

BILJNI VIRUSI U TLU I VODI NEKIH ŠUMSKIH EKOSUSTAVA HRVATSKE S PREGLEDOM VIRUSA NAĐENIH U ŠUMSKOM I UKRASNOM DRVEĆU

PLANT VIRUSES IN SOIL AND WATER OF SOME FOREST ECOSYSTEMS IN CROATIA WITH
REVIEW OF VIRUSES FOUND IN FOREST AND ORNAMENTAL WOODY PLANTS

Nikola JURETIĆ*, Đorđe MAMULA** i Nada PLEŠE***

Sažetak: Izneseni su podaci o prvom nalazu biljnih virusa u tlu i vodi nekih šumskih ekosustava u Hrvatskoj. Iz tala s triju područja središnje Hrvatske izoliran je virus nekroze duhana (tobacco necrosis virus), a u šumskim površinskim vodama (potoci, odvodni kanali) nađen je virus mozaika duhana (tobacco mosaic virus) i virus mozaika rajčice (tomato mosaic virus). Dan je i pregled dosad nađenih virusa u šumskim i ukrasnim drvenastim biljkama u Hrvatskoj: za sada je virusna zaraza otkrivena u 19 rodova tih biljaka. Najčešće su u šumskim i ukrasnim drvenastim biljkama rasprostranjeni na području Hrvatske virus mozaika krastavca (cucumber mosaic virus) i virus uvijenosti lista trešnje (cherry leaf roll virus) te neki rabdovirusi. Biljni virusi šumskih ekosustava Hrvatske nisu sustavno istraživani. Međutim, takva su istraživanja u drugim zemljama, posebno u posljednjem desetljeću, vrlo intenzivna, jer se došlo do zaključka da i ona pridonose boljem razumijevanju današnjeg "umiranja" šuma.

Cljučne riječi: biljni virusi, šumski ekosustav, drvenaste biljke, tlo, voda.

UVOD - Introduction

Kroz cijelu prvu polovicu ovog stoljeća biljna virologija bavila se isključivo virusima zeljastih biljaka. Istini za volju, treba reći da je već na početku stoljeća Baur (1908) opisao infektivne bolesti nekih šumskih i ukrasnih drvenastih biljaka (rodovi *Euonymus*, *Ligustrum*, *Laburnum*, *Ptelea* i *Sorbus*) koje su jako sličile virusnim bolestima. Međutim, te su bolesti dugo čekale da ih se bolje istraži. Glavni razlog zašto te bolesti nisu privlačile pozornost istraživača jest to što je izolacija virusa iz drvenastih biljaka, i uopće njihovo istraživanje, metodološki znatno složenije od istraživanja virusa zeljastih biljaka. Osim toga inkubacija virusnih bolesti u drvenastim biljkama traje obično više godina što znatno produžava trajanje pokusa.

*Prof. dr. Nikola Juretić, Prirodoslovno-matematički fakultet Zagreb, Marulićev trg 9a, Zagreb

**Dr. Đorđe Mamula, viši znanstveni suradnik, Prirodoslovno-matematički fakultet Zagreb, Marulićev trg 9a, Zagreb

***Prof. dr. Nada Pleše, Prirodoslovno-matematički fakultet Zagreb, Marulićev trg 9a, Zagreb

Općenito se može reći da su istraživanja virusnih bolesti drvenastih biljaka šireg maha uzela tek u drugoj polovici 20. stoljeća; u zadnja dva desetljeća ta su istraživanja u svijetu osobito intenzivna (Koenig, 1986; Nienhaus i Castello, 1989; Pleše i sur., 1996). Cooper (1979) u svojoj knjizi *Virus Diseases of Trees and Shrubs* slikovito je izrekao misao da su dotad otkriveni virusi u drvenastim biljkama vjerojatno samo vrh ledenog brijega. Čini se po svemu da je to istina. Nienhaus i Castello (1989) u svom preglednom članku navode da je do toga vremena izolirano više od 30 različitih virusa koji inficiraju 23 roda s oko 50 vrsta šumskog drveća i grmlja. U knjizi Nienhaus i sur. (1992) mogu se naći detaljnije informacije o virusnim simptomima na šumskim drvenastim biljkama.

Drveće inficirano virusnim bolestima ne samo što je manje lijepo, nego je obično i slabije razvijeno. Najčešće na inficiranom drveću nastaju promjene u boji listo-

va koje se nazivaju, ovisno o izgledu: kloroza, mozaik, šarenilo, prstenasta pjegavost itd. (sl. 1, 2 i 3).



Slika 1. Stablo divljeg kestena (*Aesculus hippocastaneum*) inficirano jednim ilarvirusom; na listovima se opaža kloroza koja prelazi u opće žutilo (prema J. S. Cooperu).

Virusi nađeni u tim biljkama pripadaju vrlo različitim virusnim skupinama. Tako su nađeni virusi iz skupina *tobamovirusi*, *tombusvirusi* i *poteksvirusi* koji se u prirodi šire mehaničkim putem (kontaktom) a ne živim prenositeljima (vektorima). Osim njih u drvenastim biljkama nađeni su i virusi koji se prenose vektorima; takvi su npr. virusi iz skupine *potivirusi* (prenose se lisnim ušima), zatim virusi iz skupine *nekrovirusi* (prenose se gljivicama koje žive u tlu) te virusi iz skupina *nepovirusi* i *tobravirusi* (prenose se nematodama). Koliko pojedina šumska drvenasta biljna vrsta može biti podložna različitim virusnim infekcijama, poučan je podatak Wintera (1987), koji je samo iz vrste *Fagus sylvatica* izolirao veći broj virusa koji pripadaju četirima virusnim skupinama (*poteksvirusi*, *potivirusi*, *bromovirusi*, *nepovirusi*).



Slika 2. Divlji kestena (*Aesculus carnea*): lijevo - zdrava grana; desno - grana inficirana jednim ilarvirusom; vide se simptomi u obliku žutog mozaika koji se pretapa u opće žutilo listova (prema J. S. Cooperu).

Prirodne šume su biocenoze naročito flornog sastava. Na taj sastav jako utječu mnogi biotički i abiotički čimbenici (patogeni, štetnici, klimatski čimbenici, tlo, industrijsko onečišćavanje okoliša). Današnje "umiranje" šuma, kako je znano, uzrokuje kompleks međusobno povezanih i promjenljivih biotičkih i abiotičkih čimbenika. Ti čimbenici djeluju kao po nekoj spirali, da bi njihov konačni učinak bio: pogubno djelovanje na šumsko drveće i grmlje. Danas se u te čimbenike, koji mogu nepovoljno utjecati na šume, ubrajaju ne samo razmjerno novootkriveni prokarioti (m i k o p l a z m e, s p i r o p l a z m e) nego i virusi i viroidi. Manion (1981) je sve čimbenike koji uzrokuju propadanje šuma podijelio u tri kategorije: predispozicijske, inicijacijske i oportunističke (koriste priliku da napadnu biljke koje su već oslabljene od prethodnih bolesti). Virusni infekcije smanjuju drveću, u odnosu na zdrave biljke, otpornost prema drugim uzročnicima bolesti (npr. Nienhaus, 1985; Hamacher i Giersiepen, 1989). U međudjelovanju s drugim abiotičkim i biotičkim agensima virusi uzrokuju za drveće pogubne stresove.



Slika 3. Listovi ruže (*Rosa canina*) sa simptomima u obliku žutih šara koje uzrokuje virus nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje (snimio L. Bos).

Virusi koji napadaju šumsko drveće rasprostranjeni su i u zeljastim i u drvenastim biljkama koje rastu i izvan šumskih ekosustava, bez obzira na to bile one divlje ili kultivirane biljke; među tim biljkama osobito je mnogo ukrasnih biljaka. Osim toga, virusi koji napadaju šumsko drveće rasprostranjeni su u šumskom tlu kao i u vodama šumskih ekosustava, npr. u rijekama, potocima, jezerima, odvodnim kanalima (Koening, 1986; Büttner i Nienhaus, 1989a, b; Winter i Nienhaus, 1989; Nienhaus i sur., 1990; Pleše i sur., 1996).

U ovom prikazu osvrćemo se na dosadašnja istraživanja virusa rasprostranjenih u šumskim i ukrasnim drvenastim biljkama na području Hrvatske s namjerom da, prikazavši skroman opseg tih istraživanja, potaknemo naše fitopatologe da se više nego dosad posvete i tom dijelu šumarske fitopatologije. Također dajemo pregled dosadašnjih istraživanja virusa u tlima i površinskim vodama šumskih ekosustava naše zemlje.

VIRUSE DRVENASTIH BILJAKA TEŽE JE ISTRAŽIVATI NEGO VIRUSE ZELJASTIH BILJAKA

More difficult is to investigate viruses of woody plants than viruses of herbaceous plants

Da bi se neki virus istražio, nužno ga je prenijeti na tzv. pokusne biljke koje su u pravilu zeljaste biljke. Pri tom se virusi iz izvorne biljke prenose na pokusne biljke mehaničkom inokulacijom: sokom istisnutim iz inficirane biljke trljaju se listovi zdrave pokusne biljke; trljanjem nastaju ranice kroz koje virus dolazi u dodir sa živim sadržajem stanice. Prije utrljavanja infektivnog soka (inokuluma), listovi pokusnih biljaka se pospu sitnim prahom silicijeva karbida (karborunda) da bi sitni kristalici toga praha za vrijeme inokuliranja načinili što više ranica kroz koje će virusne čestice ući u stanicu. Obično se virusi iz zeljastih biljaka mehanički lako prenose na druge zeljaste biljke. Međutim, najčešće je teško mehanički prenijeti virus iz drvenaste biljke na druge zdrave biljke, pa i na zeljaste (pokusne) biljke. Razlog tomu su određeni kemijski spojevi (inhibitori) koji se nalaze u drvenastim biljkama i koji onemogućavaju taj prijenos. Da bi prijenos uspio, potrebno je inficiranu tkivu drvenaste biljke prilikom istiskivanja soka dodati određene puferne: najčešće se koristi 30 mM fosfatni pufer pH 8. Osim toga, mnogi se virusi lako inaktiviraju zbog oksidacijskih spojeva kojih ima dosta u tkivima drvenastih biljaka. U svrhu neutraliziranja tih spojeva,

potrebno je, prilikom pripravljanja inokuluma, dodati antioksidanse, čijim se djelovanjem priječi gubitak infektivnosti inokuluma. Najčešći antioksidansi, koji se koriste, su natrijev dietil-ditiokarbamat (DIECA) ili tioglikolna kiselina; oni sprečavaju djelovanje polifenolne oksidaze koja negativno utječe na virusnu infektivnost. Mnogi su virusi drveća jako nestabilni na sobnoj temperaturi, pa je stoga često potrebno njihove inokulume priređivati pri nižim temperaturama (radi se u hladnoj komori na +2 do 3° C).

Obično je virus lakše izolirati iz mlađih listova drveća, nego iz starijih listova. Kad se jednom virus iz drvenaste biljke prenese na zeljaste biljke, tada se on dalje lako prenosi na druge zeljaste biljke. U nekim drvenastim biljkama virusi dolaze u višim koncentracijama u korijenju i zbog toga ih je lakše izolirati iz korijenja nego iz lisnog tkiva. To je najčešće slučaj s virusima koji napadaju četinjače.

Nakon što je virus iz drvenaste biljke prenijet na zeljaste biljke, on se dalje istražuje istim metodama kao i virusi zeljastih biljaka (imunokemijske metode, elektronska mikroskopija, analiza virusnih proteina i virusne nukleinske kiseline itd.).

BILJNI VIRUSI NAĐENI U TLIMA NEKIH ŠUMA U HRVATSKOJ

Plant viruses found in soils of some forests in Croatia

Nedavno su Pleše i sur. (1996) ustanovili da i u tlu nekih naših šuma dolaze biljni virusi. Poticaj tim istraživanjima bili su radovi inozemnih autora (Nienhaus i Castello, 1989; Büttner i Nienhaus, 1989a), koji su u tlima šumskih ekosustava svojih zemalja našli nekoliko različitih biljnih virusa.

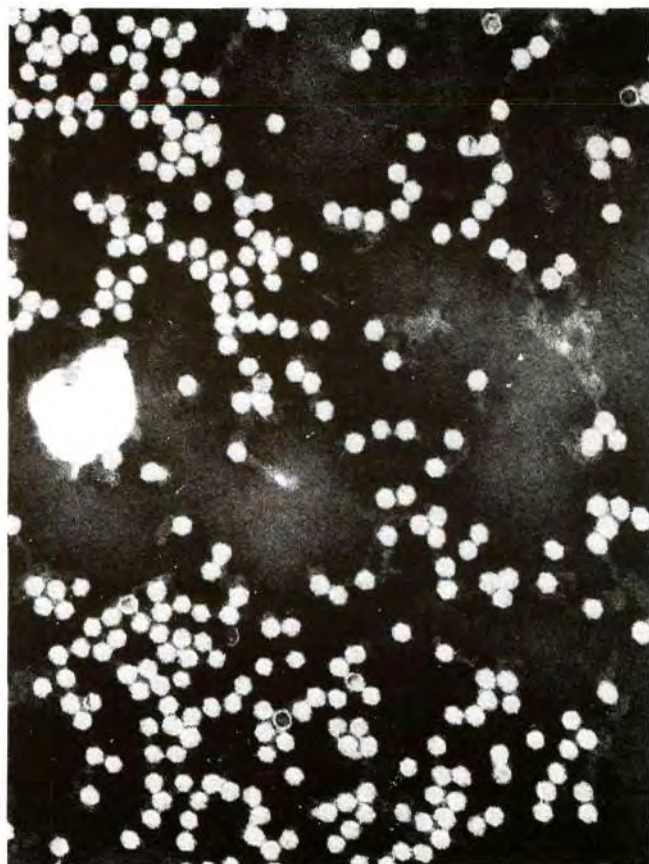
Način izolacije virusa iz tla opisali su Büttner i Nienhaus (1989a). Metoda se sastoji u tome da se pri bazi stabla na dubini od 20 do 50 cm uzme oko 10 kg tla; uzorak treba osim zemlje sadržavati i sitno korijenje drvenaste biljke u blizini koje je uzet uzorak tla. U tlo pojedinog uzorka sade se u stakleniku zdravi primjerci pokusnih biljaka, tzv. biljke-mameci u čije će korijenje prijeći virusi iz tla te se eventualno proširiti u ostale dijelove biljke. U uzorak tla sadi se više različitih biljaka-mamac. Najčešće se kao biljke-mameci koriste zeljaste biljke kao npr. primjerci vrsta *Chenopodium quinoa* Willd., *Cucumis sativus* L., *Nicotiana megalosiphon* Heurck et Muell. i *Plantago lanceolata* L., i to u stadiju kada posjeduju nekoliko prvih listića. Pet do šest tjedana kasnije korijenje svih biljaka-mamac koje

su sadene u jedan uzorak tla, zajedno se izmrvi u tekućem dušiku i zatim homogenizira u 30 mM Sörensenovom fosfatnom puferu pH 7,0. Dobiveni homogenat se inokulira na pokusne biljke koje se uobičajeno koriste u identifikaciji biljnih virusa.

U istraživanjima Pleše i sur. (1996) uzorci zemlje uzimani su 1990., 1991. i 1992. godine u mjesecu svibnju na tri šumska područja: na području Turopolja (zajednica *Quercus robur*), na području Vukomeričkih Gorica (zajednica *Quercus petraea* / *Carpinus betulus*) i na području Medvednice (Ponikve, zajednica *Quercus petraea* / *Carpinus betulus*). U tlima sa sve tri lokacije otkriven je virus nekroze duhana (tobacco necrosis virus). Identifikacija virusa temeljila se na podacima dobivenim istraživanjem simptomatoloških i seroloških (sl. 4) osobina virusa te na elektronskomikroskopskim istraživanjima. Taj virus ima poliedričnu česticu promjera oko 30 nm (sl. 5). U tablici 1 navedene su šumske vrste u blizini kojih su uzimani uzorci tala koji su ispitivani na prisutnost virusa.



Slika 4. Prikaz serološke metode kojom se najčešće otkrivaju i identificiraju virusi u biljnom soku: agarski gel (0,7-1%) se otopi i razlije na staklenu pločicu tako da visina agara bude 1,5-2 mm; nakon prelaska u gel-stanje u agaru se načine mali zdenčići (baze) raspoređeni tako da jedan od njih ima središnji položaj, a više njih kružan periferni položaj. U središnji zdenčić stavlja se specifični virusni imuni serum (antiserum), a u okolne zdenčiće uzorci biljnog soka koji se testiraju na virus: kroz gel difundiraju i virusne čestice i antitijela (koja se nalaze u serumu), tako da će se na određenom mjestu oni susresti i reagirati. Reakcija između virusa i seruma vidi se kao bijela (precipitacijska) linija (strelica); takve će linije nastati samo kod onog perifernog zdenčića čiji uzorak sadrži virus; na prikazanoj slici samo je jedan uzorak sadržavao virus (strelica).



Slika 5. Elektronskomikroskopska snimka poliedričnih čestica virusa nekroze duhana nadenog u tlu nekih šuma u središnjoj Hrvatskoj: promjer čestica je oko 30 nm.

Tablica 1. Rasprostranjenost virusa nekroze duhana u uzorcima tala koji su uzeti u blizini šumskih drvenastih biljaka na tri lokaliteta u središnjoj Hrvatskoj

Table 1. Distribution of tobacco necrosis virus in soil samples taken near woody forest plants in three districts of central Croatia

Područje District	Biljna vrsta Plant species	Broj uzoraka No. of samples	Broj virusno inficiranih uzoraka No. of virus positive samples
Turopolje	<i>Acer campestre</i> L.	2	2
	<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	2	2
	<i>Carpinus betulus</i> L.	5	3
	<i>Cornus</i> sp.	2	-
	<i>Corylus avellana</i> L.	1	1
	<i>Crataegus</i> sp.	2	1
	<i>Pyrus pyraister</i> Burgsd.	2	2
	<i>Quercus robur</i> L.	9	6
Ukupno Total		25	17

	<i>Betula pendula</i> Roth	5	3
	<i>Carpinus betulus</i> L.	1	1
	<i>Castanea sativa</i> Mill.	5	2
	<i>Corylus avellana</i> L.	1	-
	<i>Fagus sylvatica</i> L.	6	4
Vukomeričke	<i>Larix decidua</i> Mill.	2	1
Gorice	<i>Picea abies</i> (L.) Karsten	3	2
	<i>Pinus strobus</i> L.	2	1
	<i>Populus sp. div.</i>	3	2
	<i>Prunus avium</i> L.	1	1
	<i>Quercus petraea</i> (Matt.) Liebl.	2	2
	<i>Robinia pseudacacia</i> L.	3	3
	<i>Sambucus nigra</i> L.	1	-
Ukupno Total		35	22
	<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	2	-
	<i>Carpinus betulus</i> L.	2	-
Medvednica	<i>Populus tremula</i> L.	1	1
(Ponikve)	<i>Quercus petraea</i> (Matt.) Liebl.	4	-
	<i>Robinia pseudacacia</i> L.	1	-
Ukupno Total		10	1
Ukupno na tri područja Total in three districts		70	40

BILJNI VIRUSI NAĐENI U ŠUMSKIM POTOCIMA I ODVODNIM KANALIMA U HRVATSKOJ

Plant viruses found in forest brooks and ditches in Croatia

Da biljni virusi dolaze u šumskim površinskim vodama znano je iz radova inozemnih istraživača (Nienhaus i Castello, 1989; Büttner i Nienhaus, 1989b; Jacobi i Castello 1991). U Hrvatskoj su takva istraživanja prvi poduzeli Pleše i sur. (1996). Ti su istraživači analizirali uzorke vode uzete u tri različita šumska područja: dva su uzorka uzeta u šumskim potocima Medvednice (Ponikve), jedan iz potoka u području Vukomeričkih Gorica, a dva iz šumskih odvodnih kanala na području Turopolja (uzorci su bili uzimani istovremeno kad i spominjani uzorci tala).

Virusi su izolirani iz uzoraka vode na sljedeći način: uzorak vode od 250 ml centrifugiran je visokookretajno

100 minuta kod centrifugalne sile 90000 g (ultracentrifugiranje). Dobiveni talozi su otopljeni u 0.25 ml 30 mM fosfatnog pufera pH 7; nakon što su suspenzije niskookretajno ocentrifugirane (da se otklone netopivi sastojci), gornji tekući dio (supernatant) je inokuliran na pokusne biljke. Na temelju reakcija na pokusnim biljkama, tipa virusnih kristala, elektronskomikroskopskih istraživanja te seroloških pokusa nedvojbeno je dokazano da su svih pet uzoraka vode sadržavali neki od tobamovirusa (virusne štapičaste čestice velike 300 x 18 nm, sl. 6). U tablici 2 navedeno je koji su virusi uzorci sadržavali. Kako se vidi, u površinskim vodama nekih naših šuma rasprostranjena su dva tobamo-

Tablica 2. Rasprostranjenost tobamovirusa u nekim šumskim potocima i odvodnim kanalima u Hrvatskoj
Table 2. Distribution of tobamoviruses in forest brooks and ditches in Croatia

Lokalitet Locality	Virus
Voda iz potoka I Medvednica	virus mozaika rajčice
Voda iz potoka II Medvednica	virus mozaika rajčice
Voda iz potoka Vukomeričke Gorice	virus mozaika duhana
Voda odvodnog kanala I Turopolje	virus mozaika duhana
Voda odvodnog kanala II Turopolje	virus mozaika duhana

virusa: virus mozaika duhana (tobacco mosaic virus) i virus mozaika rajčice (tomato mosaic virus).

Zanimljivo je da se virus mozaika duhana (TMV) mogao izolirati i iz taloga samo niskookretajnim centrifugiranjem uzorka vode, tj. bez visookretajnog centrifugiranja. Taj podatak govori da tobamovirusi mogu doći u šumskim vodama u vrlo visokim koncentracijama. Štoviše, TMV se mogao izolirati iz vodenog mulja i izravno, bez ikakvog centrifugiranja.

Nameće se pitanje otkud su tobamovirusi dospjeli u površinske vode? Mogući izvori virusa su biljke, i drvenaste i zeljaste, koje rastu neposredno uz vodene tokove: dokazano je da korijenje i živih biljaka može otpuštati viruse u vodu (Koenig, 1986). Tobamovirusi mogu dospjeti u vodu s česticama zemlje na koje virusne čestice mogu biti adsorbirane (Juretić i Horváth, 1991; Triolo i Materazzi, 1992). Čini se, ipak, da su najizdašniji izvor tobamovirusa u vodi raspadnuti ostaci biljnog tkiva koje potječe od inficiranih biljaka: ispiranjem tih ostataka virusi dopijevaju u površinske vode. Zanimljivo je da su u vodi najrasprostranjeniji tobamovirusi. Tome je nekoliko razloga: prvo, to su virusi koji spadaju među najraširenije viruse u prirodi i koji dolaze u inficiranim biljkama u vrlo visokim koncentracijama; drugo, to su vrlo stabilni virusi koji mjesecima mogu postojati u mrtvom biljnom tkivu a da se ne razgrade; treće, to su virusi koji se jako lako adsorbiraju na čestice pijeska i humusa s kojih se teško ispiru. Čini se da su to glavni razlozi zašto je u površinskoj vodi teže naći neke druge biljne viruse koji se ne odlikuju svim onim svojstvima kojima se odlikuju tobamovirusi. Slična svojstva imaju, na primjer, i tombusvirusi, pa su i oni dosta česti u površinskoj vodi.



Slika 6. Elektronskomikroskopska snimka štapićastih čestica virusa mozaika duhana koji je rasprostranjen u površinskim vodama u nekim našim šumskim ekosustavima; čestice su normalno velike 300 x 18 nm ali se mogu vidjeti i kraće, slomljene čestice.

PREGLED DOSAD NAĐENIH VIRUSA U ŠUMSKOM I UKRASNOM DRVEĆU I GRMLJU U HRVATSKOJ

Survey of till now found viruses in forest and ornamental trees and shrubs in Croatia

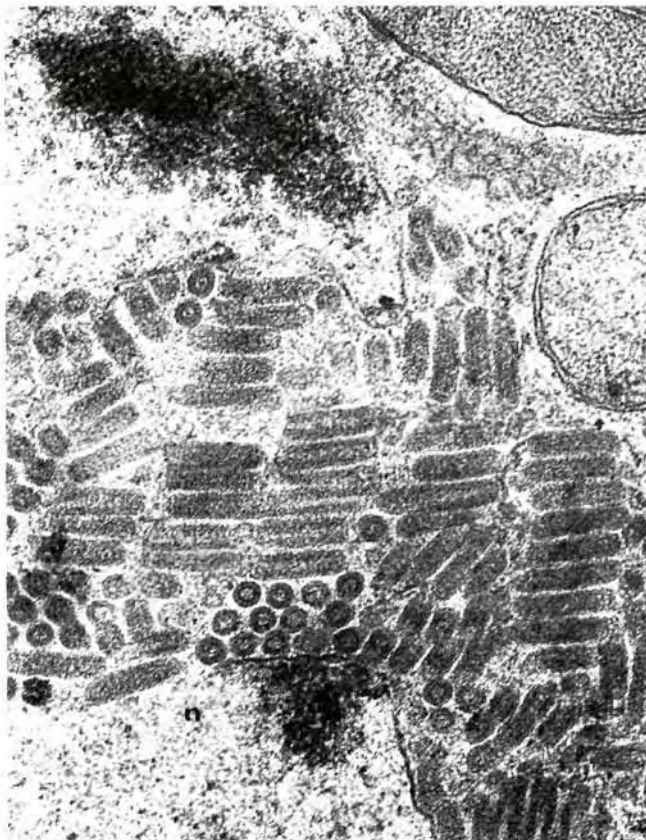
Iako virusi šumskih ekosustava u Hrvatskoj nisu dosad sustavno istraživani, ipak je poznato (Miličić, 1982) da je u šumskom i ukrasnom drveću i grmlju na

području Hrvatske rasprostranjeno nekoliko virusa koji napadaju 19 različitih biljnih rodova (tab. 3).

Tablica 3. Virusi nađeni u šumskom i ukrasnom drveću i grmlju u Hrvatskoj
Table 3. Viruses found in forest and ornamental trees and shrubs in Croatia

Biljka	Virus	Autor
<i>Aristolochia clematidis</i> L.	virus mozaika krastavca	Juretić (1974)
<i>Aristolochia macrophylla</i> Lam.	virus mozaika krastavca	Horváth i sur. (1975)
<i>Camellia japonica</i> L.	virus žute pjegavosti lista kamelije	Miličić (1989)
<i>Camellia sasanqua</i> Thunb.	virus žute pjegavosti lista kamelije	Miličić (1989)
<i>Celtis australis</i> L.	virus uvijenosti lista trešnje	Anselmi i sur. (1980)
<i>Clematis vitalba</i> L.	virus crtičavosti duhana	Rana i sur. (1987)
<i>Euonymus japonica</i> Thunb.	virus s nitastom česticom rabdovirus (sl. 7)	Pleše i Wrisher (1981) Pleše i Erić (1980)

<i>Euonymus japonica</i> Thunb. f. <i>microphylla</i>	neidentificirani virus	Miličić (1982)
<i>Euonymus japonica</i> Thunb. f. <i>aureo-variegata</i>	neidentificirani virus	Miličić (1982)
<i>Euonymus fortunei</i> (Turcz.) Hand.-Mazz.	neidentificirani virus	Miličić (1982)
<i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl.	virus mozaika krastavca	Pleše i Miličić (1974)
<i>Hedera helix</i> L.	virus prosvjetljavanja žila bršljana	Miličić i Plavšić (1985)
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.	rabdovirus	Plavšić i sur. (1984)
<i>Laburnum anagyroides</i> Med.	X-virus krumpira rabdovirus	Pleše i Wrisher (1986) Pleše (1979)
<i>Leycesteria formosa</i> Wall.	virus mozaika krastavca	Mamula i sur. (1977)
<i>Ligustrum vulgare</i> L.	virus mozaika krastavca	Juretić (neobjavljeno)
<i>Lycium halimifolium</i> Mill.	virus mozaika krastavca	Pleše i Miličić (1973)
<i>Maclura pomifera</i> (Raf.) Robinson	virus mozaika krastavca virus mozaika maklure	Pleše i Miličić (1973) Pleše i sur. (1979)
<i>Passiflora caerulea</i> L.	virus mozaika krastavca potivirus	Pleše i Wrisher (1984) Pleše i Wrisher (1984)
<i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.) Ait.	virus žutog mozaika graha rabdovirus	Pleše i Wrisher (1984) Plavšić-Banjac i sur. (1976)
<i>Robinia pseudacacia</i> L.	virus kržljivosti orašca	Schmelzer i Miličić (1965)
<i>Rosa</i> sp.	virus nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje	Cvjetković i sur. (1972)
<i>Sambucus nigra</i> L.	karlavirus virus uvijenosti lista trešnje	Miličić i sur. (1987) Štefanac (1969)
<i>Sambucus ebulus</i> L.	virus uvijenosti lista trešnje	Mamula i Miličić (1975)
<i>Sambucus racemosa</i> L.	virus uvijenosti lista trešnje	Grbelja (1972)
<i>Viburnum tinus</i> L.	virus mozaika lucerne	Pleše i Miličić (1971)



Slika 7. Elektronskomikroskopska snimka virusnih čestica bacili-formnog oblika (rabdovirus) snimljene u stanici primjerka vrste *Euonymus japonica* na kojem su se opažali virusni simptomi; čestice su velike 70 x 300 nm, a u poprečnom se presjeku vide kao kružići.

RASPRAVA - Discussion

Najčešći simptomi virusnih infekcija na drveću i grmlju su kloroza, mozaik, šarenilo te prstenasta pjegavost, koji se zapažaju na listu inficirane biljke (sl. 1, 2, 3). Osim toga, često su inficirane biljke zakržljale i manje vitalne. Nije rijetka pojava da se simptomi virusne infekcije vide samo na pojedinim granama krošnje. Međutim, moguće je da zaražena stabla i ne pokazuju nikakve simptome bolesti. Kao i kod zeljastih biljaka, i kod drvenastih biljaka virusna zaraza može se prenijeti sjemenkama i polenom zaraženih primjeraka te različitim insektima, među kojima treba u prvom redu spomenuti lisne uši (afide). Prema tome, inficirana stabla mogu biti izvor zaraze ne samo za biljke u šumi nego i izvan nje.

Iz prikaza dosad nađenih virusa na drvenastim biljkama u Hrvatskoj, vidi se da je na njima najviše raširen virus mozaika krastavca. Poliedrična čestica toga virusa promjera je oko 30 nm; taj se virus lako prenosi lisnim ušima i sjemenkama pa spada među najraširenije biljne viruse u prirodi.

Virusne infekcije obično ne usmrćuju drvenaste biljke, iako im one znatno smanjuju životni potencijal. Međutim, virusne infekcije su predispozicijski čimbenici koji čine biljke osjetljivim prema drugim uzročnicima bolesti (bakterijama, mikoplazmama, gljivicama) omogućujući tako da se pojave tzv. oportunističke bolesti. Treba spomenuti da i između virusa i onečišćenog zraka postoje određene interakcije (Heagle, 1973; Juretić, 1990).

Nepotrebno je isticati da su virusi jedan od čimbenika koji štete šumskom drveću, i to bilo izravno, bilo

neizravno. Nažalost, ako je suditi po opsegu naših istraživanja virusa šumskih ekosustava, to se u nas još nije shvatilo. Na primjer, nitko do rada Pleše i sur. (1996) nije istraživao biljne viruse u šumskom tlu i vodi. Danas vrlo malo znamo o tome u kojoj su mjeri virusi rašireni u našim šumskim ekosustavima. Možda podaci u ovom članku potaknu nekoga od naših fitopatologa da se sustavno počne baviti tim dijelom šumarske fitopatologije.

ZAHVALA - Acknowledgment

Zahvaljujemo Darku Mihelju, dipl. inž. biol., na kompjutorskom oblikovanju teksta i tablica.

LITERATURA - Literature

- Anselmi, N., Šarić, A. i Cellerino, G. P. (1980): Su alcune alterazioni dei rami e delle foglie di *Celtis australis* L. *Informatore Fitopatologico* 30 (10), 11-17.
- Baur, E. (1908): Über eine infektiöse Chlorose von *Eucalyptus japonica*. *Ber. dtsch. Ges.* 26, 711-713.
- Büttner, C. i Nienhaus, F. (1989a): Virus contamination of soils in forest ecosystems of the Federal Republic of Germany. *Eur. J. Forest Pathol.* 19, 47-53.
- Büttner, C. i Nienhaus, F. (1989b): Virus contamination of waters in two forest districts of the Rhineland area (FRG). *Eur. J. Forest Pathol.* 19, 208-211.
- Cooper, I. J. (1979): *Virus diseases of trees and shrubs*. Institute of terrestrial ecology, Oxford.
- Corte, A. (1957): Una nuova virosi del *Pittosporum*. *Rivista Ortoflorofruttic. Ital.* 41, 182-185.
- Cvjetković, B., Pleše, N., Štefanac, Z. i Miličić, D. (1972): Nalaz virusa nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje na ruži u Jugoslaviji. *Acta Bot. Croat.* 31, 15-20.
- Grbelja, J. (1972): Rasprostranjenost virusa uvijecnosti lista trešnje na crnoj i grozdastoj bazgi u Jugoslaviji. *Acta Bot. Croat.* 31, 29-36.
- Hamacher, J. i Giersiepen, R. (1989): Histologisch-cytologische Veränderungen in Kirschenblattrollvirus-infizierten und durch Luftschadstoffe gestressten *Betula*-Arten. *Nachrichtenblatt. dtsch. Pflanzenschutzd.* 41, 124-130.
- Heagle, A. S. (1973): Interactions between air pollutants and plant parasites. *Annu. Rev. Phytopathol.* 11, 365-388.
- Horváth, J., Mamula, Đ. i Juretić, N. (1975): Some data concerning natural hosts of cucumber mosaic virus in Hungary and Yugoslavia. *Acta Bot. Croat.* 34, 9-16.
- Jacobi, V. i Castello, J. D. (1991): Isolation of tomato mosaic virus from waters draining forest stands in New York State. *Phytopathology* 81, 1112-1117.
- Juretić, N. (1974): Četiri nova prirodna domadara virusa mozaika krastavca u Hrvatskoj. *Acta Bot. Croat.* 33, 45-51.
- Juretić, N. (1990): Virusi i šumsko drveće. *Šumarski list* 3-5, 171-180.
- Juretić, N. i Horváth, J. (1991): Adsorption of two plant viruses to soil. *Acta Phytopathol. et Entomol. Hung.* 26, 423-426.
- Koenig, R. (1986): Plant viruses in rivers and lakes. *Adv. Virus Res.* 31, 321-333.
- Mamula, Đ. i Miličić, D. (1975): Cherry leaf roll virus in *Sambucus ebulus* L. *Acta Horticulturae* 44, 33-37.
- Mamula, Đ., Pleše, N. i Juretić, N. (1977): Spontaneous occurrence of cucumber mosaic virus on *Echinocystis lobata*, *Lycycteria formosa* and *Solanum melongena* in Yugoslavia. *Acta Bot. Croat.* 36, 29-37.
- Manion, P. D. (1981): Decline diseases of complex biotic and abiotic origin. In: *Tree Disease Concepts*. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Miličić, D. (1982): Some virus diseases of trees and shrubs in Yugoslavia. *Annales Forestales* 10/3, 61-80.

- Miličić, D. (1989): *Camellia japonica* L. and *C. sasanqua* Thunb. - two hosts of Camellia leaf yellow mottle virus. Acta Bot. Croat. 48, 1-9.
- Miličić, D. i Plavšić, B. (1985): Occurrence of ivy vein clearing virus in Yugoslavia. Acta Bot. Croat. 44, 1-5.
- Miličić, D., Plavšić, B. i Grbelja, J. (1987): Cherry leaf roll virus and elderberry carlavirus on *Sambucus nigra* L. in south-east Europe. Acta Bot. Croat. 46, 1-8.
- Nienhaus, F. (1985): Infectious diseases in forest trees caused by viruses, mycoplasma-like organisms and primitive bacteria. Experientia 41, 597-603.
- Nienhaus, F. i Castello, J. D. (1989): Viruses in forest trees. Annu. Rev. Phytopathol. 27, 165-186.
- Nienhaus, F., Büttner, C. i Hamacher, J. (1990): Virus infection of forest trees by mechanical transmission. J. Phytopathology 129, 141-150.
- Nienhaus, F., Butin, H. i Böhmer, B. (1992): Farbatlas Gehölzkrankheiten, Ziersträucher und Parkbäume. Eugen Ulmer, Bonn.
- Plavšić, B. i Miličić, D. (1980): Intracellular changes in trees infected with fig mosaic. Acta Horticulturae 110, 281-286.
- Plavšić-Banjac, B., Miličić, D. i Erić, Ž. (1976): Rhabdovirus in *Pittosporum tobira* plants suffering from vein yellow disease. Phytopath. Z. 86, 225-232.
- Pleše, N. (1979): Rhabdovirus in *Laburnum anagyroides* suffering from vein yellowing disease. Acta Bot. Croat. 38, 19-22.
- Pleše, N. i Erić, Ž. (1980): Rhabdovirus in *Euonymus japonica*. Acta Phytopath. Acad. Sci. Hungaricae 15, 291-295.
- Pleše, N. i Miličić, D. (1971): Luzernemosaik-Virus in *Viburnum tinus*. Phytopath. Z. 72, 219-224.
- Pleše, N. i Miličić, D. (1973): Two viruses isolated from *Maclura pomifera*. Phytopath. Z. 77, 178-183.
- Pleše, N. i Miličić, D. (1974): Virusisolierungen aus gelbnetziger *Forsythia suspensa* Vahl. und aus *Lycium halimifolium* Mill. Acta Bot. Croat. 33, 31-36.
- Pleše, N. i Wrischer, M. (1981): A filamentous virus associated with mosaic of *Euonymus japonica*. Acta Bot. Croat. 40, 31-34.
- Pleše, N. i Wrischer, M. (1984): A mixed infection of *Passiflora caerulea* L. with two viruses. Acta Bot. Croat. 43, 1-6.
- Pleše, N. i Wrischer, M. (1986): *Laburnum anagyroides* Med. - natural host of potato virus X. Acta Bot. Croat. 45, 21-25.
- Pleše, N., Koenig, R., Lesemann, D.-E. i Bozarth, R. E. (1979): *Maclura* mosaic virus - an elongated plant virus with uncertain classification. Phytopathology 69, 471-475.
- Rana, G. L., Krajačić, M., Štefanac, Z., Pleše, N., Rubino, L. i Miličić, D. (1987): Properties of a new strain of tobacco streak virus from *Clematis vitalba* (*Ranunculaceae*). Ann. appl. Biol. 111, 153-160.
- Triolo, E. i Materazzi, A. (1992): Rate of tobacco mosaic virus degradation in solarized soil. Riv. Patol. Vegetale 2, 23-32.
- Schmelzer, K. i Miličić, D. (1965): Nachweis des Robinienmosaiks in Jugoslawien. Acta Bot. Croat. 24, 189-195.
- Štefanac, Z. (1969): Nalaz virusa uvijenosti lista trešnje u Jugoslaviji. Acta Bot. Croat. 28, 373-378.
- Winter, S. i Nienhaus, F. (1989): Identification of viruses from European beech (*Fagus sylvatica* L.) of declining forests in Northrhine - Westfalia (FRG). Eur. J. Forest Pathol. 19, 111-118.

Summary: Data on the first finding of plant viruses in soil and water of some forest ecosystems in Croatia are presented. In soil samples of three forest districts in central Croatia tobacco necrosis virus has been found. Also, in water samples of the three districts tobacco mosaic virus and tomato mosaic virus, respectively, have been revealed. At the same time in this article the results of past investigations on virus infections of forest and ornamental woody plants in Croatia are reviewed. In 19 genera of forest and ornamental trees and shrubs plant viruses have been found. The most frequent viruses of forest and ornamental woody plants in Croatia are cucumber mosaic virus, cherry leaf roll virus and some of rhabdoviruses. So far nobody has investigated viruses of forest ecosystems in Croatia systematically.

The article suggests that Croatian forest phytopathologists should begin to investigate more than till now viruses of forest ecosystems because research of the nowadays occurring of forest decline is incomplete without a good knowledge of virus role in it.