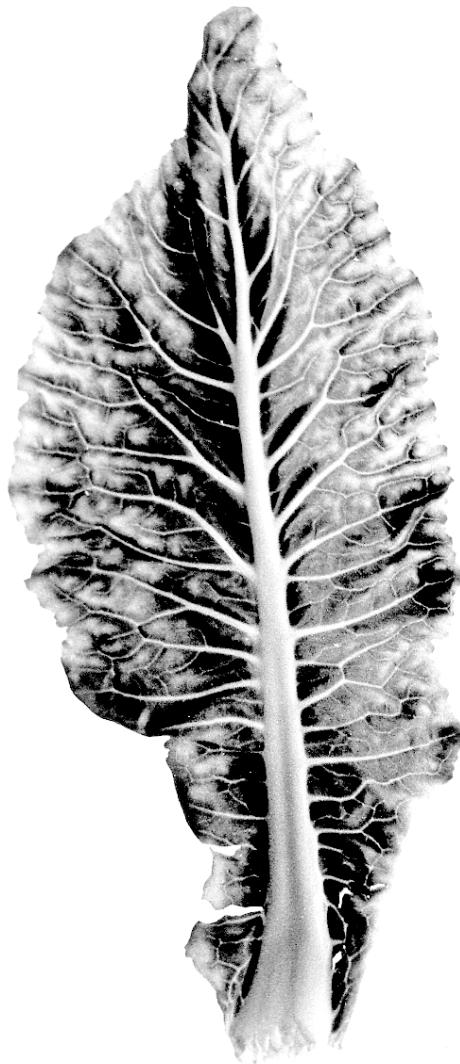
TYRIMØ REZULTATAI IR JØ APTARIMAS

Kopûstiniø darþoviø virusiniø ligø ir jø sukelėjø biologijos tyrimui ir identifikavimui lauko, laboratoriø némis ir ðiltnamio sàlygomis buvo surinkta per 30 virusais paþeistø (simptomøðkø) ávairiø rûðiø ir veisliø kopûstø ir kalaropio émenø ið skirtingø agroklimatinø Lietuvos regionø (1 lentelë). Be to, buvo pasëti ávairiø rûðiø ir veisliø tiek *Brassicaceae*, tiek

1 lentelė. *Brassica L.* daržovių ēmenų simptomologinis ir morfologinis tyrimas

Rūšis ir veislė	Pažeidimo simptomai	Virionė forma	Radvietė
Baltagūbėliai Piediniai 'White Ball'	Chlorotinė dėmėtligė Tarpgymlinė mozaika	siūliniai 700 nm neaptikta	Vainotiškės, Kėdainių r.
Baltagūbėliai 'Dotnuvos baltarusiški'	Lapų raukštėtumas, gylslo išryžkėjimas	sferiniai 30 nm	Babtai, Kauno r.
Piediniai 'Diplomat'	Lapų chlorotinis margumas, garbanė	sferiniai 50 nm	Kiemeliai, Vilniaus r.
Baltagūbėliai 'Dotnuvos baltarusiški'	Nežymi chlorozė, þemaûgė	sferiniai 30 nm	
Piediniai 'Goodman'	Lapų margumas ir pūslėtumas	sferiniai 50 nm	
Piediniai 'Lateman'	Lapų virðūniš chlorotinis margumas	siūliniai 700 nm sferiniai 50 nm	
Baltagūbėliai 'Ditmarscher'	Lapų deformacija ir chlorozė	sferiniai 50 nm	
Baltagūbėliai 'Dotnuvos baltarusiški'	Difuzinis baltas dėmėtumas	sferiniai 30 nm	Babtai, Kauno r.
Gūbiniai kopūstai (Savojo)	Lapų margumas ir pūslėtumas	neaptikta	
Piediniai 'Diplomat'	Gylslo išryžkėjimas, pakraðėiš margumas.	sferiniai 50 nm	Mūniškės, Kauno r.
Kaliaropės 'Kolibri'	Difuzinės baltos dėmės	sferiniai 50 nm	
Piediniai Baltagūbėliai 'Dotnuvos baltarusiški'	Nežymus margumas	neaptikta	Babtai, Kauno r.
Baltagūbėliai 'Kamienna Glova'	Balzganas margumas, deformacija	neaptikta	Sodė bendrija „Vasara“, Dirvintė r.
Raudongūbėliai Baltagūbėliai 'Parel'	Difuzinis gelsvas margumas	sferiniai 30 nm	Èiþiûnai, Trakų r.
Baltagūbėliai 'Parel'	Gyslos su þaliais apvadais	neaptikta	
Piediniai 'Movir'	Jauni lapai gelsvi, uplenktais pakraðèiais, storomis gylsomis	sferiniai 30 nm	Sodė bendrija „Varsa“, Vilniaus m.
Baltagūbėliai 'Parel'	Augalas ðviesiai þalias, deformuotais lapais, þemaûgis	sferiniai: 50 nm ir 30 nm, lazdeliniai	
Piediniai 'Movir'	Lapuose gelsva dėmėtligė	sferiniai 30 nm sferiniai 50 nm	Klimoniškis, Vilniaus r.
Baltagūbėliai	Lapų ryðkus gelsvas margumas	neaptikta	Dotnuva, Kėdainių r.
Piediniai 'Diplomat' Baltagūbėliai 'Kamienna Glova'	Ryðkios smulkios gyslos	neaptikta	
	Lapai chlorotiðkai margi, ryðkus gylslo tinklas	sferiniai 30 nm siūliniai 700 nm	Grinkiškis, Radviliškio r.

1	2	3	4
Baltagūbūjai ‘Dotnuvos baltarusių’	Lapų kraštuoje difuzinis chlorotinis margumas	sferiniai: 30 nm ir 50 nm	Juodeliai, Radviliškio r.
Piediniai ‘Diplomat’	Lapų tankus gylslo tinklas, netaisyklingos formos gelsvos dėmės	pavieniai sferiniai 50 nm	Vaitiekūnai, Radviliškio r.
Baltagūbūjai ‘Grybovskij’ Baltagūbūjai ‘Dotnuvos baltarusių’	Lapų pakraštėi garbanė	neaptikta	Neėionys, Đirvintė r.
Piediniai ‘Fastman’	Gelsva mozaika lapų tarpgylsliame audinyje	sferiniai: 30 nm ir 50 nm	Juodeliai, Radviliškio r.
Piediniai	Silpnas chlorotinis margumas	sferiniai 30 nm	Vanagynė, Vilniaus r.
Baltagūbūjai Baltagūbūjai ‘Arktika’	Lapų deformacija, dėmėtumas	sferiniai 30 nm	Klimoniškis, Vilniaus r.
Piediniai	Chlorotinis dėmėtumas	neaptikta	Babtai, Kauno r.
Baltagūbūjai ‘Krautmann’	Jaunų lapų chlorozė ir su gylslo apvadais	sferiniai 30 nm	Peliškiai, Đirvintė r.
	Lapų gylslo iðryðkėjimas	neaptikta	Karklė, Klaipėdos r.
	Lapų gylslo iðryðkėjimas	neaptikta	Sodų bendrija „Vasara“, Đirvintė r.

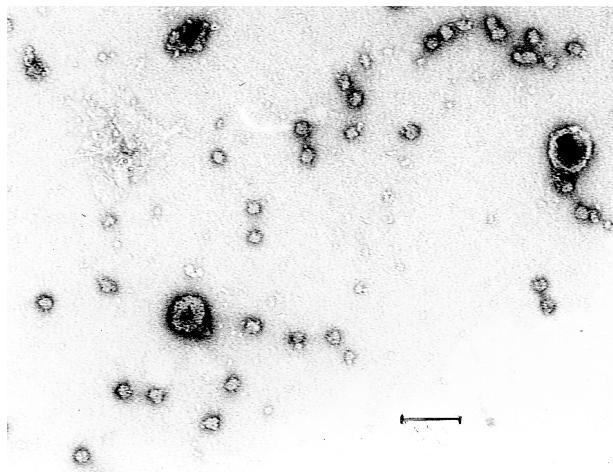


1 pav. Virusinės ligos pažeistas piedinių kopūstų lapas

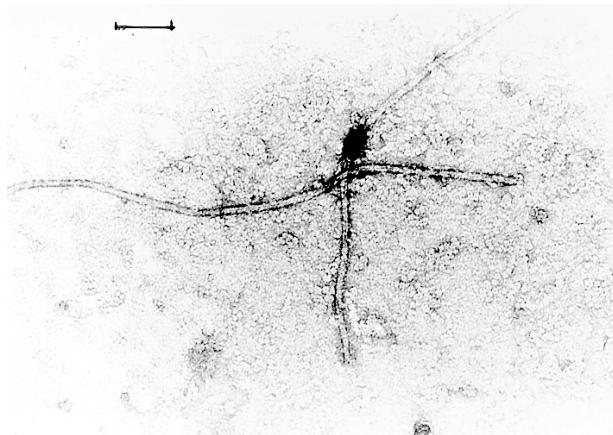
fitovirusologiniuose tyrimuose naudojamose kitose botaninių žeimų augalai-indikatoriai. Pastoviai buvo stebima pažeidimo simptomų vystymosi inokuliuojuose augaluose dinamika, viruso poveikis konkretiui diagnostiniams augalui. Latentinė virusinė infekcija ir jos grynumas diagnostiniuose augaluose buvo kontroliuojami EM metodu.

Augavietėse dažniau pastebėti kopūstų virusinių pažeidimų simptomai buvo lapų gylslo iðryðkėjimas, joms paðviesėjus ar sustorėjus, tarpgylsliai nevienodos spalvinio intensyvumo chlorotiniai margumai (1 pav.) ir ávairios lapų deformacijos iðsikraipius lapa-lakðeiamus ar uþsilenkus jø pakraðeiamus (1 lentelë). Dël to virusais pažeisti kopūstai iðsiskyrę bendrame jø plote. Reèiau buvo stebima kopūstų þemaûgë.

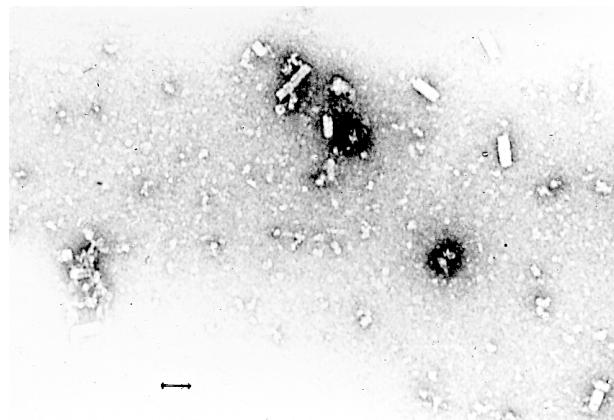
Atlikus kopūstinių daržovių ir kai kurių augalų-indikatorių provokacinius uþkrëtimus kopūstus paþeidiančiais virusa: CMV, TuMV ir CaMV, nustatyta, kad ryðkiausiai reagavo CMV uþkrësti augalai-indikatoriai (2 lentelë). Tipiðkiausiai pažeidimo simptomai iðsvystė *C. sativus* (lapuose tamsiai ir ðviesiai þaliø ploteliø mozaika), *D. stramonium* (ryðki chlorotinës margligë) ir *N. glutinosa* (margi ir raukðlëti lapalakðeiai) augaluose. CMV neuþkrëtē inokuliuoþ kopūstų ir rapsø. CMV uþsikrëtusios augalų-indikatorių rûðys ir juose sukelti pažeidimai, taip pat aptiktos virionas (sferiniai apie 28 nm skersmens) morfologija atitinka ðio viruso savybes [1]. TuMV izoliatus uþkrëstuose augaluose iðryðkëjæ simptomai buvo neþymûs: vietinës chlorotinës ar rausvos dëmelës ir lapalakðeio defektai. Po atgalinës tos paëios rûðies sveikos augalos inokuliacijos infekcija nepasivirtino. Tai bûtø galima paaiðkinti þema viruso koncentracija augaluose ir tuo, kad dauguma potyviruso, kuriems priklauso ir TuMV, pasiþymi dideliu labilumu.



2 pav. Piediniø kopûstø mozaikos viruso ir tabako nekrozes viruso kompleksinë infekcija kopûstuose. Brûkðnys – 100 nm



3 pav. Kopûstuose aptikto turnepsø mozaikos viruso siûliniai virionai. Brûkðnys – 100 nm



4 pav. Tabako garbanotosios dryþligës viruso dalelës kopûstuose. Brûkðnys – 100 nm

Tai, kad po mechaninës inokuliacijos CaMV uþsi-krëtë tik *Brassica* genties diagnostiniai augalai (2 lentelë), parodo ðio viruso specifiðkumà, t. y. siaurà paþeidþiamø augalø spektrà.

Tiriant virusø paþeistø kopûstiniø darþoviø èemenis buvo siekiama iðaiðkinti paþeidimus sukëlusio virusø morfologijà. EM tyrimu *Brassica* darþovëse nustatyta virionø ávairovë: sferiniai (izometriniai) apie 30 nm ir 50 nm skersmens, lankstûs siûliniai per 700 nm ilgio ir dviejø ilgiø lazdeliniai. EM virionø neaptikta tik 11-oje ið 32 tirtø kopûstiniø darþoviø èemenø. Remiantis morfologijos ir paþeidimø simptomø tyrimo rezultatais buvo parinktos atitinkamø augalø-indikatoriø grupës, iðskirti virusiniai izoliatai (Nr. 0316, 0319, 0321, 0224, 0325) ir tiriamos aptiktø virusø biologinës savybës.

CaMV buvo identifikuotas tiriant kopûstø simptomøðko lapø nevalytø ekstraktø preparatus, paruoð-

2 lentelë. Diagnostiniø augalø reakcija á inokuliacijà kopûstus paþeidþianèiais virusais

Augalas-indikatorius	Virusas ir jo sukelti simptomai		
	TuMV	CaMV	CMV
<i>Amaranthus caudatus</i>	S: Stunt	0	L: YLL
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	S: Ru	S: VC	0
<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	0	S: dif Mo	0
<i>B. napus</i> var. <i>oleifera</i>	0	0	0
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	L: Chl Sp	(L: Chl LL)	L: Chl LL
<i>Cucumis sativus</i>	0	–	S: M
<i>Datura stramonium</i>	0	–	S: Chl Mo
<i>Gomphrena globosa</i>	(L: rLL)	0	L: NLL
<i>Nicotiana glutinosa</i>	0	–	S: M, Mo. Ru
<i>Phaseolus vulgaris</i>	0	–	L: NLL
<i>Raphanus sativus</i>	S: LeCr	0	0
<i>Sinapis alba</i>	0	0	–
<i>Tetragonia expansa</i>	0	0	L: Chl Sp

Simboliai: S – sisteminë reakcija, L – vietinë reakcija, LL – vietinës þaizdos, Stunt – sunykës, þemaûgis, Ru – raukðlëtumas, ChlSp – chlorotinis dëmëtumas, r – raudonas, LeCr – lapø garbanotumas, VC – gyslo iðryðkëjimas, difMo – difuzinis margumas, Y – geltonas, M – mozaika, N – nekrotinës, () – abejotini paþeidimai, 0 – augalas nereagavo, – – augalas neinokuliuotas.

tus ið 'Dotnuvos baltarusiðki', 'Parel' ir 'Ditmarscher' baltagûbiø ir 'Diplomat', 'Goodman', 'Movir' bei 'Lateman' piediniø kopūstø. Aptikti izometriniai apie 50 nm skersmens virionai, bûdingi CaMV (2 pav.). Mechanine sulèiø inokuliacija virusas uþkrëtë tik *B. oleracea* convar. *botrytis* var. *botrytis* 'Diplomat' ir *B. oleracea* L. convar. *capitata* var. *alba*, 'Golden Acre' ir 'Dotnuvos baltarusiðki' augalus, kuriø lapø gyslos labai iðryðkëjo, o lapalakðeiai tapo difuziðkai dêmëti. *D. stramonium* L. lapuose neþymus chlorotinis margumas iðsivystë dël miðrios virusinës infekcijos po-veikio. Eksperimentiðkai iðaiðkintos ðio sukeléjo biologinës savybës ir virionø forma bei dydis yra bûdingos CaMV [1, 11], kuris natûraliai paþeidþia tik *Brassica* L. darþoves.

Keli ar pavieniai lankstùs siûliniai per 700 nm ilgio virionai, bûdingi *Potyvirus* grupës virusams, buvo aptikti trijuose kopūstiniø daržoviø su labai skirtingais paþeidimo simptomais émenyse. Paþeistø kopūstø sultimis buvo inokuliuti *A. caudatus*, *B. oleracea* var. *botrytis*, *B. napus* var. *oleifera*, *C. amaraniticolor*, *N. rustica* ir kiti indikatoriniai augalai. Tik rapse (sisteminis lapø pûslëtumas) ir burnotyje (vietinës baltos taðkinës þaizdelës) galima buvo átarti perduotà virusinæ infekcijà. Minëtos rûðies sveikø augalø-indikatoriø atgalinë inokuliacija pirmojo ekstraktø patvirtino virusinæ infekcijos prigimtå. Taèiau paþeidimø simptomai nebubo iðraiðkingi gal dël þemos viruso koncentracijos augaluose ar dël aukðtos aplinkos temperatûros. Ið augalø ekstraktø ágramzdini-mo metodu paruoðtuose EM preparatuose buvo aptikti keli siûliniai virionai (3 pav.), kurie yra bûdingi TuMV [1, 14, 15].

Ankstyvøjø baltagûbiø kopûstø lapø ekstraktuose EM metodu nustatyta keliø virusø infekcija. Tarp jø buvo aptiktos lazdelës formos dviejø ilgiø virusinës dalelës (trumpios - 46–114 nm ir ilgosios - 180–197 nm, o plotis 22 nm) (4 pav.). Tokie virionai yra bûdingi tabako garbanotosios dryþligës virusui (*Tobacco rattle tobavirüs*, TRV) [1, 5], kuris pasiþymi plaðiu paþeidþiamø augalø spektru ir natûraliai paþeidþia per 400 augalø rûðiø. Lazdeliniai virionai buvo aptikti kompleksinëje infekcijoje su dviejø dydþiø izometrinëmis ir siûlinëmis dalelëmis. Parinktø diagnostiniø augalø inokuliacimo rezultatai (uþsikrëtë *P. vulgaris* - nekrotinës vietinës þaizdos ir *N. tabacum* 'Samsun' - sisteminis lapø banguotumas) ir labai specifinë virionø forma leido identifikuoti TRV mûsø aptiktuose kopûstuose. Apie TRV, paþeidþiantá kopûstines darþoves, literatûros duomenø neturime. Die duomenys apie TRV (miðrioje infekcijoje) aptikimà kopûstuose yra pirmieji, nors TRV aptiktas ir identifikuotas Lietuvoje keliuose dekoratyviniuose augaluose [10]. Literatûroje TRV natûraliais augalais-ðei-mininkais pateikiami *B. vulgaris*, *Spinacia oleracea* L. ir *N. tabacum* [1]. TRV pernešamas dirvoje nematodais, mechanine sulèiø inokuliacija, su kai kuriø pikþoliø sëklomis (su *Viola arvensis* Murr. - iki

40%). TRV yra paplitæs Europos, Azijos ir Amerikos þemynuose, Japonijoje ir Kinijoje [1].

Tyrimai parodë, kad, kaip ir daugelyje kitø augalø, kopûstiniëse darþovëse virusai buvo aptinkami miðriose infekcijose. Be anksëiau apraðytø identifikuotø CaMV, TuMV ir TRV elektronomikrogramose matyti didelë neþinomo izometrinio viruso koncentracija (2 pav.). Bandymai iðskirti ðá virusà ið kompleksinës infekcijos ir perduoti já diagnostiniams augalams buvo be rezultato. Ið izometrinius virionus turinèiø kopûstus paþeidþianèiø virusø yra turnepsø garbanës virusas (*Turnip crinkle carmovirus*), RaMV ir kt. [2, 6]. Lyginant aptikto virionø formà, dydà ir struktûrą, tikëtasi, kad kopûstuose bus aptiktas RaMV, taèiau pritaikius molekuliniës biologijos atvirkötinës transkriptazës-polimerazës grandininës reakcijos metodà, paremtà bûdingø viruso genomo fragmentø struktûra, iðaiðkëjo, kad kopûstuose parazituoja tabako nekrozës virusas (*Tobacco necrosis necrovirus*, TNV). Lietuvoje TNV buvo nustatytas dekoratyviniuose [9] ir kituose sodo augaluose [13].

IDVADOS

1. Atliktais stebëjimais ir tyrimais nustatyta, kad *Brassica* L. darþoves paþeidþia virusai, kurie neretai buvo aptinkami kompleksinëje infekcijoje. Daþniausiai kopûstø virusiniø paþeidimø simptomai buvo lapø gyslo iðryðkëjimas, tarpgylsliø audiniø chlorotinis margumas ir ávairios lapalakðeio deformacijos.

2. Ið Lietuvoje auginamø kopûstiniø daržoviø yra izoliuoti skirtingos virionø morfologijos ir sukelia-mos simptomatikos virusai: piediniø kopûstø mozai-kos (*Cauliflower mosaic caulimovirus*), turnepsø mozaikos (*Turnip mosaic potyvirus*) ir tabako garbanotosios dryþligës (*Tobacco rattle tobavirüs*). Labiau paplitæs buvo *Cauliflower mosaic caulimovirus*.

3. Baltagûbiuose kopûstuose buvo aptiktas izometrinis virusas, kuris preliminariai buvo identifikuotas kaip tabako nekrozës virusas (*Tobacco necrosis necrovirus*).

Padëka. Dëkojame Lietuvos valstybiniam mokslo ir studijø fondui, parëmusiam ðio darbo vykdymà (sutartis T-54, 2003 m.).

Gauta 2004 05 26

Literatûra

1. Brunt A. A., Crabtree K., Dallwitz M. J. et al. Viruses of plants. Descriptions and Lists from VIDE database. Cambridge, 1996. 1484 p.
2. Campbell R. W. Radish mosaic virus // C. M. I./A. A. B. Descriptions of Plant viruses. 1973. N 121. P. 1–4.
3. Dijkstra J., de Jager C. P. Practical plant virology. Protocols and exercises. Springer, 1998. 459 p.
4. Gnutova R.V., Tolkach V. F., Bogunov J. V. Criteria for identification of Cauliflower mosaic virus's of the

- Far Eastern strains // Plant Protection Science. 2002. Vol. 38. P. 258–260.
5. Harrison B. D. Tobacco rattle virus // C. M. I./A. A. B. Descriptions of Plant viruses. 1970. N 12. P. 1–3.
 6. Hollings M., Stone O. M. Turnip crinkle virus // C. M. I./A. A. B. Descriptions of Plant viruses. 1972. N 109. P. 1–4.
 7. Kramer R., Marthe F., Ryschka U. et al. Resistance to Turnip Mosaic Virus in cabbage // Plant Protection Science. 2002. Vol. 38. Special issue 1. P. 246.
 8. Moreno A., de Blas C., Palacios I. et al. Identification and distribution of viruses infecting lettuce and cole crops in Spain // Plant Virus Epidemiology: First steps into the new millennium. Aschersleben, Germany, 2002. P. 102.
 9. Navalinskienė M. Gėlių virusai (identifikavimas, biologija ir ligų profilaktika). Vilnius, 1994. 83 p.
 10. Samuitienė M., Navalinskienė M. Natural occurrence of Tobacco rattle tobaviruses on ornamental plants in Lithuania // Biologija. 2000. N 2. P. 293–295.
 11. Shepherd R. J. Cauliflower mosaic virus // C. M. I./A. A. B. Descriptions of Plant viruses. 1970. N 24. P. 1–4.
 12. Spaar D., Kleinhempel H. Bekämpfung von Viruskrankheiten der Kulturpflanzen. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag. 1985. 480 p.
 13. Staniulis J. Detection of tobacco necrosis virus in horticultural plants // Sodininkystė ir daržininkystė. Mokslo darbai. 2003. 22(3). P. 72–82.
 14. Šutic D. D., Ford R. E., Tošić M. T. Handbook of plant virus diseases. CRC Press Washington, 1999. 554 p.
 15. Tomlinson J. A. Turnip mosaic virus // C. M. I./A. A. B. Descriptions of Plant viruses. 1970. N 8. P. 1–4.
 16. Thurston M. I., Pallett D. W., Cortina-Borja M., Edwards M-L., Raybould A. F., Cooper J. I. The incidence of viruses in wild *Brassica nigra* in Dorset (UK) // Annuals Apply Biology. 2001. Vol. 139. P. 277–284.

Irena Zitikaitė, Milda Vasinauskienė, Elena Survilienė,
Alma Didlauskienė

VIROLOGICAL EVALUATION OF *BRASSICA L.* VEGETABLES

Summary

This study presents the first information about the incidence of virus diseases in cabbage vegetables which are the most important crops in Lithuania. A survey and investigations

of cabbage species with virus-disease-like symptoms were carried out and samples of injured plants were collected from different agroclimatic regions of Lithuania. The most pronounced symptoms on naturally infected cabbage plants were vein clearing, interveinal chlorotic mottling and various deformations of leaves. Identification of the agents was based on test plant symptoms, experimental host range and morphology of virus particles. Three viruses, *Cauliflower mosaic caulimovirus*, *Turnip mosaic potyvirus* and *Tobacco rattle tobaviruses*, have been detected in *Brassica L.* crops in Lithuania. The isometric virus isolated from white cabbage was identified as *Tobacco necrosis necrovirus* on the basis of virion morphology and detection by RT-PCR.

Key words: cabbage, viral diseases, virus, identification

Ирина Зитикайте, Милда Васинаускене, Елена Сурвилене, Алма Шидлаускене

ОЦЕНКА ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР РОДА *BRASSICA L.*

Резюме

Приведены данные по изучению вирусных болезней и их возбудителей, поражающих овощные культуры рода *Brassica L.* в разных агроклиматических зонах Литвы. Типичными признаками вирусных заболеваний, установленных на капустных растениях, являются утолщение жилок листьев, хлоротичная крапчатость межжилковой ткани, деформации листовых пластинок, а также уродливость растений. В статье также изложены экспериментальные материалы по идентификации вирусов, поражающих разные виды и сорта капусты. По экспериментально установленному кругу поражаемых растений и симптомам, выраженным на них, а также по морфологии вирионов отдельных возбудителей вирусных поражений из капустных растений выделены и идентифицированы вирус мозаики цветной капусты, ВМЦК (*Cauliflower mosaic caulimovirus*), вирус мозаики турнепса (*Turnip mosaic potyvirus*) и вирус погремковости табака (*Tobacco rattle tobaviruses*). Наиболее распространенным является ВМЦК. Изометрический вирус, изолированный из белокочанной капусты и подтвержденный методом полимеразной цепной реакции, был идентифицирован как вирус некроза табака (*Tobacco necrosis necrovirus*).

Ключевые слова: капуста, вирусные болезни, вирусы, идентификация