

ISSN 1512 - 5769

**RADOVI**  
**Šumarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu**

**WORKS**  
*of the Faculty of Forestry of the University of Sarajevo*

**Volume 40, broj 1**

**Sarajevo, 2010. godina**

**NALAZ MIJEŠANE VIRUSNE INFEKCIJE NA CRNOJ ZOVI  
(*SAMBUCUS NIGRA* L.)**

**Detection of mixed virus infection in elderberry (*Sambucus nigra* L.)**

*Anesa Jerković-Mujkić<sup>1</sup>, Osman Delić<sup>2</sup>, Renata Bešta<sup>1</sup>*

**Abstract**

On many elderberry shrubs growing in Sarajevo area obvious symptoms of viral disease were observed. Leaves of diseased elderberries mainly expressed symptoms of so called green net with green colour of main veins and chlorotic yellowish intercalary areas, while only one shrub had symptoms of yellow veins surrounded with green areas on the leaves. In the latter infection necrotic rings and spots (1-2 mm in diameter) were visible on the leaf lamina.

From the leaves on naturally infected elderberry plants two viruses were simultaneously isolated: *Cherry leaf roll virus* (CLR) and *Tobacco rattle virus* (TRV). The identification of the viruses is based on reactions of test plants and serologically using ELISA test. Simultaneously attack of two viruses worked synergistic and caused more intensive symptoms on *Sambucus nigra* L plants than in single infection with CLR or TRV.

**Key words:** *Sambucus nigra* L., mixed infection, *Cherry leaf roll virus*, *Tobacco rattle virus*

**Izvod**

Na brojnim grmovima crne zove (*Sambucus nigra* L.), koji rastu na području Sarajeva, uočeni su simptomi virusne infekcije. Listovi bolesnih zova pokazivali su uglavnom simptom zelene mreže sa tamnozelenim nervima i svjetlijim interkostalnim područjima, dok je samo jedan grm na listovima imao žute nerve okružene tamnozelenim područjima. U kasnijoj infekciji na lisnoj plojci mogli su se zapaziti nekrotični prstenovi ili nekroze u vidu tačkica promjera 1 – 2 mm.

Iz listova prirodno zaraženih biljaka crne zove istovremeno su izolirana dva virusa: virus uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus* - CLR) i virus šuštavosti

---

<sup>1</sup> Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu

<sup>2</sup> Katonalna javna ustanova Spomenici prirode Sarajevo

duhana (*Tobacco rattle virus* – TRV). Virusi su identificirani na osnovu reakcije diferencijalnih test biljaka i serološki primjenom ELISA-testa. Simultani napad dvaju virusa je djelovao sinergistički i na biljkama *Sambucus nigra* L uzrokovao jače simptome nego u pojedinačnoj infekciji CLRV-om ili TRV-om.

**Ključne riječi:** *Sambucus nigra* L., miješana infekcija, virus uvijenosti lista trešnje, virus šuštavosti duhana.

### **UVOD - Introduction**

Poznato je da su crna zova i ostale vrste roda *Sambucus* domaćini raznih virusa koji uglavnom pripadaju grupi nepovirusa (CADMAN, 1960). Tako su POLAK i sar. (1990), HORVATH (1980), SCHIMANSKI i sar. (1976), NOVAK i LANZOVA (1980), LISTER (1964) i VAN LENT i sar. (1980) na primjercima *Sambucus nigra* L. zabilježili prisustvo virusa mozaika gušarke (*Arabis mosaic virus* - ArMV), virus uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus* - CLRV), virusa prstenaste pjegavosti paradajza (*Tomato black ring virus* - TBRV) i virusa latentne prstenaste pjegavosti jagode (*Strawberry latent ringspot virus* - SLRSV), koji pripadaju skupini nepovirusa, te virusa mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus* - CMV) iz skupine cucumovirusa, A-virusa zove (*Elderberry virus A*) iz skupine karlavirusa i virusa grmolike kržljivosti paradajza (*Tomato bushy stunt virus* - TBSV) iz skupine tombusvirusa.

U radu iznosimo podatke o nalazu miješane infekcije crne zove virusom uvijenosti lista trešnje (CLRV) i virusom šuštavosti duhana (TRV).

### **MATERIJAL I METODE – Material and methods**

Listovi crne zove sa izraženim simptomima virusne infekcije sabrani su na zelenim površina, a iz mladih, tek razvijenih vršnih listova, izolirali smo virus mehaničkim prenošenjem na niz uobičajenih test-biljaka uz pomoć 0,06 M fosfatnog pufera pH 7,6. Osim mehaničkog, vršeno je i prenošenje virusa lisnim ušima *Myzus persicae* (Sulzer). Inficirane biljke kao i zdrave, kontrolne test-biljke, stavljene su u odvojene boksove i gajene u strogo kontroliranim uvjetima osvjetljenja (18 sati vještačkog osvjetljenja dnevno) i konstantne temperature (23°C koju održava klimaurađaj). Test-biljke su svakodnevno posmatrane i bilježen je njihov razvoj, kao i ekspresija simptoma. Simptomi na prirodno inficiranim drvenastim biljkama, kao i reakcije diferencijalnih test-biljaka na virusnu infekciju, snimani su fotoaparatom CANON DIGITAL IXUS 75 i skenirani HP Psc 1310 skenerom.

Kao izvor virusa za serološka istraživanja upotrijebljen je biljni sok iscijeđen presom iz listova sa izraženim simptomima infekcije. 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.

ELISA – test izvođen je po metodi CLARKA i ADAMSA (1977) u laboratoriji za testiranje biljnih virusa Federalnog zavoda za poljoprivredu Sarajevo.

## REZULTATI ISTRAŽIVANJA - Results

Na većem broju primjeraka crne zove (*Sambucus nigra* L.) koji rastu na području općine Novo Sarajevo, uočeni su simptomi hlorotičnosti listova. Šarenilo listova je tokom vegetacijske sezone postajalo izraženije, pri čemu je žućenje zahvatilo listove između nerava koji su ostajali tamnozeleno obojeni u odnosu na lisnu plojku (sl. 1). Simptomi su se najprije mogli zapaziti neposredno u blizini glavnog nerva, a postupno su se širili ka ivici plojke. U kasnijoj infekciji bio je prisutan tzv. simptom zelene mreže. Infekcija je sistemična. Treba istaći da je jedan primjerak zaražene zove umjesto zelene mreže ispoljavao na listovima izrazit simptom žute mreže sa žuto obojenim lisnim nervima okruženim tamnozelenim područjima (sl. 2). Na kraju vegetacijske sezone, na listovima su se mogli zapaziti nekrotični prstenovi ili nekroze u vidu tačkica promjera 1 – 2 mm u interkostalnom području. Nakon prvih sniježnih padavina u oktobru 2009. godine, obilaskom terena uočeno je da većina oboljelih grmova zove nije izdržala sniježni teret.

### Biološka testiranja i ELISA-test

*Nicotiana glutinosa* L. - na listovima test-biljaka četiri do pet dana nakon inokulacije mogle su se zapaziti hlorotične pjege, prstenovi i poluprstenovi (sl.3). Infekcija je sistemična.

*Nicotiana tabacum* L. var. White Burley – tri do četiri dana nakon infekcije na listovima su se uočavali sistemični simptomi hlorotičnog šarenila (sl. 4).

*Capsicum annuum* var. Šoroksari - sistemična infekcija se očituje hlorotičnim pjegama na lisnim plojkama.

*Phaseolus vulgaris* var. Top Crop – na inokuliranim listovima uočavaju se sitne hlorotične lezije, koje u kasnijoj infekciji zauzimaju veće površine. Infekcija je sistemična.

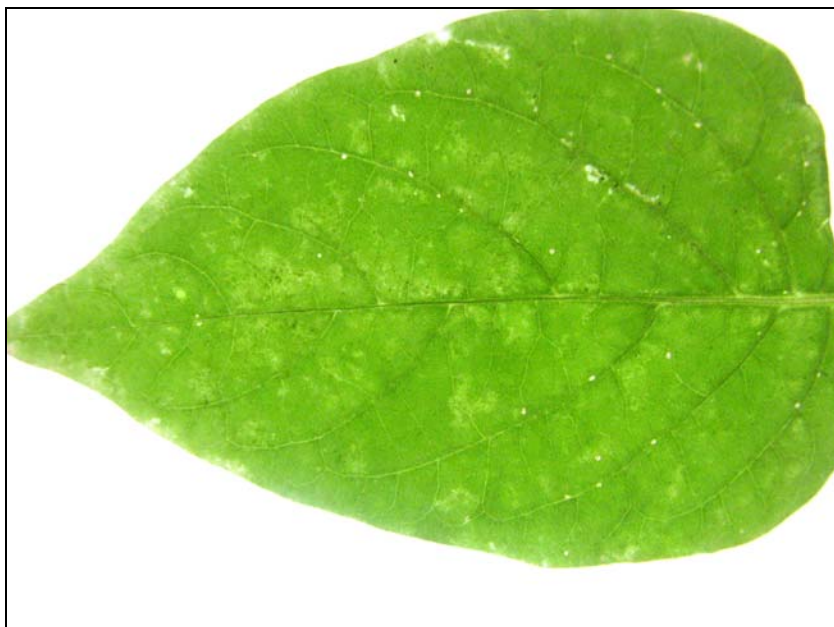
Provedenim ELISA-testiranjima utvrđena je istovremena zaraza grmova crne zove sa dva virusa: virusom uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus* - CLRV) i virusom šuštavosti duhana (*Tobacco rattle virus* – TRV).



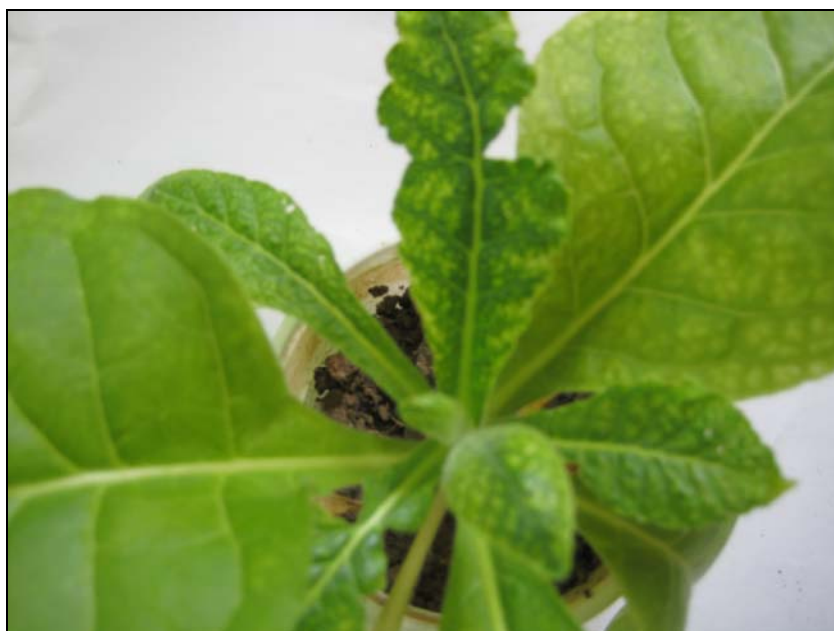
Slika 1. Sistemični simptomi zaraze na *Sambucus nigra* L.  
*Figure 1. Systemic symptoms on Sambucus nigra L.*



Slika 2. *Sambucus nigra* L. – simptom žute mreže na listu  
*Figure 2. Sambucus nigra L. - yellow net symptom on the leaf*



Slika 3. *Nicotiana glutinosa* L. – simptomi uzrokovani virusnim izolatom iz zove  
Figure 3. Symptoms caused by virus isolate from elderberry



Slika 4. Sistemski simptomi zaraze na *N. tabacum* L. var. White Burley  
Figure 4. Systemic symptoms on *N. tabacum* L. var. White Burley

## **DISKUSIJA - Discussion**

Poznavanje osjetljivosti različitih vrsta i sorti drvenastih biljaka na pojedine bolesti, štetnike i polutante, u specifičnim urbanim ekološkim uvjetima, od izuzetne je važnosti za njihov odabir kao parkovskih vrsta u hortikulturi. Propadanje urbanih nasada rezultat je djelovanja mnogobrojnih biotičkih i abiotičkih faktora kao što su insekti, bolesti, klimatske promjene, zagađenje zraka itd. Za razliku od viroza, ekonomski korisnih poljoprivrednih kultura, veoma je malo podataka o istraživanju virusnih infekcija na drvenastim biljkama. U svjetskim razmjerama, a i u Bosni i Hercegovini, pronađen je mali broj viroza na ukrasnom i šumskom drveću (NIENHAUS i CASTELLO, 1989; COOPER, 1993). Osobito je malo podataka o virozama drvenastih biljaka koje rastu u specifičnim uslovima urbane sredine.

U našim istraživanjima smo iz bolesnih zova izolirali dva virusa: virus uvijenosti lista trešnje (CLRV) i virus šuštavosti duhana (TRV). Radilo se o istovremenoj infekciji biljaka zove sa dva virusa. Listovi oboljelih zova pokazivali su jače simptome infekcije u odnosu na simptome zapažene na drugim bolesnim drvenastim biljkama. S tim u vezi 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. Slične simptome zaraze na listovima crne zove opisali su i MILIČIĆ i sar. (1987), pri čemu je utvrđena miješana infekcija CLRV-om i karlavirusom zove (ECV). Zaraženost biljaka zove CLRV-om je i ranije dokazana od strane drugih autora, dok pregledom dostupne literature nismo našli podatke o izolaciji TRV-a iz biljaka *Sambucus nigra* L. Crna zova kao domaćin virusa uvijenosti lista trešnje poznata je na osnovu istraživanja SCHMELZERA (1966). Na području bivše Jugoslavije CLRV je na zovi prvi put pronašla ŠTEFANAC (1969), dok je GRBELJA (1972) isti virus izolirala iz bolesnih zova koje rastu u urbanom području Sarajeva. Ponovni nalaz ovog virusa na istom biljnom domaćinu u našim istraživanjima pokazuje da zaražene biljke zove predstavljaju dugogodišnji izvor virusne zaraze, sa kojih se virusi putem vektora mogu širiti na druge biljke u urbanom zelenilu Sarajeva. CLRV pripada skupini nepovirusa, a TRV skupini tobravirusa. To su jedine dvije skupine biljnih virusa koje iz jednog stabla u drugi prenose nematode koje se hrane korijenjem (JONES, 1985; JURETIĆ, 2002; ROBINSON, 2003).

Specifičnost virusne infekcije je u tome da ne postoji mogućnost liječenja oboljelih biljaka hemijskim sredstvima (USČUPLIĆ, 1996; HULL, 2002), zbog čega one postaju trajno zaražene, što predstavlja poseban problem kod višegodišnjih drvenastih biljaka. Iz navedenih razloga su preventivne mjere za sada jedino uspješne u suzbijanju biljnih virusa. U borbi protiv ovih virusa osnovne preventivne mjere su: korištenje zdravog sadnog materijala, uvođenje biljaka otpornih na CLRV i TRV u zasad, blagovremeno uklanjanje zaraženih stabala i korovskih biljaka koje predstavljaju izvor zaraze iz kojih se virus može nematodama širiti na druge biljke, a ukoliko je moguće, trebalo bi izvršiti dezinfekciju zemljišta nakon otklanjanja zaražene biljke iz zasada.

## ZAKLJUČAK - Conclusion

Iz primjeraka crne zove (*Sambucus nigra* L.), koji rastu na području Sarajeva, sa izrazitim simptomima virusne bolesti, istovremeno smo izolirali dva virusa: virus uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus* - CLRV) i virus šuštavosti duhana (*Tobacco rattle virus* – TRV). Virusi su identificirani na osnovu rezultata bioloških testiranja i ELISA testiranja.

Bolesni grmovi crne zove predstavljaju dugotrajan izvor miješane virusne infekcije iz kojih se virusi pomoću vektora mogu širiti na druge, kako drvenaste tako i zeljaste biljke gradskog zelenila. Smatramo da, ukoliko se u najskorije vrijeme ne poduzmu adekvatne mjere zaštite, može doći do propadanja drvenastih zasada i nesagledivih posljedica po javno gradsko zelenilo Sarajeva, a i šire.

## LITERATURA - References

- CADMAN, C.H. (1960). Studies on the relationship between soil-borne viruses of the ringspot type occurring in Britain and Continental Europe. *Virology*, 11, 653-64.
- 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.
- COOPER, J.I. (1993). *Virus Diseases of Trees and Shrubs*. Chapman & Hall, London.
- GRBELJA, J. (1972). Rasprostranjenost virusa uvijenosti lista trešnje na crnoj i grozdastoj bazgi u Jugoslaviji. *Acta. Bot. Croat.* 31: 29-36.
- HORVATH, J. (1980). Viruses of lettuce II. Host ranges of lettuce mosaic virus and cucumber mosaic virus. *Acta Agronomica Academiae Scientiarum Hungaricae* 29: 333-352.
- HULL, R. (2002). *Matthews Plant Virology*, 4 th. Edition. Academic Press, London.
- JONES, A. T. (1985). Cherry leaf roll virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses 306.
- JURETIĆ, N. (2002). *Osnove biljne virologije*. Školska knjiga, Zagreb.
- LISTER, R. (1964). Strawberry latent ringspot: a new nematodeborne virus. *Ann. appl. Biol.* 59, 49-62.
- MILIČIĆ, D., PLAVŠIĆ, B., GRBELJA, J., ERIĆ, Ž. (1987). Cherry leafroll virus and elderberry carlavirus on *Sambucus nigra* L. in South-east Europe. *Acta Bot. Croatiae*, 46, 1-6.
- NIENHAUS, F., CASTELLO, J.D. (1989). Viruses in forest trees caused by viruses, mycoplasma-like organisms and primitive bacteria. *Experientia* 41, 597-603.
- NOVAK, J.B., LANZOVA, J. (1980). Natural infection of sugar beet with tomato bushy stunt virus. *Biologia Plantarum* 22: 473-474.
- POLAK, Z., PROCHAZKOVA, Z., BRANIOVA, H. (1990). Recent findings of viruses of forest trees on the territory of the Czech Republic. *Archiv PHYTOPATHOLOGIE PFLANZENSCHUTZ, (BERLIN)* 26: 389-393.



- ROBINSON, D. J. (2003). Tobacco rattle virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses 346.
- SCHIMANSKI, H.H., SCHMELZER, K., ALBRECHT, H.J. (1976). Probleme der Vrusbereinigung bei Zierholzen. Archiv Gartenbau 24: 285-300.
- SCHMELZER, K. (1966). Untersuchungen an Viren der Zier- und Wildgehölze 5. Mitteilung: Virose an Populus und Sambucus. Ohytopathol. Z. 55, 317-351.
- ŠTEFANAC, Z. (1969). Nalaz virusa uvijenosti lista trešnje (cherry leaf roll virus) u Jugoslaviji. Acta. bot. Croat. 28, 373-378.
- USČUPLIĆ, M. (1996). Patologija šumskog i ukrasnog drveća. Šumarski fakultet, Sarajevo.
- VAN LENT, J.W.M., WIT, A.J., DIJKSTRA, J. (1980). Characterization of a carlavirus in elderberry (*Sambucus* spp.) Neth. J.Pl. Path. 86, 79-98.

### Summary

From elderberry shrubs (*Sambucus nigra* L.) with marked symptoms of virus infection two viruses were simultaneously isolated: *Cherry leaf roll virus* (CLRV) and *Tobacco rattle virus* (TRV). The viruses were identified on the basis of results of biological assays and ELISA tests.

Diseased elderberry shrubs represent long-term reservoir of mixed virus infection from which viruses could be transmitted by vectors to other woody as well as herbaceous plants in green urban zones. We realized that if appropriate protection measures are not taken in the near future, it may lead to the decline of woody plantations and other drastic consequences to public green areas in Sarajevo and its surroundings.