
Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine
Академија наука и умјетности Босне и Херцеговине
Academy of Sciences and Arts of Bosnia and Herzegovina
Drugi međunarodni kolokvijum
„BIODIVERZITET – TEORIJSKI I PRAKTIČNI ASPEKTI“
Second International Colloquium
„BIODIVERSITY – THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS“
3. 12. 2010, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina
Posebna izdanja/Special Editions CXLVIII
Odjeljenje prirodnih i matematičkih nauka
Department of Natural Sciences and Mathematics
Zbornik radova/Proceedings 22, 111-119.

ISBN: 978-9958-501-80-7

2012

DOI: 10.5644/proc.bd-01.05

BIODIVERZITET BILJNIH VIRUSA URBANOG ZELENILA SARAJEVA

BIODIVERSITY OF PLANT VIRUSES IN SARAJEVO URBAN GREENNESS

Anesa JERKOVIĆ-MUJKIĆ¹, Osman DELIĆ², Renata BEŠTA¹

¹Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu

²KJU Spomenici prirode, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

e-mail: amujkic@hotmail.com

SAŽETAK

Za uspješnu borbu protiv fitopatogenih virusa neophodno je poznavanje ekologije i epidemiologije virusa i njihovih vektora, kao i reakcije pojedinih vrsta i sorti drvenastih biljaka prema određenim virusima.

Cilj rada je karakterizacija biljnih virusa i procjena učestalosti određenih oblika virusnih infekcija kod pripadnika dendroflоре grada Sarajeva radi dobivanja uvida u njihov biodiverzitet, distribuciju i ekologiju.

Identifikacija biljnih virusa izolovanih iz listova zaraženih drvenastih biljaka je izvedena na osnovu rezultata bioloških testiranja i serološki primjenom ELISA-testiranja.

Prirodna virusna zaraza je utvrđena na deset vrsta drvenastih biljaka: *Acer platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L., *A. negundo* L., *Sambucus nigra* L., *Syringa vulgaris* L., *Prunus domestica* L., *P. avium* L., *Ligustrum vulgare* L., *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle i *Buddleja davidii* Franch. Iz virusno zaraženog drveća i grmlja izolirano je ukupno šest virusa: virus mozaika lucerke virus (rod *Alfamovirus*), virus mozaika krastavca (rod *Cucumovirus*) pripadnici porodice

Bromoviridae, virus nekroze duhana (rod *Necrovirus* iz porodice *Tombusviridae*), virus uvijenosti lista trešnje (rod *Nepovirus* iz porodice *Comoviridae*), virus hlorotične pjegavosti lista jorgovana (rod *Capillovirus* iz porodice *Flexiviridae*), te virus šuštavosti duhana iz roda *Tobravirus* koji za sada nije svrstan ni u jednu porodicu. Najveći broj drvenastih biljaka u gradskom zelenilu Sarajeva bio je zaražen virusom šuštavosti duhana, koji spada u vodeću grupu virusa po izvanredno velikom broju biljnih domaćina.

Provedeno istraživanje potvrdilo je činjenicu da detektovani biljni virusi narušavaju estetski izgled stabala, fiziološki ih oslabljuju, a jača oštećenja zajedno sa ostalim nepovoljnim faktorima urbane sredine mogu dovesti i do njihovog ugibanja.

Ključne riječi: *biljni virusi, drvenaste biljke, biotestovi, ELISA-testovi*

ABSTRACT

The knowledge of ecology and epidemiology of viruses and their vectors, as well as reactions of particular species and varieties of woody plants to specified viruses is required for a successful struggle against phytopathogenic viruses.

The aim of this study is categorization of plant viruses and estimation of frequency of certain forms of viral infections among members of dendroflora of Sarajevo City in order to obtain an insight in their biodiversity, distribution and ecology.

Identification of plant viruses isolated from the leaves of infected woody plants was carried out on the basis of results of bioassays and serologically by ELISA-tests.

Natural viral infection was detected in ten species of woody plants: *Acer platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L., *A. negundo* L., *Sambucus nigra* L., *Syringa vulgaris* L., *Prunus domestica* L., *P. avium* L., *Ligustrum vulgare* L., *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle and *Buddleia davidii* Franch. From virus infected trees and shrubs, in total, six viruses were isolated: *Alfalfa mosaic virus* (genus *Alfamovirus*) and *Cucumber mosaic virus* (genus *Cucumovirus*) from the family *Bromoviridae*, *Tobacco necrosis virus* (genus *Necrovirus*, family *Tombusviridae*), *Cherry leaf roll virus* (genus *Nepovirus*, family *Comoviridae*), *Lilac chlorotic leafspot virus* (genus *Capillovirus*, family *Flexiviridae*) and *Tobacco rattle virus* from the genus *Tobravirus* which has not yet classified in any family. The greatest number of woody plants of Sarajevo urban greenness was infected with *Tobacco rattle virus* (TRV) which belongs to the leading group of viruses with greater number of plant hosts.

The conducted research has confirmed the fact that the detected plant viruses

decrease the decorative value of trees, weakens them physiologically, while stronger damages along with other unfavorable factors of urban environment lead to their decline.

Key words: *plant viruses, woody plants, bioassays, ELISA-tests*

UVOD

Biljni virusi su jedan od značajnih štetnih biotičkih faktora koji narušavaju zdravstveni status, vitalnost i estetski izgled stabala. Virusi su acelularni oblici, tj. infektivni agensi koji nemaju ćelijsku građu. Nalaze se na najnižem stupnju organizacije živih sistema i metabolički su inertni van žive ćelije. U živoj ćeliji, koristeći njene enzime i strukture, sposobni su za reprodukciju, pa se definiraju kao obligatni intracelularni paraziti. Osim na višim biljkama virusi su do sada nađeni i na algama, gljivama i papratnjačama (Hull 1968; Hollings 1978; Müller and Stache 1992). Do sada je opisano 2000 vrsta biljnih virusa, koji su svrstani u 13 porodica (Ackermann *et al.* 2001). Mnogi rodovi biljnih virusa još uvijek nisu klasificirani u porodice. Virusi nađeni u drvenastim biljkama pripadaju različitim virusnim grupama. Tako su nađeni virusi iz grupa tobamovirusi, tombusvirusi i poteksvirusi koji se u prirodi šire mehaničkim putem (Juretić *et al.* 1996). Osim njih, u drvenastim biljkama nađeni su i virusi koji se prenose vektorima (Cooper 1993) poput potivirusa (prenose se lisnim ušima), zatim nekrovirusa (prenose se gljivicama koje žive u zemljištu), nepovirusa i tobravirusa (prenose se nematodama). Od kraja pedesetih godina prošlog stoljeća do danas veliki broj biljnih virusa je izoliran i identificiran na području Bosne i Hercegovine. U periodu rata (1992.-1995. godine) došlo je do intenzivne sječe urbanog zelenila, a naročito predstavnika dendroflora za potrebe preživljavanja blokiranog stanovništva Sarajeva. Na taj način uništeno je nekoliko desetina hiljada stabala kako u urbanom, tako i u suburbanom području. To je nametnulo potrebu urgentne restauracije i revitalizacije urbanog zelenila. U postratnom periodu u tom složenom procesu primijenjeni su različiti obrasci. Međutim, najbolje rezultate dao je pristup koncepcije na ekološkim osnovama, odnosno proces ekološke restauracije (Redžić 1997; Redžić and Velić 1998). Budući da su neposredno iza rata uveliko obnavljani zasadi ukrasnih biljaka za parkove i zelene gradske površine doniranim

sadnim materijalom koji nije prošao adekvatnu zdravstvenu kontrolu, posljednjih godina naša pažnja je usmjerena na istraživanje viroza drvenastih biljaka koje rastu na području grada Sarajeva. Pored već poznatih virusnih zaraza, za očekivati je invaziju i nekih novih do sada neizoliranih virusa na našem području.

Cilj ovog rada je karakterizacija biljnih virusa i procjena učestalosti određenih oblika virusnih infekcija kod pripadnika dendroflora grada Sarajeva radi dobivanja uvida u njihov biodiverzitet, distribuciju i ekologiju.

MATERIJAL I METODE

Primjerci drvenastih biljaka sa jasno izraženim simptomima virusne infekcije na listovima nađeni su na više lokaliteta u urbanom zelenilu Sarajeva. Izolacija virusa iz mladih, tek razvijenih listova prirodno zaraženih biljaka vršena je mehaničkom inokulacijom na zeljaste test-biljke: *Capsicum annum* L. var. Šoroksari, *Lycopersicon esculentum* Mill. var. Marmande, *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun, *Nicotiana tabacum* L. var. White Burley i *Datura stramonium* L. iz porodice Solanaceae, *Cucumis sativus* L. var. Kornišon i *Cucurbita pepo* L. iz porodice Cucurbitaceae, *Chenopodium quinoa* Willd, *Chenopodium murale* L. *Chenopodium album* L. i *Spinacia oleracea* L. – var. Matador iz porodice Chenopodiaceae, te *Phaseolus vulgaris* L. var. – Top Crop iz porodice Fabaceae. Inficirane biljke kao i zdrave, kontrolne test-biljke gajene su u kontroliranim uvjetima osvjetljenja (18 sati vještačkog osvjetljenja dnevno) i temperature (23°C koju održava klima-uređaj). Pojava i razvoj simptoma na test-biljkama svakodnevno su posmatrani.

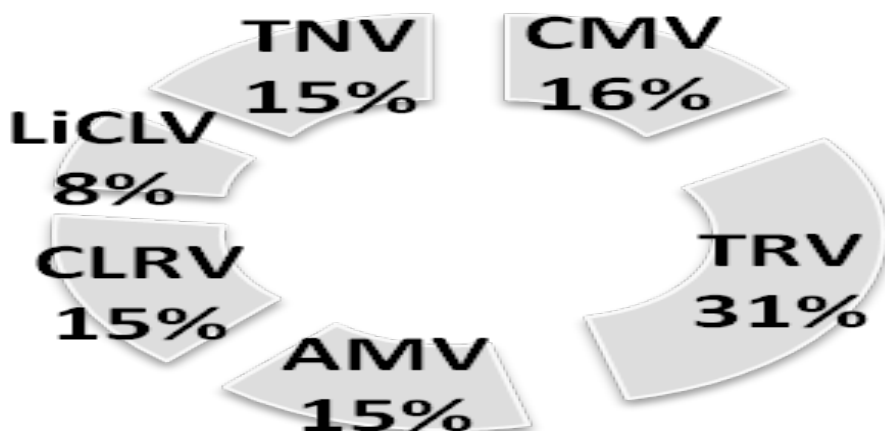
Za izradu ELISA-testa korišteni su reagensi i mikroploče iz kompleta firme BIOREBA AG (Reinach, Switzerland) i DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH. Kao izvor antigena služio je biljni sok iscijeđen presom iz listova inficiranih biljaka iscijeđen presom (Juise presses 400 VAC). Serološki pokusi su izvođeni po DAS-ELISA metodi Clarka i Adamsa (1977) neznatno modificiranoj od strane proizvođača reagenasa.

REZULTATI

Biološkim i imunoenzimskim (ELISA) testiranjima virusna infekcija je dokazana na deset vrsta drvenastih biljaka iz sedam rodova: *Acer*, *Sambucus*, *Syringa*, *Prunus*, *Ligustrum*, *Ailanthus* i *Buddleja* (tabela 1). Iz virusno zaraženog drveća i grmlja izolirano je ukupno šest virusa: virus mozaika lucerke virus – AMV (rod *Alfamovirus*), virus mozaika krastavca – CMV (rod *Cucumovirus*) pripadnici porodice *Bromoviridae*, virus nekroze duhana – TNV (rod *Necrovirus* iz porodice *Tombusviridae*), virus uvijenosti lista trešnje – CLRV (rod *Nepovirus* iz porodice *Comoviridae*), virus hlorotične pjegavosti lista jorgovana LiCLV (rod *Capillovirus* iz porodice *Flexiviridae*), te virus šuštavosti duhana – TRV iz roda *Tobravirus* koji za sada nije svrstan ni u jednu porodicu (Fauquet *et al.* 2005). Najveći broj virusnih izolata pripadao je virusu šuštavosti duhana – TRV (grafikon 1). Na većini drvenastih biljaka nađena je čista virusna infekcija, a samo na primjercima crne zove (*Sambucus nigra* L.) miješana virusna infekcija s dva virusa: TRV i CLRV. Inače, listovi oboljelih zova pokazivali su jače simptome infekcije u odnosu na simptome koje smo zapazili na listovima drugih bolesnih drvenastih biljaka.

Tabela 1. Virusi detektovani na drvenastim biljkama zelenih površina Sarajeva
Table 1. Viruses detected on woody plants of green areas of Sarajevo

Rod biljke	Vrsta biljke	Izolirani virus (kratica)
<i>Acer</i>	<i>Acer platanooides</i> L.	AMV
	<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	TRV
	<i>Acer negundo</i> L.	TRV
<i>Ailanthus</i>	<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	TNV
<i>Buddleja</i>	<i>Buddleja davidii</i> Franch.	CMV
<i>Ligustrum</i>	<i>Ligustrum vulgare</i> L.	CMV
		TRV
<i>Prunus</i>	<i>Prunus domestica</i> L.	CLRV
	<i>Prunus avium</i> L.	TNV
<i>Sambucus</i>	<i>Sambucus nigra</i> L.	TRV+CLRV
<i>Syringa</i>	<i>Syringa vulgaris</i> L.	AMV
		LiCLV



Grafikon 1. Procentualna zastupljenost virusa nađenih u urbanom zelenilu Sarajeva
Graph 1. Percentage of viruses found in the urban greenery of Sarajevo

DISKUSIJA

Viroze drveća zbog metodičkih teškoća znatno su slabije istražene od viroza zeljastih biljaka. Većinom je teško mehanički prenijeti virus iz drvenaste biljke na zeljaste test-biljke. Razlog tome su određeni inhibitori (fenolna jedinjenja) koji oksidacijom mogu inaktivirati virus i onemogućiti njegovo prenošenje (Pleše and Juretić 1999). U svjetskim razmjerama (Nienhaus and Castello 1989; Cooper 1993), pa tako i na području Bosne i Hercegovine pronađen je mali broj viroza na ukrasnom i šumskom drveću. Miličić (1982) navodi da su na području bivše Jugoslavije virusi nađeni na 20 različitih rodova drvenastih biljaka, pri čemu je najčešći virus koji napada drveće virus mozaika krastavca. Osobito je malo podataka o virozama biljaka koje rastu u specifičnim uslovima urbane sredine. Stoga smo odlučili da istraživanjem viroza drveća i grmlja na zelenim površinama grada Sarajeva doprinesemo poznavanju tih bolesti u našoj zemlji. U provedenoj studiji zapaženi su značajni problemi sa zdravstvenim stanjem drvenastih biljaka u urbanim ekosistemima Sarajeva, uzrokovani poznatim i do sada manje poznatim etiološkim agensima.

U ovom radu je na pripadnicima sedam rodova drvenastih biljaka u urbanom zelenilu Sarajeva nađeno šest virusa: AMV, CMV, TRV, CLRV, LiCLV i TNV. Na oboljelim primjercima *Acer platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L., *A. negundo* L., *Syringa vulgaris* L., *Prunus domestica* L., *P. avium* L., *Ligustrum vulgare* L., *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle and *Buddleja*

davidii Franch. utvrđena je čista virusna infekcija, dok je na oboljelim grmovima *Sambucus nigra* L. nađena miješana virusna infekcija s dva virusa (CLRV i TRV). Simultani napad dvaju ili više virusa može djelovati sinergistički ili antagonistički (Murphy and Bowen 2006) i shodno tome može uticati na koncentraciju jednog ili više virusa, kao i na ekspresiju virusnih simptoma na biljkama (Moni *et al.* 2007). Antagonizam se javlja kada su virusi koji uzrokuju infekciju srodni, što rezultira njihovim međudjelovanjem (Kareem and Taiwo 2007). Sinergizam nastaje kada virusi u miješanoj infekciji nisu srodni i simptomi koji se u tom slučaju razvijaju na biljkama su jače izraženi nego što je slučaj kod odvojenih infekcija (Walkey and Payne 1990; Jensen *et al.* 1996; Cho *et al.* 2000). Ekspresija simptoma na listovima zaraženih biljaka crne zove bila je mnogo jača u odnosu na simptome ispoljene na listovima drugih zaraženih pripadnika dendroflora. Budući da CLRV i TRV nisu srodni virusi, možemo se složiti sa mišljenjem Usčuplića (1996) da simultani napad dvaju virusa djeluje sinergistički, tj. da na biljci nastaju jači simptomi nego što je slučaj kod odvojenih infekcija.

Najveći broj drvenastih biljaka koje rastu u Sarajevu bio je zaražen virusom šuštavosti duhana (TRV), koji spada u vodeću grupu virusa po izvanredno velikom broju biljnih domaćina. Prema podacima Robinsona (2003), TRV može eksperimentalno inficirati preko 400 vrsta biljaka iz 50 biljnih porodica. Višegodišnji domaćini virusa šuštavosti duhana predstavljaju dugotrajne izvore zaraza i prenose virus iz godine u godinu. Prirodni vektori virusa su nematode iz roda *Paratrichodorus* i *Trichodorus* koje slobodno žive u zemljištu (Taylor and Brown 1997). Virus šuštavosti duhana se prenosi i sjemenom nekih korovskih biljaka, a vektori virusa mogu biti i neke vrste viline kose (Šutić 1983). Osim toga, virus se prenosi sokom zaraženih biljaka i to može imati značaja za biljke koje se dodiruju prilikom obrade. Preventivne mjere za suzbijanje ovoga virusa su: brižljivo i blagovremeno uništavanje korova kao izvora zaraze, dezinfekcija zemljišta tamo gdje je to izvodljivo radi uništavanja nematoda i uvođenje biljaka otpornih na TRV u zasad.

ZAKLJUČAK

Iz bolesnih drvenastih biljaka koje rastu u urbanoj zoni Sarajeva izolirano je i identificirano ukupno šest vrsta biljnih virusa. Najveći broj virusnih izolata okarakteriziran je kao virus šuštavosti duhana. Kod većine inficiranih drvenastih biljnih vrsta bila je utvrđena čista virusna infekcija, a samo kod bolesnih primjeraka *Sambucus nigra* L. miješana virusna infekcija.

Literatura

- Ackermann H. W., Berthiaume L., Tremblay M. 2001. Viral pathogenesis in diagrams. CRC Press LLC, Boca Raton, USA.
- Clark M. F., Adams A. N. 1977. Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virology* 34: 475-483.
- Cho J. D., Kim J. S., Choi H. S., La Y. L., Kim K. S. 2000. Ultrastructural aspects of the mixed infections of watermelon mosaic potyvirus isolated from pumpkin and cucumber green mottle mosaic tobamovirus from watermelon. *Plant Pathol J.* 16: 216-221.
- Cooper J. I. 1993. *Virus Diseases of Trees and Shrubs*. Chapman & Hall, London.
- Fauquet M., Mayom A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L. A. 2005. *Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses, Eighth Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press, San Diego, California.
- Jensen S. G., Lane L. C., Seifers D. L. 1996. A new disease of maize and wheat in the high plains. *Plant Diseases* 80: 1387-1390.
- Juretić N., Mamula Đ., Pleše N. 1996. Biljni virusi u tlu i vodi nekih šumskih ekosustava Hrvatske s pregledom virusa nađenih u šumskom i ukrasnom drveću. *Šumarski list* 11-12. CXX: 477-4X5
- Kareem K. T., Taiwo M. A. 2007. Interactions of viruses in Cowpea: effects on growth and yield parameters. *Virology Journal* 4: 15.
- Murphy J. F., Bowen K. L. 2006. Synergistic disease in pepper caused by the mixed infection of *Cucumber mosaic virus* and *Pepper mottle virus*. *Phytopathology* 96: 240-247.
- Miličić D. 1982. Some virus diseases of trees and shrubs and *Solanum melongena* in Yugoslavia. *Acta Bot. Croat.* 36: 29-37.
- Moni A. T., Kehinde T. K., Imade Y. N., Hughes J. D. A. 2007. Cowpea viruses: Effect of single and mixed infections on symptomatology and virus concentration. *Virology Journal* 4: 95.
- Nienhaus F., Castello J. D. 1989. Viruses in forest trees caused by viruses, mycoplasma-like organisms and primitive bacteria. *Experientia* 41: 597-603.

- Pleše N., Juretić N. 1999. Virusna bolest poljskog brijesta (*Ulmus minor* Mill.) u Hrvatskoj. Šumarski list 3-4: 95-100.
- Redžić S. 1997. The concept of revitalisation of urban ecosystems of Bosnia and Herzegovina in poster-war period. International Conference „Ecological Restoration and Regional Conservation Strategies“, SER, Miami, USA.
- Redžić S., Velić S. 1998. The approach to concept of restoration of urban ecosystems of Bosnia and Herzegovina in the poster-war period. VII International Congress of Ecology, INTECOL, New tasks for ecologists after Rio 1992. Florence, 19-25. July 1998, Italy.
- Robinson D. J. 2003. Tobacco rattle virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses 346.
- Šutić D. 1983. Viroze biljaka. Nolit, Beograd.
- Taylor C. A., Brown D. J. F. 1997. Nematode Vectors of Plant Viruses, CAB International, Wallingford.
- Uščuplić M. 1996. Patologija šumskog i ukrasnog drveća. Šumarski fakultet, Sarajevo.
- Walkey D. G. A., Payne C. J. 1990. The reaction of two lettuce cultivars to mixed infection by beet western yellows virus. Plant Pathol 39: 156-160.

Rukopis primljen/Manuscript received: 30. 12. 2011.

Rukopis prihvaćen/Manuscript accepted: 5. 7. 2012.

