
Darko VONČINA¹, Bogdan CVJETKOVIĆ²

¹ Zavod za fitopatologiju, Agronomski fakultet Zagreb

² Veleučilište "Marko Marulić", Knin

dvoncina@agr.hr

VIROZE MASLINE

SAŽETAK

Masline mogu biti zaražene s 15 različitih virusa, a poseban problem predstavljaju latentne zaraze koje su vrlo česte. Budući da se radi o kulturi koja se razmnožava vegetativno, virusi se vrlo učinkovito prenose. U članku se daje kratak prikaz viroza masline, simptoma koje mogu uzrokovati, mogućnosti njihovog prijenosa, detekcije i kontrole s posebnim osvrtom na njihovu pojavnost u Hrvatskoj.

Ključne riječi: virusne bolesti masline, simptomatologija, epidemiologija, detekcija, kontrola

UVOD

U Hrvatskoj se masline u značajnijoj mjeri uzgajaju na području Istre, priobalnom području Kvarnera, Dalmaciji te otocima. U posljednjih 20-ak godina maslinarstvo pokazuje pozitivni trend u pogledu podizanja novih nasada, ali i kvalitete maslinovog ulja. S obzirom na izraženu tendenciju podizanja novih maslinika prije ulaska u EU do izražaja dolazi kvaliteta sadnog materijala, pogotovo naših autohtonih sorata.

Poput brojnih drugih drvenastih kultura, maslina je također podložna infekciji virusima kao obligatnim intracelularnim parazitima. Do danas je poznato da maslinu može inficirati 15 različitih virusa iz 9 različitih rodova (Tablica 1; Martelli, 2012). Neki od virusa zabilježeni su sporadično i samo u pojedinim zemljama, dok je prisutnost drugih utvrđena u više zemalja i to u znatnom postotku. Neki od njih prvi puta su utvrđeni u maslini (nose naziv po maslini) dok su drugi značajni patogeni drugih kultura, ali mogu inficirati i maslinu. Virusi koji su dobili naziv po maslini (osim OLV-1 i OLV-2) za sada nisu utvrđeni u drugim kulturama.

LATENTNI VIRUS 1 MASLINE (*Olive latent virus 1, OLV-1*) najčešće ne uzrokuje vidljive znakove infekcije. Samo kod pojedinih izolata zabilježen su simptomi u vidu slabijeg rasta te nepravilnog grananja u obliku fascijacija ili bifurkacija (Gallitelli i Savino, 1985). Osim cijepljenjem kod ovog virusa utvrđen je i prijenos sjemenom od 82% (Saponari i sur., 2002). Obično se povezuje sa propadanjem maslina i patuljastim rastom citrusa, ali nema podataka o njegovom negativnom utjecaju na prinos i kakvoću plodova.

Tablica 1. Pregled viroza masline

Virus	Taksonomska pozicija (porodica, rod)	Broj zemalja u kojima je potvrđen
<i>Strawberry latent ringspot virus</i> (SLRSV)	<i>Secoviridae, Cheravirus</i>	8
<i>Cherry leafroll virus</i> (CLRV)		9
<i>Arabis mosaic virus</i> (ArMV)	<i>Secoviridae, Nepovirus</i>	6
<i>Olive latent ringspot virus</i> (OLRSV)		4
Cucumber mosaic virus (CMV)	<i>Bromovirideae, Cucumovirus</i>	13
<i>Olive latent virus 1</i> (OLV-1)	<i>Tombusviridae, Necrovirus</i>	9
<i>Olive latent virus 2</i> (OLV-2)	<i>Bromoviridae, Oleavirus</i>	4
<i>Olive latent virus 3</i> (OLV-3)	<i>Tymoviridae, Marafivirus</i>	8
<i>Tobacco necrosis virus D</i> (TNV-D)	<i>Tombusviridae, Necrovirus</i>	1 (Portugal)
<i>Olive mild mosaic virus</i> (OMMV)	<i>Tombusviridae, Necrovirus</i>	1 (Portugal)
<i>Olive leaf yellowing-associated virus</i> (OLYaV)	<i>Closteroviridae,</i> (rod se treba odrediti)	18
<i>Olive vein yellowing-associated virus</i> (OVYaV)	<i>Alphaflexiviride, Potexvirus</i>	1 (Italija)
Tobacco mosaic virus (TMV)	<i>Virgaviridae, Tobamovirus</i>	1 (Italija)
Olive semilatent virus (OSLV)	trenutno neraspoređen	1 (Italija)
<i>Olive yellow mottling and decline-associated virus</i> (OYMDaV)	trenutno neraspoređen	1 (Italija)

LATENTNI VIRUS 2 MASLINE (*Olive latent virus 2, OLV-2*) njegova prisutnost utvrđena je u manjem broju zemalja (4) među kojima je i Hrvatska (Bjeliš i sur., 2007). Uskog je kruga domaćina te osim masline na kojima ne izaziva vidljive simptome utvrđen je kod ricinusa (*Ricinus communis L.*) sa simptomima žućenja žila i sistemične išaranosti listova (Grieco i sur., 2002).

LATENTNI VIRUS PRSTENASTE PJEGAVOSTI MASLINE (*Olive latent ringspot virus, OLRV*) ne pokazuje simptome prisutnost na maslini, ali pokazuje simptome na dijagnostičkim biljkama *Gomphrena globosa* (deformiranost vrhova listova i lokalne lezije oivičene crvenim rubom) *Chenopodium amaranticolor* i *C. quinoa* (vršne nekroze) na koje se prenosi mehaničkom inokulacijom. Kod maslina je glavni način prijenosa cijepljenjem.

VIRUS BLAGOG MOZAIKA MASLINE (*Olive mild mosaic virus, OMMV*) utvrđen samo u Portugalu na stablima sa simptomima blagog mozaika. Na osnovi sekvence i aminokiselinskog slijeda dijela genoma koji kodira za protein virusnog omotača utvrđena velika podudarnost s **D-virusom nekroze duhana** (*Tobacco necrosis virus D, TNV-D*) (Cardoso i sur., 2004),

ali na osnovu sekvenci drugih dijelova genoma utvrđene znatne razlike tako da danas ima status posebne vrste unutar roda *Necrovirus* (Cardoso i sur., 2005).

VIRUS POVEZAN SA PROSVJETLJAVANJEM ŽILA MASLINE (*Olive vein yellowing-associated virus*, OVYaV) prvi puta izoliran iz masline nepoznatog kultivara u blizini Rima (Fagioli i Barba, 1995) sa simptomima žućenja žila i smanjenog prinosa (slika 1.). Za sada njegova prisutnost nije utvrđena u drugim zemljama osim Italije.



Slika 1. Simptomi na listovima masline kao rezultat infekcije s OVVaV (Izvor: Caglayan i sur., 2011.)

VIRUS POVEZAN SA ŽUĆENJEM LISTOVA MASLINE (*Olive leaf yellowing-associated virus*, OLYaV) prvi puta otkriven u Italiji 1996 (Savino i sur., 1996) i spada u najrasprostranjenije viroze masline čija prisutnost je potvrđena u 18 zemalja uključujući i Hrvatsku (Bjeliš i sur., 2007). U Italiji utvrđen u više od 60% kultivara karakterističnih za jug zemlje (Faggioli i sur., 2005). Za toliku rasprostranjenost pored zaraženog sadnog materijala vjerojatno su zaslužni i vektori: maslinina buha (*Euphyllura olivina*) te neke od vrsta štitastih uši iz roda *Pseudococcus* (Sabanadzovic i sur., 1999). Na zaraženim stablima dolazi do žućenja lišća koje na vršnim dijelovima može nekrotizirati. Moguća je i defolijacija pojedinih dijelova krošnje te slabiji rast čitavih stabala.

VIRUS POVEZAN SA ŽUTIM ŠARENILOM I PROPADANJEM MASLINE (*Olive yellow mottling and decline-associated virus*, OYMDaV) drugi je virus iz skupine koja uzrokuju žućenje maslina. Karakterizira ga slabije zametanje plodova i svijetlo-žuta diskoloracija listova praćena nekrotičnim promjenama, defolijacijom i sušenjem. Pojava ovog virusa za sada je zabilježena samo u Italiji (Martelli, 1999).

POLULATENTNI VIRUS MASLINE (*Olive semilatent virus*, OSLV) za sada utvrđen samo u Italiji na stablima sa simptomima vrlo blijedog žućenja lisnih žila, no uloga virusa u opisanom oboljenju je još uvijek nejasna (Martelli, 1999).

VIRUS UVIJENOSTI LISTA TREŠNJE (*Cherry leafroll virus*, CLRV) osim masline otkriven je i u orahu, trešnji, bazgi, američkom brijestu, brezi. Osim zaraženim sadnim materijalom prenosi se i sjemenom – 41 % (Saponari i sur., 2002). Njegova prisutnost utvrđena je i u Hrvatskoj na stablima sa deformiranim listovima i plodovima (Luigi i sur., 2011), premda ovaj virus prema navodima drugih autora ne uzrokuje jasno uočljive simptome (Savino i

Gallitelli, 1981). Na male udaljenosti prenosi se nematodom *Xiphinema diversicaudatum*.

LATENTNI VIRUS PRSTENASTE PJEGAVOSTI JAGODE (Strawberry latent ringspot virus, SLRSV) rasprostranjen širom svijeta te pored masline ima vrlo širok krug domaćina (jagoda, malina, kupina, ribiz, trešnja, šljiva, breskva, vinova loza itd.). Kod masline prvi je puta izoliran 1979. iz sorte 'Corregiolo' (Savino i sur., 1979). Vrlo je čest u maslinicima središnje Italije gdje su na zaraženim stablima zabilježeni simptomi u vidu suženih i uvijenih listova, deformiranih plodova (slika 2.), žbunastog rasta i smanjenog prinosa (Faggioli i sur., 2005). Poznat je slučaj zaraze sorte 'Reggiola' zbog čega se morfološki i agronomski znatno razlikuje od sorte 'Frantoio' premda su po genetskom profilu navedene sorte gotovo identične ukazujući na činjenicu da je upravo virusna infekcija glavni razlog morfoloških razlika ove dvije sorte (Ferretti i sur., 2002). Osim cijepljenjem i zaraženim sadnim materijalom virus se prenosi i nematodom *Xiphinema diversicaudatum*, a kod pojedinih vrsta i sjemenom (Cooper, 1986). Prisutnost ovog virusa kod maslina potvrđena je i u Hrvatskoj (Bjeliš i sur., 2007.)



Slika 2. Sužene plojke listova i deformirani plodovi kao posljedica zaraze s SLRSV.
(Snimio: G. P. Martelli)

VIRUS MOZAIKA GUŠARKE (Arabis mosaic virus, ArMV) ima vrlo širok krug prirodnih domaćina (jagoda, malina, vinova loza, šećerna repa, celer, hmelj, salata, brojne korovne vrste itd.), a osim zaraženim sadnim materijalom prenosi se i nematodom *X. diversicaudatum*. Problem kod zaraženih maslina je u tome što ne pokazuju znakove infekcije (Martelli i sur., 2002).

VIRUS MOZAIKA KRASTAVCA (Cucumber mosaic virus, CMV) izrazito je širokog kruga domaćina koji između ostalog zaražava i maslinu na kojoj ne uzrokuje vidljive znakove zaraze (Savino i Galitelli, 1983). Spada u najrasprostranjenije viruse utvrđene kod masline. Prenosi se lisnim ušima, ali budući da one nisu česte na maslini nemaju većeg značaja u njegovom prijenosu. Njegova prisutnost u maslinama potvrđena je i u Hrvatskoj (Bjeliš i sur., 2007).

VIRUS MOZAIKA DUHANA (Tobacco mosaic virus, TMV) izoliran je iz stabala maslina sa simptomima prosvjetljavanja žila, promjene boje duž glavnih

žila, jake defolijacije i propadanja, ali ne postoje pouzdani dokazi koji bi ga doveli u vezu sa opisanim simptomima (Triolo i sur., 1996.). Virus ima izrazito širok krug domaćina, prenosi se mehanički, ali ovakav način prijenosa kod maslina nema većeg značaja.

DETEKCIJA

Kod viroza masline vizualna detekcija na osnovu višekratnog pregleda stabala tijekom vegetacije nema većeg značaja budući da su u većini slučajeva jasno uočljivi simptomi odsutni. Pored toga simptomi i razina njihove ekspresije jako ovisi o sortimentu: od jasno uočljivih kod jednih sorata do njihove potpune odsutnosti kod drugih sorata. Dijagnostiku dodatno komplicira i nepostojanje drvenastih diferencijalnih domaćina kojima bi se primjenom tehnike indeksiranja virusi mogli jasno i lako razlikovati jedan od drugoga. Široko rasprostranjene serološke metode (prvenstveno metoda ELISA) koje se koriste u relativno brzoj i jeftinoj dijagnostici virusa drugih kultura kod masline nisu pouzdane vjerojatno zbog velikog sadržaja tanina i oksidansa koji biljni sok čine nepogodnim za ovakav oblik testiranja (Martelli, 1999; Bertolini i sur., 2001a). Zbog navedenoga prednost se daje molekularnim metodama: RT-PCR, molekularna hibridizacija, dLRNA. Među navedenim tehnikama u najvećoj uporabi je metoda RT-PCR i njezine inačice: metoda pojačane osjetljivosti tzv. *nested*-RT-PCR (Pantaleo i sur., 2001) ili metoda *multiplex one-step* RT-PCR koja u jednom koraku omogućuje istovremenu detekciju više različitih virusa (Bertolini i sur., 2001b). Zbog svoje velike pouzdanosti u Italiji je metoda *one-step* RT-PCR uvedena kao obvezatna u sklopu certifikacijskog programa masline.

KONTROLA

Zdravstvena selekcija u okviru certifikacijskog programa kojim se proizvodi *virus-tested* sadni materijal je za sada jedina učinkovita mjera sprečavanja prijenosa viroza masline. Zahvaljujući upravo latentnim infekcijama, vizualni pregledi nisu pouzdani i moraju se nadopuniti vrlo osjetljivim i pouzdanim laboratorijskim testiranjima.

Kao i kod drugih drvenastih kultura kod visokovrijednog zaraženog materijala moguće je provesti postupak eliminacije virusa tj. ozdravljenja. Međutim, podaci o samom postupku ozdravljivanja i učinkovitoj eliminaciji virusa putem termoterapije, kulture meristema ili mikrocijepljenja su vrlo oskudni. Zbog vrlo slabog razvoja meristemskog tkiva na umjetnim hranjivim podlogama iz praktičnih razloga potrebno je uzeti veći dio vršnog dijela izboja masline (čak i do 0,5 cm dužine) čime se povećava uspješnost regeneracije, ali i vjerojatnost prijenosa virusa. Termoterapija se pokazala dobrom metodom u eliminaciji CLRV, dok se kultura vrhova mladica pokazala učinkovitom u eliminaciji s OLYaV (Bottalico i sur., 2002).

ISTRAŽIVANJA U HRVATSKOJ

Podaci o virusnim infekcijama maslina i njihovoj učestalosti u Hrvatskoj su poprilično oskudni. Tek u novije vrijeme objavnjena su dva rada vezana uz virusne infekcije, prvenstveno autohtonih sorata. Prva testiranja provedena su 2005. i 2006. na 45 uzoraka prikupljenih u komercijalnim nasadima smještenima u obalnom i otočnom području. Primjenom metode *dot-blot* hibridizacije uzorci su testirani na prisutnost 8 virusa (OLV-1, OLV-2, OLRV, OLYaV, ArMV, CMV, CLRV i SLRV). Zaraza je potvrđena u oko 25% uzoraka pri čemu su potvrđena 4 virusa: OLYaV u 10 uzoraka, SLRV - 3 uzorka, CMV - 2 uzorka te OLV-2 - 1 uzorak (Bjeliš i sur., 2007). Testiranjem 25 biljaka posađenih u sklopu Instituta za poljoprivrednu i turizam u Poreču na osam virusa (OLV-1, OLV-2, OLYaV, CLRV, SLRSV, ArMV, CMV i TNV-D) metodom RT-PCR kod šest biljaka utvrđena je prisutnost CCLRV-a i zabilježeni simptomi deformiranosti listova i plodova (Luigi i sur., 2011).

ZAKLJUČNA RAZMATRANJA

Zbog pozitivnih trendova koji u posljednje vrijeme vladaju u maslinarstvu za očekivati je povećanje površina pod maslinicima. Vrlo malo podataka o učestalosti pojave i prisutnosti viroza masline svakako će u budućnosti trebati proširiti dodatnim istraživanjima te poraditi na proizvodnji certificiranog sadnog materijala, prvenstveno naših autohtonih sorata za čiji uzgoj postoji interes i u drugim zemljama (Italija). Trenutno je proizvodnja sadnog materijala maslina propisana Pravilnikom o stavljanju na tržište reproduksijskog sadnog materijala i sadnica namijenjenih za proizvodnju voća (Anonimus, 2009) koji se gotovo u potpunosti podudara s Direktivom Vijeća Europske unije 92/34/EEC (Council Directive 92/34/EEC). Navedenim pravilnikom definira se koji patogeni ne smiju biti prisutni u sadnom materijalu u skladu s preporukama Europske i mediteranske organizacije za zaštitu bilja (EPPO/OEPP), standard PM 4/17 (2) (OEPP/EPPO, 2006). Pravilnik predviđa da najniža kategorija sadnog materijala tj. CAC (kratica od „*Conformitas Agraria Communatis*“ tj. proizведен prema „zajedničkim načelima u poljoprivredi“ europskih zemalja) mora na temelju vizualnog pregleda obavljenog od strane ovlaštenih inspekcijskih službi biti slobodan od ekonomski značajnih parazita i štetnika. Međutim, kao što je već ranije navedeno, specifičnost kod masline je da su virusne infekcije često bez vidljivih znakova. Osim toga ekspresija simptoma u velikoj se mjeri razlikuje u ovisnosti o sorti tako da vizualni pregled nema većeg značaja. I pored malobrojnih istraživanja vezanih uz pojavnost viroza maslina u Hrvatskoj njima je utvrđen određen broj *virus-tested* biljaka koje bi mogle poslužiti kao matične biljke za pokretanje proizvodnje certificiranog sadnog materijal. Također, obzirom da u literaturi nema podataka o stvarnom negativnom utjecaju viroza na masline svakako će u budućnosti, pored istraživanja njihove pojavnosti kod autohtonih sorata, biti potrebno provesti i komparativne pokuse s ciljem utvrđivanja njihovog utjecaja na rast i razvoj te kakvoću maslinovog ulja.

VIRUSES OF OLIVE TREES

SUMMARY

Olive trees can be infected with 15 different viruses, and special problem are latent infections that are very frequent. Since olive is vegetative propagated crop viruses are effectively transmitted. In the article is given short description of viruses of olive trees, symptoms they can cause, possibilities of their transmission, detection and control with special accent on their occurrence in Croatia.

Key words: viral diseases of olive trees, symptomatology, epidemiology, detection, management.

LITERATURA

Anonimus (2006). Schemes for the production of healthy plants for planting. Pathogen-tested olive trees and rootstocks. OEPP/EPPO Bulletin 36: 77-83.

Anonimus (2009). Pravilnik o stavljanju na tržište reproduksijskog sadnog materijala i sadnica namijenjenih za proizvodnju voća. Narodne Novine, službeni list Republike Hrvatske: 100.

Bertolini, E., Cambra, M., Penalver, R., Ferrer, A., Garcia, A., Del Rio, M. C., Gorris, M. T., Martinez, M. C., Quesada, J. M., Garcia De Oteyza, J., Duran-Vila, N., Caballero, J. L., Lopez, M. M. (2001a). Metodos serologicos y moleculares de diagnostico de virus y bacterias de olivo. Evaluacion de la sensibilidad varietal y la aplicacion a programas de certificacion. Merceacei Magazine 30: 1-6.

Bertolini, E., Olmod, A., Martinez, M. C., Gorris, M. T., Cambra, M. (2001b). Single-step multiplex RT-PCR for simultaneous and colourimetric detection of six RNA viruses in olive trees. Journal of Virological Methods 96: 33-41.

Bjeliš, M., Loconsole, G., Saponari, M. (2007). Nazočnost virusa u maslinicima Hrvatske, Pomologija Croatica 13 (3): 165-172.

Bottalico, G., Rodio, M. E., Saponari M., Savino, V., Martelli, G. P. (2002). Preliminary results of sanitation trials of viruses-infected olives. Journal of Plant Pathology 84: 176.

Caglayan, K., Fagioli, F., Barba, M. (2011). Viruses, Phytoplasmas, and Diseases of Unknown Etiology of Olive Trees. U: Hadidi, A., Barba, M., Candresse, T., Jelkmann, W.: Virus And Virus-like diseases of Pome and Stone Fruits. APS Press, USA: 292.

Cardoso, J. M. S., Felix, M. R., Oliveira, S., Clara, M. I. E. (2004). A *Tobacco necrosis virus D* isolate from *Olea europaea* L.: viral characterization and coat protein sequence analysis. Archives of Virology 149: 1129-1138.

Cardoso, J. M. S., Felix, M. R., Clara, M. I. E., Oliveira, S. (2005). The complete genome sequence of a new *Necrovirus* isolated from *Olea europaea* L. Archives of Virology 150: 815-823.

Cooper, J. (1986). *Strawberry latent ringspot virus*. CMI/AAB Description of Plant Viruses No. 126.

Fagioli, F., Barba, M. (1995). An elongated virus isolated from olive. Acta Horticulturae 386: 593-600.

Fagioli, F., Ferretti, L., Albanese, G., Sciarroni, R., Pasquini, G., Lumia, V., Barba, M. (2005). Distribution of olive tree viruses in Italy as revealed by one-step RT-

PCR. Journal of Plant Pathology 87 (1): 49-55.

Ferretti, L., Faggioli, G., Pasquini, G., Sciarroni, R., Pannelli, G., Baldoni, L., Barba, M. (2002). *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV) cause of differentiation among Raggiola and Frantoio olive cultivars. Journal of Plant Pathology 84: 182.

Gallitelli D., Savino V. (1985). *Olive latent virus 1*, an isometric virus with a single RNA species isolated from olive in Apulia, Southern Italy. Annals of Applied Biology 106: 295-303.

Grieco, F., Parrella, G., Volvas, C. (2002). An isolate of *Olive latent virus 2* infecting castor bean in Greece. Journal of Plant Pathology 84: 129-131.

Luigi, M., Godena, S., Đermić, E., Barba, M., Faggioli, F. (2011). Detection of viruses in olive trees in Croatian Istria, Phytopathologia Mediterranea 50: 150-153.

Martelli, G. P. (1999). Infectious diseases and certification of olive: an overview. OEPP/EPPO Bulletin 29: 127-133.

Martelli, G. P., Salerno, M., Savino, V., Prota, U. (2002). An appraisal of diseases and pathogens of olive. Acta Horticulare 586: 701-708.

Martelli, G. P. (2012). Plant Virology, ppt presentation, International joint Master Degree in Plant Medicine (IPM), "TEMPUS 4", Faculty of Agriculture, University of Bari "Aldo Moro", 27 Feb - 2 Mar, Bari, Italy, 2012.

OEPP/EPPO (2006). EPPO Standards PM 4/17 (2) Schemes for the production of healthy plants for planting. OEPP/EPPO Bulletin 36: 77-83.

Pantaleo, V., Saponari, M., Galitelli, D. (2001). Developement of a nested PCR protocol for detection of olive-infecting viruses in crude extracts. Journal of Plant Pathology 83: 143-146.

Sabanadzovic, S., Abou-Ghanem, N., La Notte, P., Savino, V., Scarito, G., Martelli, G. P. (1999). Partial molecular characterization and RT-PCR detection of putative closterovirus associated with olive leaf yellowing. Journal of Plant Pathology 81: 37-45.

Saponari, M., Savino, V., Martelli, G. P. (2002). Seed transmission in olive of two olive-infecting viruses. Journal of Plant Pathology 84: 167-168.

Savino, V., Barba, M., Galitelli, G., Martelli, G. P. (1979). Two nepoviruses isolated from olive in Italy. Phytopathologia Mediterranea 18: 135-142.

Savino, V., Galitelli, D. (1983). Isolation of *Cucumber mosaic virus* from olive in Italy. Phytopathologia Mediterranea 22: 76-77.

Savino, V., Sabanadzovic, S., Scarito, G., Laviola, C., Martelli, G. P. (1996). Two olive yellows of possible viral origin in Sicily. Informatore Fitopatologico 46: 55-59.

Triolo, E., Materazzi, A., Toni, S. (1996). An isolate of *Tobacco mosaic tobamovirus* from *Olea europaea*. Advances in Horticultural Science 10: 39-45.