



УНИВЕРЗИТЕТУ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ



# VIROZE BILJAKA

Prof. dr Ferenc Bagi

Prof. dr Stevan Jasnić

Doc. dr Dragana Budakov



# VIROZE BILJAKA

Ferenc Bagi  
Stevan Jasnić  
Dragana Budakov



Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet  
Novi Sad, 2016

## **EDICIJA OSNOVNI UDŽBENIK**

### **Osnivač i izdavač edicije**

*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet  
Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad*

**Godina osnivanja  
1954.**

### **Glavni i odgovorni urednik edicije**

**Dr Nedeljko Tica, redovni profesor**  
*Dekan Poljoprivrednog fakulteta*

### **Članovi komisije za izdavačku delatnost**

**Dr Ljiljana Nešić, vanredni profesor – predsednik**  
**Dr Branislav Vlahović, redovni profesor – član**  
**Dr Milica Rajić, redovni profesor – član**  
**Dr Nada Plavša, vanredni profesor – član**

**Autori**

**dr Ferenc Bagi, vanredni profesor**  
**dr Stevan Jasnić, redovni profesor**  
**dr Dragana Budakov, docent**

**Glavni i odgovorni urednik**

**Dr Nedeljko Tica, redovni profesor**  
*Dekan Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu*

**Urednik**

**Dr Vera Stojšin, redovni profesor**  
*Direktor departmana za fitomedicinu i zaštitu životne sredine*

**Recenzenti**

**Dr Vera Stojšin, redovni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet**  
**Dr Mira Starović, naučni savetnik, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd**

**Grafički dizajn korice**

**Lea Bagi**

**Izdavač**

**Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad**

Zabranjeno preštampanje i fotokopiranje. Sva prava zadržava izdavač.

ISBN 978-86-7520-372-8

Štampanje ovog udžbenika odobrilo je Nastavno-naučno veće Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu na sednici od 11. 07. 2016.godine.

Broj odluke 1000/0102-797/9/1

Tiraž: 20

Mesto i godina štampanja: Novi Sad, 2016.

CIP - Каталогизација у публикацији

Библиотека Матице српске, Нови Сад

632.3(075.8)

**БАГИ, Ференц**

Viroze biljaka / Ferenc Bagi, Stevan Jasnić, Dragana Budakov. - Novi Sad : Poljoprivredni fakultet, 2016 (Beograd : Donat graf). - 408 str. : ilustr. ; 30 cm. - (Edicija Osnovni udžbenik / Poljoprivredni fakultet, Novi Sad)

Tiraž 20. - Bibliografija.

ISBN 978-86-7520-372-8

1. Јаснић, Стеван [аутор] 2. Будаков, Драгана [аутор]

а) Биљке - Болести - Вирозе

COBISS.SR-ID 308463111

## **Predgovor**

Izdavanje ovog udžbenika smo planirali i osmišljavali već duže vreme, a ukupno vreme planiranja i sam rad na udžbeniku je trajao i duže nego što smo želeli. Poslednji udžbenici viroza biljaka na srpskom jeziku su napisani dosta davno, naročito kada se uzme u obzir brzina novih naučnih saznanja u oblasti biljne virusologije. Relativno dugo vreme pisanja udžbenika je rezultat i želje autora da se obuhvati što više literaturnih izvora i informacija, i da se oni prikažu na jasan način studentima poljoprivrede i svim drugim zainteresovanim za datu oblast. Za pisanje udžbenika Viroze biljaka je svakako potrebna i hrabrost, koja se odnosi na osećaj odgovornosti prenošenja tačnih i pravih informacija primerenih nivou studija. Za postizanje takve ravnoteže i ohrabrenje se zahvaljujemo recenzentima i svim kolegama koji su savetima i podrškom potpomogli pripremu ovog udžbenika. Sledeći naš cilj, odnosno želja je bila da se napiše knjiga koja je zanimljiva za sve zaljubljenike u fitopatologiju. Iako se radi o preciznoj biološkoj disciplini, virusi, kao zagonetni patogeni skrivaju puno tajni, koji se mogu otkriti samo maštovitim pristupom eksperimentalnog naučnog rada. Trudili smo se da ovaj udžbenik ne bude faktografski spisak podataka u ovoj oblasti, nego da odškrine vrata (još uvek u značajnoj meri) tajnog sveta virusologije i probudi znatiželju čitaoca.

Pisanje izdanja ovog tipa se može raditi u nedogled, pošto nakon svakog novog čitanja se javljaju nove ideje i dopune. I zbog toga smatramo da smo tačku na ovu knjigu stavili samo privremeno, i da je ova knjiga samo prvo izdanje na kojem će se kontinuirano dalje raditi.

**Autori**

<i>OPŠTA BILJNA VIRUSOLOGIJA</i> .....	1
I. ISTORIJSKI RAZVOJ ISTRAŽIVANJA BILJNIH VIRUSA (Jasnić, S.) .....	1
II. EKONOMSKI ZNAČAJ BILJNIH VIROZA (Jasnić, S.) .....	7
Uvod .....	7
Štetnost viroza u zavisnosti od regiona (lokaliteta) .....	8
Štetnost viroza u zavisnosti od biljne vrste (useva) .....	8
Uticaj drugih faktora na štetnost viroza .....	10
Sortiment.....	10
Sojevi virusa.....	10
Mešovita zaraza biljaka virusima .....	11
Prisutnost i aktivnost vektora virusa .....	11
Vreme zaraze i starost biljaka .....	11
Prisutnost drugih parazita .....	11
Uticaj viroza na kvalitet biljnih proizvoda .....	12
Indirektne štete od viroza .....	12
Procena štetnosti viroza .....	13
III. PATOLOŠKE PROMENE VIROZNIH BILJAKA (Jasnić, S.).....	14
Patocitološke promene .....	14
Strukturne promene .....	14
Promene veličine i oblika ćelija i promene ćelijskih zidova .....	14
Patološke promene ćelijskih organela .....	15
Virusne ćelijske inkluzije .....	18
Patohistološke promene.....	22
Histogene promene.....	23
Histotrofične promene .....	24
Neoplazmatične (neoplastične) promene.....	25
Metaplazmatske promene .....	25
Strukturne promene .....	26
Nekrogene promene .....	26
Patofiziološke promene .....	26
Promene u fotosintezi .....	27
Promene u respiraciji.....	27
Promene u proteosintezi .....	28
Makroskopske promene viroznih biljaka-simptomi oboljenja (Budakov, D.) .....	28
Lokalni simptomi .....	29
Sistemični simptomi .....	30
IV. HEMIJSKE OSOBINE VIRUSA (Jasnić, S.) .....	35
Hemijski sastav virusa.....	35
Osnovni hemijski elementi sastojci virusa .....	35
Hemijska jedinjenja u sastavu virusa .....	35
Nukleinske kiseline .....	36
Proteini.....	43
Ostali hemijski sastojci biljnih virusa.....	46
Poliamini.....	46
Lipidi i ugljeni hidrati.....	46

Joni metala .....	47
Voda.....	47
V. GRAĐA VIRUSA (Jasnić, S.) .....	48
Veličina virusnih čestica .....	48
Oblik virusnih čestica .....	49
Izduženi virusi .....	51
Izometrijski virusi.....	51
Građa (struktura) virusnih čestica .....	52
Građa izduženih virusa .....	54
Građa izometrijskih virusa .....	57
Građa kompleksnih virusnih čestica.....	77
Višedelni ili multikomponentni virusi .....	82
VI Fizičke i biofizičke osobine virusa (Budakov, D.).....	85
Fizičke osobine virusa .....	85
Hidrodinamičke osobine .....	85
Elektroforetske osobine .....	86
Optičke osobine.....	87
Elektonska mikroskopija virusa .....	87
Biofizičke osobine virusa (Bagi, F.).....	89
Termalna tačka inaktivacije .....	89
Krajnja tačka razređenja .....	89
Trajanje infektivnosti virusa in vitro .....	90
VII Antigene osobine virusa (Bagi, F.) .....	91
Imuni odgovor.....	91
Antitela .....	92
Epitopi.....	92
Proizvodnja poliklonskih antitela .....	92
Proizvodnja monoklonskih antitela .....	93
VIII Metode detekcije biljnih virusa (Bagi, F.) .....	94
Primena biotestova u detekciji biljnih virusa .....	94
Metode detekcije na osnovu specifičnosti proteinskog omotača virusa.....	95
Test precipitacije i aglutinacije .....	95
Enzimski imunoadsorbcioni test – ELISA test na ploči (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA).....	95
Imunoenzimska metoda na papiru (Dot immunoblotting assay, DIBA) .....	96
Metode detekcije na osnovu nukleinske kiseline virusa.....	96
Hibridizacija nukleinske kiseline .....	96
Lančana reakcija polimerizacije (Polymerase chain reaction, PCR).....	97
RFLP .....	97
Druge metode identifikacije.....	97
IX Umnožavanje virusa (Jasnić, S.) .....	99
Opšte osobine genoma biljnih virusa .....	99
Infektivnost virusnih nukleinskih kiselina .....	100
Informacioni sadržaj virusnih nukleinskih kiselina.....	100
Prepisivanje preko mRNK .....	102
Strategija subgenomske RNK (SgRNK).....	104

Strategija poliproteina .....	104
Strategija višedelnih (multikomponentalnih) genoma.....	105
Strategija u kojoj proteini nastaju prenošenem (transvertovanem) otvorenog okvira čitanja (ORF).....	105
Sinteza proteina.....	107
Funkcije produkata virusnih gena .....	107
Strukturni proteini .....	107
Funkcionalni proteini.....	107
Nekodirajući regioni na genomu virusa .....	110
Strukture 5' i 3' krajeva ribonukleinske kiseline (RNK) sa ss(+) RNK genomom .....	110
Intergenski regioni.....	111
Upravljanje i kontrolisanje translacije (prevođenja) u proteine kod biljnih virusa.....	114
Ribonukleinske kiseline sa kapom pri 5' kraju i bez poliadenilnog repa na 3' kraju mRNK.....	115
RNK sa poliadenilnim repom na 3' kraju, ali ne i sa kapom na 5' kraju mRNK .....	115
RNK bez kape na 5' kraju i bez poliadenilnog repa na 3' kraju mRNK.....	115
Uopšten pregled umnožavanja biljnih virusa .....	116
Funkcije biljke domaćina korišćene od strane biljnih virusa za replikaciju .....	116
Replikacija biljnih virusa .....	117
Umnožavanje nukleinskih kiselina biljnih virusa .....	122
Umnožavanje genoma virusa sa jednospiralnom RNK sa negativnim predznakom ss(-)RNK .....	123
Umnožavanje genoma virusa sa dvospiralnom RNK (dsRNK) .....	123
Umnožavanje genoma virusa sa dvolančanom (dvospiralnom) DNK (dsDNK).....	124
Umnožavanje genoma virusa sa jednolančanim DNK (ss DNK) .....	125
Organizacija i ispoljavanje genoma biljnih virusa i njihovo umnožavanje.....	126
Umnožavanje virusa sa pozitivnim jednolančanim RNK genomom (ss (+) RNK).....	126
Umnožavanje virusa sa negativnom jednospiralnom (jednolančanom) ribonukleinskom kiselinom (ss (-) RNK) .....	144
Umnožavanje virusa sa dvolančanim (dvospiralnim) RNK (dsRNK) .....	148
Umnožavanje virusa sa dvolančanom dezoksiribonukleinskom kiselinom (ds DNK) .	150
Umnožavanje virusa sa jednolančanom (jednospiralnom) DNK (ssDNK).....	155
X Ekologija i epidemiologija biljnih virusa (Bagi, F.).....	160
Izvori virusnih infekcija .....	160
Načini prenošenja virusa .....	160
Prenošenje virusa bez životinjskog vektora.....	160
Prenošenje kalemljenjem .....	160
Mehaničko prenošenje.....	161
Prenošenje vegetativnim organima biljaka .....	161
Prenošenje semenom i polenom.....	162
Prenošenje preko korena biljaka i biljnih ostataka u zemljištu .....	162
Prenošenje gljivama i gljivolikim organizmima .....	163
Prenošenje vilinom kosicom .....	163
Prenošenje vodom .....	164
Prenošenje životinjskim vektorima .....	164
Prenošenje virusa insektima.....	164



Značaj proteinskog omotača u prenošenju biljnih virusa insektima .....	165
Značaj Helper-komponente (HC) u prenošenju biljnih virusa insektima .....	166
Prenošenje biljnih virusa lisnim vašima .....	166
Prenošenje biljnih virusa cikadama .....	167
Prenošenje biljnih virusa leptirastim vašima.....	167
Prenošenje biljnih virusa tripsima .....	168
Prenošenje biljnih virusa štitastim vašima .....	168
Prenošenje biljnih virusa stenicama .....	168
Prenošenje biljnih virusa tvrdokrilcima .....	169
Prenošenje biljnih virusa dvokrilcima .....	169
Prenošenje biljnih virusa pravokrilcima .....	169
Prenošenje biljnih virusa drugim insektima.....	169
Prenošenje biljnih virusa nematodama .....	170
Prenošenje biljnih virusa grinjama .....	170
Uticaj ekoloških činilaca na epidemiologiju biljnih virusa .....	171
Uticaj temperature na epidemiologiju biljnih virusa .....	171
Uticaj vlažnosti na epidemiologiju biljnih virusa.....	172
Uticaj vetra na epidemiologiju biljnih virusa.....	173
Uticaj zemljišta i ishrane biljaka na epidemiologiju biljnih virusa .....	173
Uticaj svetlosti na epidemiologiju biljnih virusa.....	174
XI Nomenklatura i klasifikacija biljnih virusa (Bagi, F.).....	175
Istorijski pregled nomenklature i klasifikacije.....	175
Međunarodni komitet za taksonomiju virusa – ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) .....	176
Kriterijumi za klasifikaciju virusa .....	178
Principi i pravila nomenklature i klasifikacije virusa .....	179
Red virusa .....	179
Familija virusa.....	179
Podfamilija virusa.....	180
Rod virusa .....	180
Vrsta virusa .....	180
Imena taksona viroida.....	180
Pravila pisanja imena taksona .....	181
Decimalni kodovi u taksonomiji virusa .....	181
Redovi, familije i rodovi biljnih virusa .....	181
Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa dvospiralnom RNK .....	182
Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa jednospiralnom pozitivnom (+) RNK .....	183
Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa jednospiralnom negativnom (-) RNK .....	190
Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa dvospiralnom DNK.....	191
Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa jednospiralnom DNK .....	192
Familije i rodovi biljnih viroida .....	194
XII Osnovne mere suzbijanja viroza biljaka (Bagi, F.).....	195
Primena sertifikacionih programa/šema za proizvodnju bezvirusnog sadnog/semenskog materijala .....	195
Termoterapija .....	197
Kultura meristema .....	198

Hemoterapija .....	198
Elektroterapija .....	199
Krioterapija .....	199
Fitosanitarne mere u sprečavanju virusnih infekcija.....	199
Uništavanje samoniklih biljaka .....	200
Uništavanje biljnih ostataka.....	200
Uništavanje zaraženih biljaka tokom vegetacije .....	200
Dezinfekcijske mere .....	201
Agrotehničke mere u prevenciji virusnih zaraza .....	202
Izbegavanje zaraze .....	202
Uticaj veličine parcele i gustine sklopa biljaka.....	203
Suzbijanje korova.....	203
Plodored i ishrana biljaka .....	204
Druge agrotehničke mere u cilju sprečavanja virusnih zaraza.....	204
Unakrsna zaštita i zaštita satelitnim virusom.....	205
Mere protiv vektora biljnih virusa .....	206
Nepesticidne mere protiv vektora biljnih virusa .....	206
Pesticidne mere protiv vektora biljnih virusa .....	207
Karantinske mere za sprečavanje širenja virusnih zaraza .....	208
Mera eradikacije.....	209
Oplemenjivanje biljaka tradicionalnim metodama .....	209
Otpornost prema ostvarenju infekcija .....	210
Otpornost kao rezultat sprečavanja razvoja oboljenja.....	210
Otpornost putem stvaranja hipersenzibilne reakcije .....	210
Tolerantnost .....	211
Vegetativna otpornost.....	211
Transgena otpornost biljaka prema virusnim oboljenjima .....	211
Gajene biljaka sa transgenom otpornošću prema fitopatogenim virusima .....	212
<b>XIII POSEBNA BILJNA VIRUSOLOGIJA (Bagi, F.).....</b>	<b>214</b>
Ekonomski značajniji biljni virusi čiji je genom sačinjen od dvospiralne RNK.....	214
Virus hrapave patuljivosti kukuruza (Maize rough dwarf virus, MRDV).....	214
Virus tumoralnih rana (Wound tumor virus, WTV) .....	215
Ekonomski značajniji biljni virusi čiji je genom sačinjen od jednospiralne pozitivne (+) RNK .....	216
X virus krompira (Potato virus X, PVX).....	216
Pepino mozaik virus (Pepino mosaic virus, PepMV) .....	217
Virus brazdavosti stabla jabuke (Apple stem grooving virus, ASGV) .....	218
Virus naboranosti borovnice (Blueberry scorch virus, BlScV) .....	220
M virus krompira (Potato virus M, PVM).....	221
S virus krompira (Potato virus S, PVS).....	222
Virus mozaika hmelja (Hop mosaic virus, HpMV) .....	222
Virus mozaika nerava crvene deteline (Red clover vein mosaic virus, RCVMV) .....	223
Virus jamičavosti stabla jabuke (Apple stem pitting virus (ASPV) .....	224
Virus hlorotične lisne pegavosti jabuke (Apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV).....	226
Virus šarenila lista trešnje (Cherry mottle leaf virus, CMLV) .....	227
Virus mozaika breskve (Peach mosaic virus, PcMV) .....	228

A virus vinove loze (Grapevine virus A, GVA) .....	229
Virus mrljivosti vinove loze (Grapevine fleck virus, GFkV).....	231
Virus žutog mozaika postrne repe (Turnip yellow mosaic virus, TYMV).....	232
Virus mozaika stočnog graška (Cowpea mosaic virus, CPMV) .....	234
Virus mozaika tikve (Squash mosaic virus, SqMV) .....	235
Virus šarenila mahuna pasulja (Bean pod mottle virus, BPMV) .....	236
Virus prstenaste pegavosti duvana (Tobacco ringspot virus, TRSV) .....	237
Virus crne prstenaste pegavosti paradajza (Tomato black ring virus, TBRV) .....	239
Virus prstenaste pegavosti maline (Raspberry ringspot virus, RpRSV) .....	240
Virus šarenila lista borovnice (Blueberry leaf mottle virus, BLMoV).....	242
Virus rozetastog mozaika breskve (Peach rosette mosaic virus, PRMV) .....	243
Virus infektivne degeneracije vinove loze (Grapevine fanleaf virus, GFLV).....	244
Virus mozaika gušarke (Arabis mosaic virus, ArMV).....	245
Virus uvijenosti lišća trešnje (Cherry leaf roll virus, CLRV).....	246
Virus prstenaste pegavosti paradajza (Tomato ringspot virus, ToRSV) .....	248
Virus zupčavosti lista trešnje (Cherry rasp leaf virus, CRLV) .....	249
Torrado virus paradajza (Tomato torrado virus, ToTV).....	250
Virus nekroze crne maline (Black raspberry necrosis virus, BRNV) .....	251
Virus latentne prstenaste pegavosti jagode (Strawberry latent ringspot virus, SLRSV)...	252
Virus nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (Beet necrotic yellow vein virus, BNYVV)	
.....	253
Virus mozaika lucerke (Alfalfa mosaic virus, AMV) .....	256
Virus mozaika ovsike (Brome mosaic virus, BMV) .....	258
Virus mozaika krastavca (Cucumber mosaic virus, CMV) .....	259
Virus kržljivosti šljive (Prune dwarf virus, PDV) .....	263
Linijski mozaik šljive (American plum line pattern virus).....	264
Virus mozaika jabuke (Apple mosaic virus, ApMV).....	265
Virus nekrotične prstenaste pegavosti koštičavog voća (Prunus necrotic ring spot virus, PNRSV) .....	267
Kompleks vrsta virusa uvijenosti vinove loze (Grapevine leafroll-associated virus-es) ..	268
Virus žutice šećerne repe (Beet yellows virus, BYV).....	271
Virus tristeza citrusa (Citrus tristeza virus, CTV).....	272
Virus zarazne žutice salate (Lettuce infectious yellows virus, LIYV) .....	273
Virus hloroze paradajza (Tomato chlorosis virus, ToCV).....	275
Virus enacijskog mozaika graška 1 (Pea enation mosaic virus 1, PEMV-1) .....	276
Kompleks vrsta virusa žute patuljivosti ječma (Barley yellow dwarf virus, BYDV) .....	277
Virus uvijenosti lišća krompira (Potato leafroll virus, PLRV) .....	279
Virus crtičastog mozaika krompira - Y virus krompira (Potato virus Y, PVY) .....	281
Virus običnog mozaika pasulja (Bean common mosaic virus, BCMV).....	284
Virus žutog mozaika pasulja (Bean yellow mosaic virus, BYMV) .....	285
Virus mozaika šećerne repe (Beet mosaic virus, BtMV) .....	286
Virus mozaika salate (Lettuce mosaic virus, LMV).....	287
Virus mozaične kržljivosti kukuruza (Maize dwarf mosaic virus MDMV) .....	288
Virus žute patuljivosti crnog luka (Onion yellow dwarf virus OYDV) .....	290
Virus prenošljiv semenom graška (Pea seed-borne mosaic virus, PSbMV).....	291
A virus krompira (Potato virus A, PVA) .....	292

Virus mozaika soje (Soybean mosaic virus, SMV) .....	293
Virus mozaika lubenice (Watermelon mosaic virus, WMV) .....	294
Virus šarke šljive (Plum pox virus, PPV).....	296
Virus žutog mozaika cukinija (Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV) .....	299
Virus crtičastog mozaika pšenice (Wheat streak mosaic virus, WSMV).....	300
Virus šarenila mrkve (Carrot mottle virus, CMoV) .....	302
Virus prugastog mozaika ječma (Barley stripe mosaic virus, BSMV) .....	303
Virus mozaika duvana (Tobacco mosaic virus, TMV) .....	304
Virus zelenog šarenila krastavca (Cucumber green mottle mosaic virus, CGMMV).....	308
Virus šuštavosti duvana (Tobacco rattle virus, TRV) .....	309
Ekonomski značajniji biljni virusi čiji je genom sačinjen od jednospiralne negativne (-) RNK .....	310
Virus nekrotičnog žutila salate (Lettuce necrotic yellows virus, LNYV) .....	310
Virus kovrdžavosti jagode (Strawberry crinkle virus, SCV).....	311
Virus žute kržljivosti krompira (Potato yellow dwarf virus, PYDV).....	312
Virus bronzavosti paradajza (Tomato spotted wilt virus, TSWV).....	314
Virus žute pegavosti irisa (Iris yellow spot virus, IYSV) .....	316
Virus nekrotične pegavosti impatenta (Impatiens necrotic spot virus, INSV) .....	318
Ekonomski značajniji biljni virusi čiji je genom sačinjen od dvospiralne DNK.....	319
Virus mozaika karfiola (Cauliflower mosaic virus, CaMV) .....	319
Ekonomski značajniji biljni virusi čiji je genom sačinjen od jednospiralne DNK.....	320
Virus žute kovrdžavosti lista paradajza (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) .....	320
Virus kovrdžavosti vrha šećerne repe (Beet curly top virus, BCTV) .....	322
Ekonomski značajniji viroidi.....	324
Latentni viroid breskve (Peach latent mosaic viroid, PLMVd ) .....	324
Viroid ožiljaka pokožice jabuke (Apple scar skin viroid, ASSVd) .....	325
Viroid vretenavosti krtola krompira (Potato spindle tuber viroid, PSTVd) .....	326
Literatura .....	329



## OPŠTA BILJNA VIRUSOLOGIJA

### I. ISTORIJSKI RAZVOJ ISTRAŽIVANJA BILJNIH VIRUSA (JASNIĆ, S.)

O virusima kao prouzrokovateljima biljnih oboljenja do pre stotinak godina nije se ništa znalo. Simptomi i štete prouzrokovane virusima pripisivane su drugim mikroorganizmima ili nekim neparazitnim činiocima. Sigurno je da su virozna oboljenja postojala mnogo pre nego što je otkrivena njihova priroda.

Među najstarije podatke o virusima spada opis simptoma besnila pasa, za koje se danas zna da ga prouzrokuje virus, a koje pominje Aristotel u četvrtom veku pre Hrista. Pored toga epidemije velikih boginja i druge bolesti za koje se danas zna da ih prouzrokuju virusi, pominju se u desetom veku pre Hrista u Kini. Nadalje na crtežima starih Egipćana vidi se da su ljudi u to doba bolovali od dečje paralize, oboljenja prouzrokovano poliovirusom.

Prvo pouzdano svedočanstvo o postojanju biljnih virusa je detaljan opis prugastog šarenila cvetova lala, koji je publikovan 1576. godine od strane Charles de l' Ecluse (Carolius Clusius na latinskom). U zapadnoj Evropi u periodu između 1600. i 1660. godine čitav niz slikara „mrtve prirode“ slikao je cvetove lala sa simptomima virusnog oboljenja. Oni su prikazivali šarene cvetove lala, zaražene kako je danas poznato, virusom mozaika lale, odnosno virusom šarenila cvetova lala, koji je otkriven 1928. godine. Virozne bolesti krompira poznate pod imenom „degeneracija krompira“ zapažene su 1757. godine u Evropi, mada se u to vreme nije znalo da su prouzrokovane virusima.

Jedan od najranijih opisanih ogleđa o prenošenju virusa potiče od botaničara Lawrence-a iz 1714. godine. On je detaljno opisao prenošenje viroze jasmína pomoću kalemljenja. Cilj ovih ispitivanja je bio da se kroz ovaj eksperiment dokaže da biljni sok mora da teče unutar biljke. Lawrence je i neznajući o čemu se radi, uspeo da utvrdi da se virusi prenose kalemljenjem, što je danas opšte poznata činjenica.

Krajem devetnaestog veka pojavljuje se ideja o infektivnim bolestima biljaka, koje mogu da prouzrokuju mikroorganizmi. U to vreme otkrivaju se filteri, koji sprečavaju prolaz do tada poznatih, prouzrokovaca bolesti bakterija.

Adolf Mayer 1886. godine opisuje jedno oboljenje duvana koje je nazvao „Mosaik Krankheit“, odnosno „Mozaik duvana“, a za koje se danas zna da ga prouzrokuje virus mozaika duvana. On je uspeo da sokom izdvojenim iz zaražene biljke duvana prouzrokuje slične simptome na zdravim biljkama duvana, tj. prvi izvrši veštačku zarazu biljaka jednim virusom. Dve godine kasnije, 1888. godine, Amerikanac Erwin F. Smith pokušao je da sledi Mayera i da prenese uzročnika oboljenja žutice bresaka, sokom zaraženih biljaka. Pošto prenošenje sokom nije uspelo, Smith je izvršio kalemljenje pupoljaka sa zaraženih stabala na zdrava stabla i konstatovao da se uzročnik žutice breskve uspešno prenosi kalemljenjem. Smith je otkrio i neznajući u to vreme najsigurniji način pomoću koga se sve bolesti prouzrokovane virusima mogu preneti sa zaraženih na zdrave biljke.

Ruski botaničar Dmitrij Ivanovski, samo 6 godina kasnije (1894), proučavajući uzročnika oboljenja mozaika duvana, kojeg je većina naučnika do tada svrstavala u bakterije, došao je do značajnog otkrića. Propuštajući sok zaražene biljke duvana kroz Pasteur-

Chambarlain-ov filter, uspeo je da dobije bakteriološki sterilan sok, pošto ovaj filter ne propušta bakterije i druge veće mikroorganizme. On je utvrdio da filtriran sok ostaje i dalje infektivan, prouzrokujući simptome na zdravim biljkama. Na osnovu ovog ogleada i tadašnjih saznanja zaključio je da su prouzrokovači mozaika duvana *toksini bakterija*, prisutni u filtriranom soku.

Ovo otkriće ostalo je nezapaženo sve dok ovaj eksperiment nije ponovljen nekoliko godina kasnije od strane Holandanina Martinus William Beijerinck-a (1898). On je potvrdio kao i Ivanovski da uzročnik mozaika duvana može da prolazi kroz porculanski filter koji ne propušta bakterije. Na osnovu dobijenih rezultata Beijerinck je došao do značajnog zaključka da prouzrokovač oboljenja duvana ne može biti bakterija, već je u pitanju tečni zarazni uzročnik, nazvan *contagium vivum fluidum* (zarazna živa tečnost).

Beijerinck je prvi konstatovao da uzročnici oboljenja nisu bakterije, nego drugi infektivni agensi, te ga mnogi smatraju osnivačem nauke o virusima. U zaključku Beijerincka mogu se uočiti dve osnovne činjenice, za koje se pokazalo da imaju revolucionarni značaj u virusologiji i biologiji uopšte.

*Prva je ta što je odbacio dotle vladajuće mišljenje da su bakterije prouzrokovači mozaika duvana, a druga je u tome što je konstatovao da infektivan uzročnik mozaika nije telesne građe, već se nalazi u suspenziji infektivnog biljnog soka, i nazvao ga "contagium vivum fluidum (zarazna živa tečnost).*

Beijerinck i Bayer su 1904. prvi put uveli i termin "*virus*" i primenili ga u opisivanju uzročnika obolenja šarenila *Abutilon* sp. da bi istakli i naglasili razliku između ovog agensa i bakterija. Naziv "*virus*" je bio korišćen ranije od strane nekih istraživača kao sinonim za bakterije. Međutim, otkrivanjem nepoznatih prouzrokovača bolesti, sličnih po simptomima bakterijama, većina istraživača je nazvala ove prouzrokovače „filtrabilnim virusom“, zbog činjenice da prolaze kroz filtere koji ne propuštaju bakterije. Naziv virus se i danas zadržao za ove prouzrokovače oboljenja.

Između 1900. godine i 1935. niz naučnika je nastavilo rad na istraživanju virusa. Njihova proučavanja su se uglavnom odnosila na utvrđivanje i opisivanje simptoma obolenja prouzrokovanih virusima, kao i na proučavanju epidemiologije tj. načina prenošenja virusa. Oni su opisivali kako makroskopske simptome, tako i citološke promene, uočene pomoću svetlosnog mikroskopa u ćelijama zaraženih biljaka. Pored toga proučavane su biljke domaćini virusa, načini prenošenja, uticaj različitih fizičkih i hemijskih agenasa na infektivnost virusa i dr. Značajan korak u izučavanju virusa bilo je otkriće da se neki virusi mogu prenositi sa biljke na biljku pomoću insekata. Tako je Takami (1901) utvrdio prenošenje virusa kržljivosti pirinča cikadom *Nephotettix cincticeps*, a Smith i Bonquet 1915. godine su utvrdili da insekti mogu biti vektori virusa. Oni su naime dokazali da se virusno oboljenje šećerne repe poznato pod nazivom „kržljivost vrha šećerne repe“ prenosi sa obolelih na zdrave biljke cikadom *Eutettix tenella*. Kasnije je utvrđen i čitav niz drugih vektora virusa. Tako je Botjes (1920) saopštio o prenošenju virusa uvijenosti lišća krompira pomoću zelene breskvine lisne vaši *Myzus persicae*. Mnogobrojna istraživanja su kasnije pokazala značajnu ulogu velikog broja različitih vrsta insekata kao vektora virusa. Pored insekata kasnije su kao vektori otkrivene i druge grupe organizama, kao što su grinje, nematode i gljive.

Smith (1931) uvodi na osnovu saznanja o mogućnosti prenošenja virusa insektima biološke metode razdvajanja virusa u mešovitim zarazama biljaka. On je utvrdio da su mnoge viroze krompira prouzrokovane sa dva virusa, koji imaju različite karakteristike. Ove viruse

je nazvao X i Y virus krompira. Virus X se nije prenosio lisnom vaši *Myzus persicae*, za razliku od Y virusa, kojeg je ova vaš uspešno prenosila na zdrave biljke krompira. Na bazi ovih osobina Smith je uspeo da razdvoji X i Y virus u mešanim zarazama krompira. Oba su se uspešno prenosila sokom zaraženih biljaka. Slično biološko razdvajanje ovih virusa izvršio je Smith koristeći rezistetne biljke iz porodice *Solanaceae* prema Y virusu krompira. Fukushi (1940) je takođe utvrdio da se virus kržljivosi pirinča (*Rice dwarf virus*) može prenositi preko jaja vektorske cikade *Nephotettix cincticeps* kroz veći broj generacija ovog insekta. Ovaj autor je otkrio da se neki virusi mogu da umnožavaju istovremeno, kako u biljkama, tako i u insektima vektorima virusa. Danas je opšte poznata činjenica da se biljni virusi iz familija *Rhabdoviridae* i *Reoviridae* i rodova *Tenuivirus*, *Tospovirus* i *Marafivirus* umnožavaju u svojim vektorima, kao i u biljkama domaćinima.

Jedno od značajnih otkrića u pogledu hemijskih karakteristika virusa je učinio Beale (1928), koji je otkrio antigena svojstva virusa mozaika duvana. Gratia je 1933. godine otišao korak dalje i ustanovio da biljke zaražene različitim virusima sadrže različite antigene. Tri godine kasnije Chester (1936) je dokazao da različiti sojevi virusa mozaika duvana i X virusa krompira sadrže različite antigene, dajući različite serološke reakcije. On je prvi izradio serološku klasifikaciju virusa. Navedena proučavanja, iako su doprinela boljem poznavanju virusa, kao parazita biljaka, ne otkrivaju glavne osobine virusa, tj. njihov hemijski sastav, veličinu, oblik, način umnožavanja i dr.

Visoka koncentracija pojedinih virusa u zaraženim biljkama i njihova relativna stabilnost su se pokazale od ogromnog značaja u prvim izdvajanjima virusa i proučavanju njihovih hemijskih osobina. Metode dvadesetih godina prošlog veka za izdvajanje i prečišćavanje proteina su bile veoma slabo razvijene. Prvi protein, koji je izolovan u kristalnom obliku 1926. godine je bio enzim ureaza (Sumner, 1926). Izdvajanje drugih proteina je nastavljeno početkom tridesetih godina 20. veka, a učinjeni su i pokušaji izdvajanja i prečišćavanja biljnih virusa, korišćenjem sličnih metoda. Tako je 1935. godine Stanley, radeći u SAD, korišćenjem ovih metoda za izdvajanje proteina, uspeo da izoluje virus mozaika duvana u obliku finih iglica parakristala. On je tom prilikom utvrdio da se virus mozaika duvana sastoji od proteina (belančevina), ali nije uspeo da konstatuje i prisustvo nukleinske kiseline. Ovo značajno otkriće donelo je Stanley-u Nobelovu nagradu.

Englezi Bawden i Pirie (1936) su utvrdili da pored proteina virus mozaika duvana sadrži i nukleinsku kiselinu pentoznog tipa RNK (ribonukleinsku kiselinu) te prema tome predstavlja nukleoprotein. Kasnija istraživanja mnogih naučnika potvrdila su činjenicu da najveći broj biljnih virusa se sastoji iz proteina i ribonukleinske kiseline. Značajno otkriće od strane Markham-a i Smith-a (1949) je podatak da je za infektivnost virusa potrebna nukleinska kiselina.

O obliku i veličini virusa se skoro nije ništa znalo, sem da su to veoma male čestice, koje se ne mogu da vide običnim svetlosnim mikroskopom. Elford je bio među prvima (1931) kome je uspelo da pomoću kolodijumskih membrana sa porama određene širine, razradi osnovu za određivanje veličine nekoliko vrsta virusa. Takahashi i Rawlins iznose prve rezultate 1932 godine, koristeći se metodom optičke difrakcije (prelamanje svetlosti), da su čestice virusa mozaika duvana u obliku dugih tankih štapića.

Elektronska mikroskopija i rengenska kristalografija bile su glavne novouvedene tehnike, korišćene u prvim istraživanjima za otkrivanje oblika, veličine i strukture virusa. Kausche, Pfankuch i Ruska (1939) služeći se novopronađenom metodom elektronske mikroskopije, dobili su prvi sliku virusa mozaika duvana, potvrđujući ranije rezultate da je



virus u obliku štapića. Oni su približno utvrdili njegove dimenzije dužinu od oko 300 nm, i širinu oko 16 nm. Usavršavanje elektronske mikroskopije na bazi tehnike senčenja pomoću teških metala (paladijum zlato) od strane Müllera-a (1942) i Williams-a i Wycoff-a (1944) je omogućilo mnogo preciznije određivanje veličine i oblika čitavog niza virusa. Daljim razvojem mogućnosti uvećanja elektronskog mikroskopa i primene nove tehnike negativnog bojenja doveli su pedesetih godina 20. veka do značajnih saznanja o strukturi i substrukturi virusnih čestica. Kao najznačajnije dostignuće u ovom periodu istakli bismo određivanje hemijske građe virusa do molekuskog sastava i određivanje oblika i građe virusa. Proučavajući virus žutog mozaika postrne repe Markham (1951) je utvrdio da se ribonukleinska kiselina virusa nalazi unutar jedne proteinske školjke, koje predstavlja omotač virusa. Korišćenjem metode rengenske kristalografije ista takva građa potvrđena je i kod drugih virusa, gde je utvrđeno da RNK ili DNK su u sastavu virusnog jezgra.

Crick i Watson (1956) iznose pretpostavku da je proteinski omotač malih virusa sačinjen od *mnogobrojnih jednakih delova, tzv. proteinskih podjedinica*, koje su raspoređene ili u obliku spiralnih štapića ili u obliku sferičnih školjki, sa kubnom simetrijom. Ova pretpostavka je kasnije i potvrđena eksperimentalnim putem. Caspar i Klug (1962) su formulisali opštu teoriju koje određuje mogući broj i raspored proteinskih podjedinica, koje sačinjavaju omotač malih izometrijskih virusa. Naša sadašnja saznanja o proteinskom omotaču većih virusa sa kompleksnijom simetrijom i strukturom zasnivaju se na elektronskoj mikroskopiji, korišćenjem metoda negativnog bojenja i ultratankih preseka.

Prilikom proučavanja hemijskog sastava virusa mnogo veća pažnja je bila fokusirana na proteinski deo virusne čestice, pošto kvantitativno proteini sačinjavaju veći deo virusa. Znanje o nukleinskim kiselinama u to vreme bilo je tek u začetku. Aminokiselinski sastav proteina, tj. sekvence aminokiselina po prvi put je utvrđen 1953. godine za protein insulin. Ne dugo posle ovog otkrića utvrđen je hemijski sastav proteinskog omotača virusa mozaika duvana, koji se sastojao od 158 sekvenci aminokiselina (Anderer et al., 1960; Tsugita et al., 1960; Wittman i Wittman-Liebold, 1966). Sekvence mnogih prirodnih sojeva i veštački indukovanih mutanata su utvrđene otprilike u isto vreme. Ova proučavanja bila su značajan doprinos utvrđivanju univerzalne prirode genetičkog koda i našeg boljeg razumevanja mutacija virusa, koje su zasnovane na hemijskoj bazi.

Do pedesetih godina prošlog veka nije posvećena odgovarajuća pažnja proučavanju nukleinskih kiselina virusa u odnosu na proteine, koji su detaljno istraženi. U to vreme nije bila poznata funkcija nukleinskih kiselina virusa u ćeliji i smatralo se da su one mali molekuli, nepoznatog značaja. Tek proučavanja Markham-a i Smith-a iz 1949. godine, virusa žutog mozaika postrne repe ukazala su na veoma značajnu ulogu ribonukleinske kiseline u sastavu virusa. Ovi istraživači, prilikom prečišćavanja virusa žutog mozaika postrne repe su utvrdili dva tipa čestica. Jedna vrsta čestica sa 35% RNK bila je infektivna, a druga potpuno identična po obliku i veličini koja se sastojala samo iz proteina, nije mogla da izvrši zarazu biljaka. Gierer i Schramm (1956) i Fraenkel- Conrat (1956) dokazali su da je samo ribonukleinska kiselina nosilac infektivnosti virusa, a da proteinski omotač ima zaštitnu ulogu. Kasnija istraživanja pokazala su da najveći broj virusa sadrži jednospiralnu ribonukleinsku kiselinu, koja je glavni nosilac genetskih informacija i igra najznačajniju ulogu u umnožavanju virusa.

Međutim, kasnije Black i Markham (1963) su utvrdili da virusi prouzrokovajući tumoralnih rana sadrže dvospiralnu RNK, kao i Miura et al. (1966) za virus kržljivosti pirinča. Dve godine kasnije Shepherd et al, 1968. godine su otkrili prvi biljni virus, koji u

svom sastavu ima dezoksiribonukleinsku kiselinu (DNK) i to dvospiralnu DNK. To je bio virus mozaika karfiola (*Cauliflower mosaic virus*). Danas su poznati i patogeni nazvan viroidi koji u svom sastavu imaju samo slobodnu RNK, bez proteinskog omotača, a prouzrokuju vretenavost krtola krompira (Diener, 1971). Nešto kasnije su otkriveni i virusi koji sadže jednospiralnu DNK, kao što su virusi iz porodice *Geminiviridae* (Goodman, 1977; Harrisson et al., 1978).

Brakke (1951, 1953) pedesetih godina 20.-og. veka je pronašao veoma značajnu metodu za prečišćavanje virusa, tzv. centrifugiranje u gradijentu gustine. Ova metoda imala je veliki uticaj na razvoj virusologije i molekularne biologije. Ona je omogućila izolaciju i karakterizaciju mnogih virusa. Korišćenje metode gradijenta gustine u šećernom rastvoru za razdvajanje virusnih čestica omogućilo je Lister-u (1966, 1968) da otkrije dvodelne strukture genoma virusa šuštavosti duvana (*Tobacco rattle virus*). Primenom ovih metoda za frakcionisanje čestica virusa utvrđeno je postojanje višedelnih genoma kod nekih virusa. Ova otkrića otvorila su mogućnost genetskih ogleda sa biljnim virusima (Lister, 1968; van Vloten-Doting et al., 1968). Metode razdvajanja prečišćenih preparata kod nekih virusa, korišćenjem gradijenta gustine, otkrila su postojanje čestica virusa sa neinfektivnom nukleinskom kiselinom, tzv. subgenomskom RNK. Kod drugih virusa utvrđene su čestice međusobno funkcionalno povezane sa tzv. satelitnim virusima. Kod satelitnih virusa je umnožavanje njihove nukleinske kiseline bilo povezano sa nukleinskom kiselinom čestica drugih virusa tzv. pomoćnika (eng. helper virus).

Mnogi aspekti umnožavanja biljnih virusa „*in vivo*“ tj. u živoj ćeliji biljaka nisu ni do danas u potpunosti razjašnjeni, zbog tehničke nemogućnosti posmatranja umnožavanja virusa u ćelijama biljaka. Šezdesete godine prošloga veka mogu se smatrati dekadom u kojoj je elektronska mikroskopija bila dominantna tehnika, koja je u velikoj meri doprinela našem saznanju o strukturi i umnožavanju virusa. Razvoj i unapređenje metoda pripremanja ultratankih preseka za elektronski mikroskop omogućile su vidljivost celokupnih virusnih čestica unutar ćelije. Na taj način moglo se proučavati razvoj i lokacija unetih struktura virusnih čestica u zaraženim ćelijama. Utvrđeno je da različite grupe i familije virusa dovode do stvaranja karakterističnih struktura ili viroplazmi u ćeliji u kojima uzimaju učešće i komponente virusne replikacije, kao i procesi sastavljanja odnosno sklapanja virusnih čestica.

Tokom proteklih dekada proučavanja umnožavanja biljnih virusa su daleko zaostajala iza proučavanja replikacije virusa bakterija i kičmenjaka. Međutim, ogledi Cocking-a (1966) i Takebe-a (1977), koji su razvili sisteme protoplasta za proučavanje biljnih virusa omogućila su nova saznanja iz ove oblasti. Razvoj protoplast sistema osamdesetih godina 20.-og. veka omogućilo je da se učini značajan napredak u proučavanju načina umnožavanja biljnih virusa. U ovoj fazi istraživanja su sakupljena značajna saznanja o mehanizmu umnožavanja virusa, koja su kao posebna biološka pojava potpuno odvija u živoj ćeliji. Kod nekih virusa sa jednospiralnom RNK (virus mozaika duvana i virus žutog mozaika postrne repe), pomoću elektronske mikroskopije, otkrivena je i druga spirala, koja se kao replikativna javlja u toku umnožavanja (replikacije) virusa.

Veliki napredak u dijagnosticanju viroza predstavlja i razvoj seroloških tehnika, kao što je enzimski imunoadsorbcioni test- ELISA (Clark i Adams, 1977), kao i metode koje kombinuju molekularne i serološke tehnike.

U kasnim osamdesetim i devedesetim godinama prošloga veka nastupa period, kada molekularne tehnike počinju da se koriste za proučavanja u biljnoj virusologiji. U ovom

periodu je bio dominantan razvoj tehnika za sekvencioniranje nukleotida virusnog RNK genoma. Saznanja o organizaciji i funkcionisanju genoma virusa proizilaze iz razvoja procedura, pomoću kojih su kompletne nukleotidne sekvence sa RNK genoma virusa mogle da se utvrde. Od posebnog značaja je bila mogućnost pripremanja „*in vitro*“ kopija (transkripta) RNK virusa, koje potiču od klonirane cDNK (Ahlquist et al., 1984). Podaci o nukleotidnim sekvencama doprineli su novim saznanjima o organizaciji genoma kod najvećeg broja biljnih virusa.

Metode bazirane na hibridizaciji nukleinske kiseline (PCR-metoda i dr.) i druge molekularne tehnike omogućavaju brzu i tačnu determinaciju virusa, kao i svakodnevna nova saznanja o taksonomskom položaju virusa, mehanizmima replikacije virusa, ekspresije gena, širenja iz ćeliju u ćeliju. Sve ove informacije pružanju osnovu za bolje poznavanje epidemiologije virusa i predstavljaju preduslov kako za oplemenjivanje biljaka na otpornost prema virusima, tako i za efikasne mere prevencije biljnih viroza.

## II. EKONOMSKI ZNAČAJ BILJNIH VIROZA (JASNIĆ, S.)

### *Uvod*

Virusi su prouzrokovatori bolesti biljaka-viroza, koji svojim štetnim dejstvom smanjuju prinos i kvalitet biljnih proizvoda. Virusni su veoma rasprostranjeni i redovno se javljaju na svim gajenim biljkama. Nema tačnih procena o ekonomskim štetama i o gubicima prinosa pojedinih useva, koje prouzrokuju viroze u svetu.

Prema podacima grupe naučnika okupljenih u Evropsku Asocijaciju za Zaštitu bilja (European Crop Protection Association) u slučaju četiri veoma značajne gajene biljne vrste u svetu (pirinač, pšenica, ječam i kukuruza) gubici od biljnih bolesti dostižu 10-16% potencijalnog prinosa, što je u vrednosti od 64 milijardi dolara (Loebenstein, 2008). U slučaju da se u gore navedeni proračun uključe i krompir, soja, pamuk i kafa, gubici dostižu i do 300 milijardi dolara. Smatra se da 10-15% ovih gubitaka je rezultat virusnih oboljenja, dok u slučaju gljivičnih oboljenja ovaj udeo dostiže 40-60%. Poznato je naime da među različitim patogenim mikroorganizmima, virusi po stepenu štetnosti zauzimaju drugo mesto odmah iza gljiva, prouzrokovaca mikoza. Termin ekonomski značaj može biti široko protumačen, ne samo u smislu novčane vrednosti prinosa biljaka, nego i u smislu estetske vrednosti biljaka i vrednosti biljaka kao članova biosfere.

Virusi su danas sve mnogobrojniji na gajenim biljkama širom sveta. Oni su ekonomski veoma značajni zbog bolesti (viroza), koje prouzrokuju. Virusni su dugo prisutni i uobičajeni deo našeg okruženja tj. prirodne sredine. Postali su značajni ekonomski faktor razvojem poljoprivredne proizvodnje, koji čovek koristi radi zarade. Zahvaljujući razvijenim komunikacijama, povećanju trgovine između država i regiona u svetu i većoj razmeni biljnog materijala (seme, vegetativni sadni materijal za razmnožavanje i dr.) viroze su se raširile po celom svetu, pričinjavajući ponekad velike štete. Imajući u vidu štetnost viroza, njihovu rasprostranjenost u svetu i kod nas, može se sagledati i njihov veliki ekonomski značaj u poljoprivrednoj proizvodnji.

Po opasnosti za biljnu proizvodnju virusi se znatno razlikuju od svih drugih parazita gajenih biljaka mogućnošću nagomilavanja, odnosno akumulacije virusne zaraze u vegetativnom sadnom materijalu kao što su sadnice u voćarstvu i vinogradarstvu ili krtole, rizomi i lukovice u ratarstvu, povrtarstvu i cvečarstvu. Razmnožavanjem vegetativnog sadnog materijala zaraze virusima se prenose na sve potonje generacije biljaka, kod kojih se progresivno smanjuje vitalnost i povećavaju gubici u prinosu.

Specifičnost virusnih zaraza je i u tome što se one ne mogu sprečiti ili suzbijati hemijskim merama zaštite, koje se sa uspehom primenjuju u zaštiti biljaka od gljiva i bakterija. Ne postoji mogućnost lečenja obolelih biljaka zbog čega one ostaju trajno zaražene virusima.

Štetnost virusa, kao parazita biljaka, a prema tome i njihov ekonomski značaj umnogome zavisi od čitavog niza faktora kao što su: rasprostranjenost u različitim regionima u svetu, različitim zemljama ili lokalitetima u okviru pojedinih zemalja. Na štetnost viroza i njihov ekonomski značaj, takođe veliki uticaj imaju i vrsta parazitirane biljke, osetljivost sorte, vrsta i sojevi virusa, koji parazitiraju biljke, stepen infekcije i tip simptoma, vreme zaraze, starost biljaka, odnosno fenofaza razvoja biljke u vreme zaraze, prisustvo izvora

zaraze, prisustvo i aktivnost vektora-prenosioca virusa, opšte stanje biljaka, prisustvo drugih parazita, uticaj spoljne sredine i drugi faktori. O svim ovim činiocima (faktorima) koji utiču na stepen štetnosti viroza, odnosno njihov ekonomski značaj biće reči u ovom poglavlju.

### *Štetnost viroza u zavisnosti od regiona (lokaliteta)*

Smanjenje biljne proizvodnje, odnosno prinosa kao rezultat viroza razlikuje se i menja u zavisnosti od zemlje, regiona sveta, pa čak i unutar jednog lokaliteta. Neretko to su zemlje u razvoju, koje su ekonomski zavisne od poljoprivredne proizvodnje jednog ili nekoliko useva. U ovim zemljama mere zaštite su obično neodgovajuće i nedovoljne, pa su iz tih razloga štete od viroza veoma ozbiljne sa ogromnim ekonomskim posledicama na ekonomiju ovih zemalja.

Samo jedna viroza može da utiče na čitavu ekonomiju države. Proizvodnja kakaovca u Gani, Togou i Nigeriji je glavni izvozni proizvod u ekonomiji zemlje. Nakon što je 1936. godine utvrđena pojava virusa stabla kakaovca (*Cacao swollen shoot virus*, CSSV) u okviru eradikacionih mera protiv virusa uništeno je preko 200 miliona stabala (Dzahini-Obiatey et al., 2010), što je dovelo do drastičnog opadanja prinosa kakaovca od 116 000 tona u 1936. godini na 38 000 tona u 1956. godini, odnosno smanjenja prinosa za 65%. Vučurović (2012b) je u 2008. godini utvrdila virusnu zarazu na tikvama čak od 80%, dok je u drugim godinama ispitivanja od 2007-2011 utvrdila nivo zaraza između 30-50%, što je prouzrokovalo velike ekonomske štete. Virusi iz roda *Geminivirus* prouzrokuju godišnje gubitke na paradajzu na Floridi u SAD od 140 miliona dolara (Moffat, 1999).

Virus nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV), prouzrokovatelj rizomanije šećerne repe, spada u red najštetnijih virusa ove biljne vrste (Jasnić et al., 2006). U Italiji je pedesetih godina prošlog veka izazvao velike štete, pa je u zaraženim rejonima proizvodnja šećerne repe bila onemogućena i prekinuta. Zbog ove viroze proizvodnja repe u Sremu, takođe, je dovedena u pitanje tokom sedamdesetih godina prošlog veka, pošto je smanjenje prinosa korena bilo i do 60% a digestije i za preko 4% (Šutić i Milovanović, 1980). Prisutnost ovog virusa 1997. godine je utvrđena u Sremu na 69,1% površina nešto manje u Banatu na 43,2% , a znatno manje u Bačkoj na 5,8% površina (Jasnić et al., 1999). Stvaranjem toleratnijih sorti prema virusu smanjen je problem ove viroze u svetu i kod nas i omogućeno je uspešno gajenje šećerne repe.

### *Štetnost viroza u zavisnosti od biljne vrste (useva)*

Postoje velike razlike u veličini gubitaka, odnosno ekonomske štetnosti viroza kod različitih vrsta biljaka, odnosno useva. Najveće ekonomske štete virusi prouzrokuju kod višegodišnjih drvenastih biljaka, voćaka, vinove loze i drugih. Štetno delovanje bolesti ispoljava se slabljenjem vitalnosti, iznurivanjem a kasnije i potpunim propadanjem obolelih biljaka, što prouzrokuje ozbiljne i velike štete i posledice, zbog vremena potrebnog za uzgoj ovih useva i velikih materijalnih sredstava, koja se investiraju u takve useve (voćnjaci, vinogradi i sl.). Primer šteta kod ovih biljnih vrsta su plantaže citrusa, koje su bile zaražene virusom „tristeza“ (*Citrus tristeza virus*, CTV) u Brazilu, gde je uništeno 6 miliona stabala citrusa (75% od ukupnog broja), radi sprečavanja širenja ove viroze. Već pomenuto oboljenje otok (bubrenje) grana kakaovca (*Cacao swollen shoot virus*, CSSV) u najvećem broju zemalja zapadna Afrike prouzrokovao je ogromne štete u proizvodnji kakaoca, kao i krčenje

140 miliona stabala ove biljne vrste u Gani. U našoj zemlji viroza šarka šljive ugrozila je gajenje domaće sorte Požegače, tako da se zasadi pod ovom sortom masovno krče. Pored smanjenja prinosa virus šarke šljive (*Plum pox virus*, PPV) pogoršava i kvalitet plodova i u mnogim slučajevima čini ih neupotrebljivim (Stojanović, 2004).

Kod jednogodišnjih useva posejanih iz semena (ratarske i povrtarske biljke) štetnost viroza se menja od vegetacije do vegetacije, tj. od godine do godine u zavisnosti od čitavog niza faktora, kao što su uslovi spoljne sredine (vremenski uslovi), prisutnost izvora zaraze, brojnost i aktivnost vektora virusa i drugo. Viroze pšenice u SAD prouzrokuju prosečne godišnje gubitke od oko 2% u toku perioda od jedne dekade. Međutim, pojedinih godina kao napr. 1959. godine u Kansasu, gubici od viroza su procenjeni na 20%. Virus žute patuljivosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV) se pre devedesetih godina prošlog veka sporadično javljao i u našoj zemlji i pričinjavao neznatne štete. Međutim u 1990. i 1991. godini, pošto su vremenski uslovi bili veoma povoljni za razvoj lisnih vaši, vektora ovog virusa, pojava BYDV na parcelama pod ječmom i pšenicom je bila ogromna. Ispitivanja su pokazala da je ovaj virus na ječmu utvrđen u 64,7% lokaliteta u 1990., odnosno u 85,7% pregledanih lokaliteta u 1991. godini u Vojvodini (Jasnić et al., 1991). Tako značajna pojava virusa ispoljila je štetan uticaj na prinos ječma, koji je bio smanjen i do 90,5% kod ozimog, odnosno do 34,5% kod jarog ječma (Jasnić et al., 1993).

Kod biljaka, koje se vegetativno razmnožavaju, kao napr. kod nekih povrtarskih biljaka (krompir, luk i dr.), voćaka, vinove loze i ukrasnog bilja (ukrasno šibljje i cveće) javljaju se obično blage virusne zaraze, koje zahvataju svaku individualnu (pojedinačnu) biljku. Štete kod ovih biljaka zavise od intenziteta simptoma bolesti i najčešće smanjenje prinosa ne iznosi više od 10%. Tako napr. ceo usev krompira može neki put da bude zaražen sa jednim ili sa više virusa. Štetan uticaj virusa na prinos različitih sorti krompira nije mogao da bude utvrđen sve dok nisu dobijeni klonovi krompira slobodni od virusa. Poznato je da M virus krompira (*Potato virus M*, PVM) zaražava u potpunosti, odnosno 100% rod krompira sorte King Edward. Simptomi na zaraženim biljkama su veoma blagi. Međutim kada je dobijen zdrav sadni materijal ove sorte i upoređen prinos zdravih krtola sa prinosom obolelih, utvrđeno je smanjenje prinosa zaraženog krompira za oko 10%. Virus mozaika krompira (*Potato X virus*, PVX) prouzrokuje veoma blag tip simptoma (slab mozaik na lišću) ili se simptomi uopšte ne javljaju kod severno američkih sorti krompira, koje su obično potpuno (100%) zaražene ovim virusom. Kod krompira zaraženog samo ovim virusom, bez simptoma oboljenja, utvrđeno je smanjenje prinosa od 9 do 22% u zavisnosti od soja virusa i sorte krompira. Viroze krompira predstavljaju najznačajnije bolesti ove biljne vrste i u našoj zemlji. Međutim, virusi X virus krompira i M virus krompira su kod nas malo značajni, pošto su slabo rasprostranjeni i javljaju se sporadično i zaražavaju mali broj biljaka u polju. Nasuprot njima kod nas su veoma rasprostranjeni i štetni virus crtičastog mozaika krompira (Y virus krompira) i virus uvijenosti lišća krompira koji parazitiraju veliki broj biljaka i prouzrokuju oštre simptome. Tako je kod sorte Desiree, koja učestvuje sa 80% u ukupnoj proizvodnji krompira u zapadnoj Srbiji utvrđeno najviše zaraženih biljaka virusom crtičastog mozaika krompira (*Potato Y virus*, PVY) sa prosečnom zarazom od 58,5% i virusom uvijenosti lišća krompira (*Potato leaf roll virus*, PLRV) sa prosečnom zarazom od 54,6%. Uočena je velika varijabilnost u zaraženosti uzoraka u zavisnosti od lokaliteta. Uzorci iz Čačka (93,3%), Guče (84,4%) i Kaone (84%) bili su najzaraženiji virusom uvijenosti lišća, dok su uzorci sa Golije (17,8%) bili najmanje zaraženi ovim virusom (Milošević, 1989).

## *Uticaj drugih faktora na štetnost viroza*

Stepen smanjenja prinosa, prouzrokovan virusnim zarazama-virozama, odnosno njihova štetnost, zavisi u svakoj pojedinačnoj godini i lokalitetu kao što je napred rečeno od mnogobrojnih faktora kao što su:

- osetljivost biljke domaćina (sortiment)
- prisustvo različitih sojeva virusa
- broj virusa, koji zaražavaju biljke (mešane zaraze)
- prisutnost i aktivnost vektora virusa
- vreme zaraze biljke domaćina
- starost biljke u vreme zaraze
- prisustvo drugih parazita i drugi faktori

Iznećemo u ovom delu primere o uticaju gore pomenutih faktora na štetnost pojedinih virusa i njihovog uticaja na prinos.

### *Sortiment*

Virus nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV) spada u grupu izrazito štetnih virusa, koji kod osetljivih sorti šećerne repe može da smanji prinos za više od 60%, a digestiju za 3-4% (Šutić i Milovanović, 1978). Selekcijom su stvorene tolerantne sorte, odnosno hibridi šećerne repe, koji sadrže sto puta nižu koncentraciju virusa u odnosu na osetljive sorte (Asher i Kerr, 1996). Tako napr. prinos osetljive sorte NS Dana (27,98 t/ha) gajene u zaraženom zemljištu bio je za 110,7% manji od tolerantne sorte NS Hy 1R (59,02 t/ha) (Jasnić et al., 1999). Takođe je intenzitet zaraze kod tolerantne sorte Rama prema virusu rizomanije bio manji i iznosio 15%, dok je sorta Delta sa intenzitetom zaraze od 95% ispoljila visoku osetljivost.

Unošenje novih sorti u jedan region može da prouzrokuje veći intenzitet napada virusa novouvedenog sortimenta, kao i veće štete u poređenju sa sortama, koje se već gaje u ovom regionu. Razlog za ovu pojavu je taj da su postojeće lokalne sorte vremenom stekle prirodnu otpornost ili toleratnost prema postojećim virusima u tom regionu, dok nove sorte ne poseduju otpornost ili toleratnost. Tako napr. u Italiji uvođenje i gajenje nekih novih visoko prinosa sorti pšenice je dovelo do gubitaka u prinosu od 70% u odnosu na postojeće lokalne sorte, pošto su novouvedene sorte ispoljile veoma visoku osetljivost prema virusu američkog mozaika pšenice (*Soil-borne wheat mosaic virus*, SBWMV) u odnosu na postojeće sorte (Vallega i Rubies-Autonell, 1985).

### *Sojevi virusa*

Kod brojnih virusa opisan je manji ili veći broj sojeva. Sojevi virusa se međusobno razlikuju po patogenosti, odnosno virulentnosti prema biljci domaćinu. Oni mogu da prouzrokuju veće ili manje štete u zavisnosti od njihove patogenosti. Tako je ranije kod virusa žute patuljavosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV) opisano pet sojeva (RMV, RPV, MAV, PAV i SGV). Pored ostalih razlika ovi sojevi se značajno razlikuju i po virulentnosti. Sojevi RMV, RPV i SGV su slabo virulentni, MAV je srednje, a PAV veoma

virulentan. U zavisnosti od soja ovog virusa, tj. njegove patogenosti, kojim su strna žita zaražena štete, odnosno smanjenje prinosa iznosi 1-3%, 20-30% pa čak i 100% (Jasnić et al., 1993).

### *Mešovita zaraza biljaka virusima*

Mešovita zaraza biljaka sa dva ili više virusa može da prouzrokuje veće štete, odnosno gubitke prinosa od zbira šteta, odnosno gubitaka prinosa, koji oni prouzrokuju pojedinačno. Prinos soje može biti smanjen za 8-25% u slučaju zaraze različitim sojevima virusa mozaika soje (*Soybean mosaic virus*, SMV). Virus šarenila mahuna pasulja (*Bean pod mottle virus*, BPMV) prouzrokuje gubitke u prinosu soje do 40%. Međutim mešovita, odnosno dvostruka zaraza sa oba virusa smanjuje prinos soje i do 80% (Ross, 1968).

### *Prisutnost i aktivnost vektora virusa*

Prisutnost, brojnost i aktivnost vektora virusa može da ima značajan uticaj na intenzitet zaraze, odnosno veličinu šteta, tj. gubitke u prinosu zaraženih biljaka. Poznato je da biljke, koje su zaražene virusima često mogu biti atraktivnije za lisne vaši, vektore virusa, u odnosu na zdrave. Na zaraženim biljkama razmnožavanje vašiju se povećava, kao i razvoj krilatih formi. Tako je utvrđeno da svako povećanje brojnosti populacije krilatih formi lisnih vašiju *Cavariella aegopodii* (Scop), vektora virusa šarenila mrkve i virusa crvenila lista mrkve (*Carrott mottle virus*, CmoV i *Carrott redleaf virus*, CRLV) za deset puta, skoro pravilno prouzrokuje smanjenje prinosa mrkve za oko 2,5 t/ha (Ross, 1968; Elnagar i Murant, 1978).

### *Vreme zaraze i starost biljaka*

Ranije zaraze biljaka virusima, tj. u fenofazi kada su biljke domaćini mlađe, prouzrokuju redovno znatno veće štete, odnosno gubitke prinosa. Nasuprot tome, negativan uticaj na prinos je smanjen kod kasnih zaraza, odnosno starijih biljaka. Virusi se prilikom kasnijih zaraza kod starijih biljaka sporije šire u biljci i ispoljavaju slabije dejstvo, a obolele biljke imaju blaže simptome. Biljke paprike su najosetljivije prema virusu mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) u fazi cvetanja, kada je smanjenje prinosa iznosilo oko 80%. Kod kasnijih zaraza ovim virusom došlo je do smanjenja šteta, pa su zaraze u fazi početka formiranja plodova izazvale upola manje štete, pošto je smanjenje prinosa paprike bilo za oko 39% (Jasnić, 1978).

### *Prisutnost drugih parazita*

Primećeno je da su već zaražene biljke virusima, najčešće osetljivije na infekciju prema prisutnim drugim parazitima biljaka (gljive, bakterije i dr.), što može značajnije da utiče na intenzitet simptoma i visinu štete, odnosno prinos ovih biljaka. Tako prethodna infekcija nekih komercijalnih hibrida kukuruza virusom mozaične kržljivosti (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV) povećava osetljivost mozaičnih biljaka prema gljivi *Giberella zeae* (anamorf *Fusarium graminearum*) za 2,5 puta, prema *Ustilago maydis*, prouzrokovajući



mehuraste gari za oko 21%, a gljivi *Dreschlera turcica*, prouzrokovajući sive pegavosti kukuruza za oko 13%. Prinos zaraženih biljaka ovim virusom može biti umanjen do 41,8%, a zaraza virusom i gljivom *G. zea* može da smanji prinos po biljci do 50% (Šutić, 1995).

### *Utjecaj virusa na kvalitet biljnih proizvoda*

Pored smanjenja prinosa virusi kod zaraženih biljaka mogu da prouzrokuju pogoršanje, odnosno smanjenje kvaliteta, kao i tržišnu vrednost biljnih proizvoda. Tako na primer sastav biljnih proizvoda može da bude značajno izmenjen, kao posledica virusne zaraze u odnosu na zdrave biljke. Virus mozaične krčljivosti (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV) može značajno da smanji količinu ulja u zrnu kukuruza za oko 40%, ne menjajući pri tome odnos pojedinih masnih kiselina (Šutić, 1995). U semenu soje zaraženim virusom prstenaste pegavosti duvana (*Tobacco ring spot virus*, TRSV) dolazi do smanjenja ukupne količine masnih kiselina i povećanja ukupne količine proteina. Sastav masnih kiselina u ulju zaraženog semena je takođe značajno izmenjen (Demski i Kuhn, 1989). Zaraza duvana virusom mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), pored prosečnog smanjenja prinosa od 30-35% značajno utiče i na pogoršanje kvaliteta. Ono se sastoji u smanjenju ugljenih hidrata, nosilaca kvaliteta duvana, smanjenju skroba i polifenola, kao i slabijem povećanju nikotina, azota i azota u belančevinama i u znatnom povećanju ukupnih proteinskih jedinjenja u zaraženim listovima duvana. Sinteza većih količina proteina u listovima menja značajno kvalitet duvana. Takav duvan se odlikuje lošim pušačkim osobinama, jer ima oštar ukus, draži grlo i ne ispoljava u dovoljnoj meri aromu (Šutić, 1995). Virus šarke šljive (*Plum pox virus*) značajno utiče na kvalitet plodova šljive, menjajući njihove morfološke i hemijske osobine. Veličina plodova se smanjuje za 0,2-34% u zavisnosti od osetljivosti sorte. Kod osetljivih sorti javljaju se značajne promene u citološkoj i histološko-anatomskoj građi plodova. Zaraženi plodovi imaju smolastu i sluzastu konzistenciju (sastav). Oni su neukusni za jelo i neupotrebljivi za preradu, jer su im proizvodi (pekmez i rakija) nakiseli zbog povećane količine kiselina i smanjenog ukupnog šećera (Jordović i Janda, 1963).

Mahune boranije često gube vrednost, kao roba na zelenoj pijaci, pošto postaju šareno obojene umesto da im je boja zelena. Ova pojava je posledica zaraze boranije virusom šarenila pasulja (*Bean pod mottle virus*, BPMV). Plodovi paradajza sa biljaka zaraženih virusom mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) neki put su veoma deformisani i imaju unutrašnje nekroze, što smanjuje njihovu tržišnu vrednost. Ovaj virus prouzrokuje i značajne deformacije plodova paprike, koji gube svoj uobičajeni oblik, a često i boju i potpuno svoju tržišnu vrednost.

Postoje retki primeri da neke virozne zaraze povećavaju novčanu vrednost nekih biljnih proizvoda. Tako napr. cvetovi lala sa simptomima slivanja boja i šarenila cvetova, kod biljaka zaraženih virusom mozaika lala (*Tulip breaking virus*, TBV) imaju veću vrednost za kupce zbog estetskog izgleda cvetova. Međutim, kvalitet lukovica lala je znatno smanjen virusnom zarazom. Zaražene biljke zaostaju u porastu, formiraju manje cvetove i imaju manji prinos lukovica.

### *Indirektne štete od virusa*

Štete kod viroznih zaraza mogu neki put da budu indirektno, tj. da utiču na različita svojstva zaraženih biljaka, čija promena može da prouzrokuje smanjenje prinosa. Kada

delovanje viroza nije u direktnoj vezi sa ispoljenim simptomima, tada se ova vrsta šteta naziva indirektnim štetama.

Kao posledica viroznih zaraza obolele biljke obično imaju smanjenu vitalnost i osetljivije su na uticaj spoljnih faktora sredine, kao što su temperatura, količina padavina i drugi faktori. Tako napr. kod nekih sorti pšenice, ječma i ovsa, gajenih u Kanadi, zaraza virusom žute patuljivosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV) značajno redukuje otpornost zaraženih biljaka prema niskim temperaturama i sposobnost preživljavanja useva tokom hladnih zima. Obolele biljke masovno izmrzavaju pod dejstvom niskih temperatura, što dovodi do proređivanja useva i značajnog smanjenja prinosa (Paliwal i Andrews, 1979). Slično, zbog smanjene vitalnosti zaražene biljke lucerke virusom mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*, AMV) su osetljive prema suši i zimskim mrazovima (Šutić, 1995). Povećana osetljivost prouzrokuje izumiranje zaražene lucerke i proređivanje useva, što se značajno može odraziti na prinos.

### *Procena štetnosti viroza*

Procena uticaja viroza na prinos i procena njihove štetnosti je veoma složena i komplikovana, jer zavisi od čitavog niza faktora o kojima smo u prethodnom tekstu govorili.

Ispitivanja stručnjaka pokazala su da se virusi javljaju na svim gajenim i biljkama spontane flore. Detaljni pregledi biljaka u polju potvrdili su da se viroze javljaju stalno u različitim usevima. Procena šteta prouzrokovana virusima zahteva više od saznanja da je biljka zaražena virusima. Međutim, ova saznanja predstavljaju prvi korak u proceni štetnosti viroza. Utvrđivanje i determinacija je prvi korak i često zahteva primenu bioloških, seroloških ili molekularnih testova. Mešane zaraze sa dva ili više virusa mogu imati slične simptome, kao kod biljaka zaraženih samo jednim virusom. Međutim, uticaj mešovityh zaraza na prinos može biti uvećan i sinergistički. Stepem ispoljenih simptoma prouzrokovanih virusima može da se koristi za procenu smanjenja prinosa pod uslovom da je povezanost intenziteta bolesti i prinosa bila utvrđena eksperimentalno.

Za tačnu procenu štete od virusa kod pojedinih useva potrebno je eksperimentalno utvrđivanje, tj. merenje štete. Eksperimentalno utvrđivanje štetnosti viroza, tj. merenje njihovog uticaja na prinos, trebalo bi da se sprovede pri različitim uslovima spoljne sredine, sa biljkama različitih sorti, inokulisanim virusima, odnosno različitim sojevima virusa u različitim fenofazama razvoja biljaka, gajenim pri različitim gustinama (sklopu) po jedinici površine i drugo. Idealno bi bilo da se ovi ogledi i merenja izvrše u polju, ali nekontrolisano širenje virusa na nezaražene kontrolne biljke može otežati ili onemogućiti ove ogledе. Ogledi u polju za procenu gubitaka useva treba da budu pažljivo postavljeni, dobro koncipirani, osmišljeni, tako da dobijeni rezultati daju sliku stvarnih (realnih) gubitaka u komercijalnoj proizvodnji. Ogledi u staklarama ili komorama omogućavaju uključivanje više kontrolisanih faktora (temperatura, vlažnost, svetlost i dr.), ali ne mogu u potpunosti da imitiraju uslove u polju, te rezultati štetnosti viroza nisu uvek realni. Pregledi, odnosno procene štetnosti viroza u polju morale bi se vršiti nekoliko puta tokom vegetacije useva da bi se utvrdilo trajanje i intenzitet zaraze biljaka virozama.

### III. PATOLOŠKE PROMENE VIROZNIH BILJAKA (JASNIĆ, S.)

Pod uticajem virusnih zaraza javljaju se značajne patološke promene u ćelijama zaraženih biljaka. To su patocitološke promene. Patološke promene u tkivima biljaka, koja sačinjavaju zaražene ćelije su patohistološke promene. Patološke promene u tkivima prouzrokuju anatomske promene kod obolelih biljaka, a ove morfološke promene, koje su vidljive u obliku simptoma bolesti. Patološke promene u ćelijama, a posebno promene u organelama ćelija (mitohondrije, hloroplasti, ribozomi i dr.) utiču na fiziološke procese zaraženih biljaka. Sve gore navedene patološke promene dešavaju se povezano i u međusobnoj su zavisnosti. One se ispoljavaju kao simptomi bolesti.

Patološke promene mogu se podeliti u dve osnovne kategorije: strukturne i fiziološke.

- Strukturne promene se ispoljavaju u građi ćelija i njihovih organela i u građi tkiva zaraženih biljaka.
- Fiziološke promene se odnose na promene u fiziološkim procesima, koji odstupaju od fizioloških aktivnosti u zdravim biljkama. Fiziološke promene se javljaju kao posledica patoloških promena u ćelijama i tkivima zaraženih biljaka.

#### *Patocitološke promene*

Patocitološke promene nastaju u toku zaraze ćelija. To su unutrašnje promene, koje virusi prouzrokuju unutar biljnih ćelija. One se ne vide golim okom, već samo pomoću svetlosnog ili elektronskog mikroskopa. One se odnose na unutrašnju građu biljke, odnosno na građu inficiranih ćelija i tkiva. Ove promene mogu biti strukturne i fiziološke.

#### *Strukturne promene*

Strukturne promene se karakterišu promenama u veličini i obliku ćelija i u promenama ćelijskih zidova. Virusni menjaju i unutrašnju građu ćelija, prouzrokujući značajne promene ćelijskih organela, kao što su jedro, mitohondrije, ribozomi i hloroplasti. Kao posledica patoloških promena ćelijskih organela nastaju promene u fiziološkim aktivnostima zaraženih ćelija. Najveća nenormalnost u zaraženim ćelijama je stvaranje velikog broja virusnih čestica unutar ćelije. One se najčešće nalaze u citoplazmi, ali se mogu naći i u drugim delovima ćelije. Virusne čestice mogu da se sakupljaju posebno ili zajedno sa ćelijskim delovima i da stvaraju ćelijske inkluzije.

#### *Promene veličine i oblika ćelija i promene ćelijskih zidova*

Najčešće promene u veličini ćelija javljaju se kod biljaka zaraženih virusima, koji prouzrokuju mozaične simptome na lišću. Pod uticajem virusnih zaraza veličina ćelija se menja. One se uvećavaju (hipertrofija ćelija) ili se smanjuju (hipotrofija ćelija). Kao posledica hipertrofije ćelija dolazi do pojave lokalnih zadebljanja, odnosno kao posledica hipotrofije do stanjivanja obolelih delova. Usled nejednakog razvoja pojedinih ćelija liske javljaju se deformacije vidljive golim okom, kao što je kovrdžavost, klobučavost i druge

promene na listu. Kao primer ove pojave je kovrdžavost lišća krompira, zaraženog istovremeno virusima X i A (*Potato virus X* i *Potato virus A*). U hlorotičnom delu zaraženih listova palisadne ćelije su znatno manje, tj. kraće u odnosu na palisadne ćelije u tamnozelenom delu liske. Dužina ovih ćelija u hlorotičnom delu liske je iznosila 45  $\mu\text{m}$ , a u tamnozelenom delu inficiranog lista 57  $\mu\text{m}$ . Dužine palisadnih ćelija zdravih listova su bile 72, 52 i 56  $\mu\text{m}$ , a debljine liske 148, 140 i 147  $\mu\text{m}$ , a kod obolelih listova krompira debljina je bila 113  $\mu\text{m}$  (Bawden, 1964).

Virusi mogu, takođe da menjaju i oblik zaraženih ćelija. Prema rezultatima Pejkić i Šutić (1970) virus šarke šljive (*Plum pox virus*) je značajno uticao na morfološki izgled polena. Kao posledica promene oblika zaraženih ćelija povećavao se broj sferičnih polenovih zrna u odnosu na uglasta i loptasta, koja predstavljaju normalne oblike polena.

Virusne zaraze prouzrokuju neki put i promene ćelijskih zidova. Najčešći tipovi ovih promena su zadebljanja ćelijskih zidova i stvaranje otvora u zidovima, uključujući i plazmodezme. Nenormalno zadebljanje ćelijskog zida, usled nagomilavanja određenih materija, kao što je kaloza, može da se javi u ćelijama, koje okružuju nekrotične pege (lezije), prouzrokovane virusima (Hiruki i Tu, 1972). Pojava povećanog broja otvora, uključujući i plazmodezme, je utvrđena na ćelijskim zidovima biljaka zaraženih različitim virusima. Otvori plazmodezmi u zidovima zaraženih ćelija mogu da se sastoje od jednog ili više kraćih ili dugih kanala. Oni mogu biti postavljeni spolja ili unutar plazmatične membrane. Smatra se da je ova pojava nastala menjanjem sastava ćelijskog zida usled nakupljanja određenih materija pod dejstvom virusa.

### *Patološke promene ćelijskih organela*

Najčešće promene ćelijskih struktura, tj. organela, unutar ćelije pod dejstvom virusnih zaraza dešavaju se u jedru, mitohondrijama, ribozomima i plastidima (hloroplasti i dr.).

#### Jedro

Mnogi virusi nemaju primetan uticaj na promene jedra. Međutim znatan broj virusa prouzrokuje značajne promene u jedru. Tako neki virusi stvaraju unutar jedra različite vrste internuklearnih inkluzija, dok drugi utiču na jedarca ili na oblik i veličinu jedra.

U ćelijama listova i mahuna graška zaraženog virusom enacijskog mozaika graška (*Pea enation mosaic virus*, PEMV) utvrđeno je nagomilavanje virusnih čestica u jedru. Tokom razvoja bolesti dolazi do dezintegracije jedarca u zaraženom jedru, kao i do nastavka nakupljanja virusa u jedru, a kasnije i u citoplazmi zaraženih ćelija. Ovaj virus prouzrokuje i stvaranje mehurova u perinuklearnom prostoru jedra (Shikata i Maramorosh, 1966; De Zoeten et. al., 1972). Virusne čestice nekoliko manjih izometrijskih virusa (virus južnog mozaika pasulja - *Southern bean mosaic virus* SBMV, virus žbunaste kržljivosti paradajza - *Tomato bushy stunt virus* TBSV, i drugi) se nakupljaju u jedru, kao i u citoplazmi ćelije. Ovi virusi se nalaze u jedru kao rasute čestice ili mogu da se grupišu u kristalni raspored (Weintraub i Ragetti, 1970; Russo i Martelli, 1972). U ćelijama biljaka zaraženih nekim od virusa roda *Tymovirus* zapažena je u jedru masa virusnih proteina ili prazni proteinski kapsidi (Hatta i Matthews, 1976). Virus iz porodice *Geminiviridae* prouzrokuju znatno uvećanje (hipertrofiju) jedarca. Tako u zaraženim ćelijama uvećana jedarca mogu da zauzmu tri

četvrtine jedra. Neki izolati virusa mozaika karfiola (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV) mogu da se nakupljaju u jedru i prouzrokuju jaku hipertrofiju jedra (Gracia i Shepherd, 1985).

### Mitohondrije i ribozomi

Virusi prouzrokuju patološke promene na mitohondrijama i ribozomima, kao važnim ćelijskim organelama. Patološke promene se manifestuju u vidu promena broja, veličine, oblika i aktivnosti ovih organela. Kao posledica virusnih zaraza u ćeliji biljaka može da se javi veći broj, kao i povećanje veličine mitohondrija, što prouzrokuje povišenu respiraciju u početnim fazama bolesti. Kasnije deformacijom mitohondrija i njihovim agregiranjem i uključivanjem u ćelijske inkluzije smanjuje se njihov broj, što uzrokuje smanjivanje respiracije u kasnijim fazama bolesti.

Štetno delovanje virusnih zaraza na ribozome se ispoljava smanjivanjem njihovog broja. Smanjenje broja ribozoma je posebno izraženo u hloroplastima, a znatno manje u citoplazmi zaražene ćelije. Patološko dejstvo virusa na ribozome odražava se na ukupnu proteosintezu u zaraženim ćelijama.

Zapaženo je da duge čestice u obliku krutih štapića virusa šuštavosti duvana (*Tobacco rattle virus*, TRV), kao i izometrijske čestice virusa uvelosti boba (*Broad bean wilt virus*, BBWV) mogu biti povezane sa mitohondrijama u zaraženim ćelijama (Harrison i Roberts, 1968; Hull i Plaskitt, 1974). Virus šuštavosti duvana može značajno da izmeni mitohondrije i prouzrokuje njihovo agregiranje u ćelijske inkluzije (Harrison, 1970). Agregiranje mitohondrija bilo je uočeno u biljkama štira, koje su bile zaražene virusom mozaika bunike (*Henbane mosaic virus*, HMV) (Kitajima i Lovisolo, 1972). Neki virusi prouzrokuju deformaciju mitohondrija stvarajući mehuriće (vezikule), obavijene membranama unutar perimitohondrijalnog prostora i u kristama (cristae-udubljenja na površini mitohondrija) (Hatta et al., 1971). Kod biljaka zaraženih nekim virusima iz roda *Tombusvirus* stvaraju se multivezikularna (multimehurasta) tela u zaraženim ćelijama. Za ova tela je utvrđeno da nastaju iz veoma deformisanih (modifikovanih) mitohondrija (Di Franco et al., 1984; Di Franco i Martelli, 1987).

Najčešće virusne zaraze prouzrokuju smanjenje broja ribozoma u zaraženim ćelijama. Tako je utvrđeno da sistemična zaraza virusom mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) sprečava sintezu ribozoma u duvanu (Hirai i Wildman, 1969). Virus mozaika postrne repe (*Turnip mosaic virus*, TuMV), takođe smanjuje broj ribozoma u hloroplastima, ali nema negativnog uticaja na ribozome u citoplazmi ćelija zaraženih listova (Matthews, 1966). Ribozomi mogu, takođe, da budu agregirani sa drugim ćelijskim sastojcima, učestvujući na taj način u građi amorfnih ćelijskih inkluzija. Ova pojava je uočena u ćelijama duvana zaraženog virusom mozaika duvana (Esau i Cronshaw, 1967).

### Hloroplasti

Najuočljivije patološke promene na ćelijskim organelama manifestuju se kod hloroplasta. Patološke promene na hloroplastima prouzrokovane virusnim infekcijama ispoljavaju se promenom boje obolelih delova biljaka. Kod zaraženih biljaka oboleli delovi menjaju boju od normalno zelene, preko svetlozelenih nijansi do potpuno žute ili bele boje, što predstavlja veoma karakteristične simptome oboljenja.

Štetno delovanje virusnih zaraza na hloroplaste se dvojako ispoljava, sprečavanjem stvaranja hloroplasta i promenama u građi hloroplasta.

#### Sprečavanje stvaranja hloroplasta

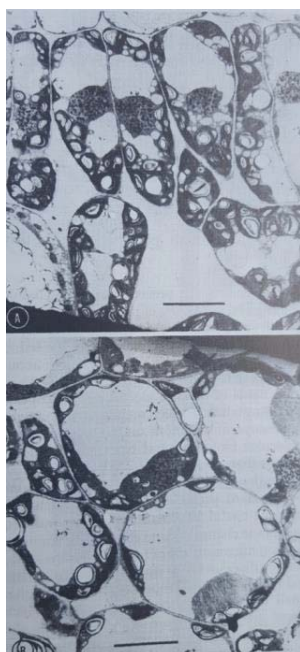
Posledica sprečavanja stvaranja hloroplasta u zaraženim ćelijama je reakcija obolelih biljaka, koje posle infekcije gube normalnu zelenu boju i postaju hlorotične. Hloroza zaraženih biljaka nastaje usled smanjenog broja hloroplasta u ćelijama. Tako je utvrđeno smanjenje procenta hloroplasta za 19,2% kod kukuruza i sirka, koji su bili zaraženi virusom mozaične kržljivosti kukuruza (*Maize dwarf mosaic virus*). Prosečna veličina hloroplasta u zaraženim ćelijama je bila manja (2,4 x 3,6  $\mu\text{m}$ ) u poređenju na veličinu hloroplasta (3,0 x 3,6  $\mu\text{m}$ ) u zdravim ćelijama (Tu i Ford, 1968).

#### Promene u građi hloroplasta

Pod uticajem delovanja virusa dolazi do značajnih patoloških promena u građi hloroplasta. Patološko dejstvo virusne zaraze se ispoljava u promeni oblika hloroplasta, grupisanju, tj. agregiranju hloroplasta u različitom stepenu, stvaranju mehura (vezikula) u hloroplastima, fragmentaciji hloroplasta, deformacijom grana hloroplasta (redukcija visine grane) i dr.

Kod biljaka kineskog zelja, koje su bile zaražene virusom žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus*, TYMV) dolazi do značajnih promena u građi hloroplasta. Hloroplasti u zaraženim ćelijama postaju zaobljeni i grupišu se u blizini ćelijskog zida u agregirane tvorevine više njih zajedno. Oni se peharasto ulubljuju obično sa udubljenjem okrenutim prema ćelijskom zidu. U hloroplastima se obrazuju mnogobrojni mehuri (mehuravost hloroplasta), koji su povezani sa njihovom membranom. Neki sojevi ovog virusa mogu da prouzrokuju i fragmentaciju hloroplasta, a beli sojevi prouzrokuju degeneraciju grana (Matthews, 1970). Kod hloroplasta u hlorotičnim delovima lista ječma, zaraženog virusom prugastog mozaika ječma (*Barley stripe mosaic virus*, BSMV) utvrđen je manji broj grana i redukcija visine grana (Gardner, 1967).

Na slici III.1. prikazane su zdrave i zaražene ćelije duvana virusom mozaika duvana (TMV). Na donjoj slici uočava se abnormalno uvećanje i promene u obliku zaraženih ćelija. Jedra se u zaraženim ćelijama ne nalaze u centru kao kod zdravih ćelija.



Slika III. 1. Uticaj virusa mozaika duvana na veličinu i strukturu zaraženih ćelija (gornja slika (A) zdrave biljne ćelije); donja slika (B) zaražene ćelije (uz dozvolu P. Atkinson-a)

Virusne infekcije mogu štetno da deluju na pigmente plastida, a posebno na hlorofil i karotinoid. Kao posledica virusnih zaraza obično dolazi do smanjenja količine pigmenata u plastidima. Sistemične zaraze pojedinim sojevima virusa mozaika duvana različito deluju na smanjenje količine pigmenata u plastidima lista duvana. Tako napr. soj ovog virusa, koji prouzrokuje žuti mozaik duvana smanjuje količinu hlorofila za 56,7%, karotina za 60,7% i ksantofila za 53,1% u poređenju sa količinom ovih pigmenata kod zdravih biljaka (McKinney, 1938, loc.cit. Bawden, 1964).

Mehanizam delovanja virusa na pigmente plastida nije još u potpunosti objašnjen. Međutim, smatra se da virusna zaraza može dvojako da deluje na količinu pigmenata. Virusna infekcija narušava proces sinteze hlorofila u biljnoj ćeliji na taj način što smanjuje aktivnost fermenta hlorofilaze i glikolaktoksidaze i dr., koji učestvuju u sintezi hlorofila. Drugi način delovanja virusa je razgradnja hlorofila time što se narušava njegova veza sa proteinima, pri čemu hlorofil podleže daljoj razgradnji pod dejstvom aktivisanog fermenta hlorofilaze.

### *Virusne ćelijske inkluzije*

Najveće promene koje se javljaju u ćelijama biljaka zaraženih virusima je prisustvo virusnih čestica i ćelijskih inkluzija u ćelijama. Virusne čestice u ćelijama su strane strukture i predstavljaju nenormalni sastojak u odnosu na zdrave ćelije. Virusi obično naseljavaju citoplazmu ćelije, ali se mogu naći i u drugim ćelijskim delovima kao što su jedro, jedarce, perinuklearni prostor (prostor između unutrašnje i spoljne membrane jedra), hloroplasti i druge ćelijske organele.

Virusne čestice nekih sojeva virusa mozaika duvana nalaze se samo u citoplazmi, dok se čestice drugih sojeva ovog virusa mogu naći i u hloroplastima i u jedru. Čestice virusa

žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus*, PYDV) utvrđene su samo u perinuklearnom prostoru.

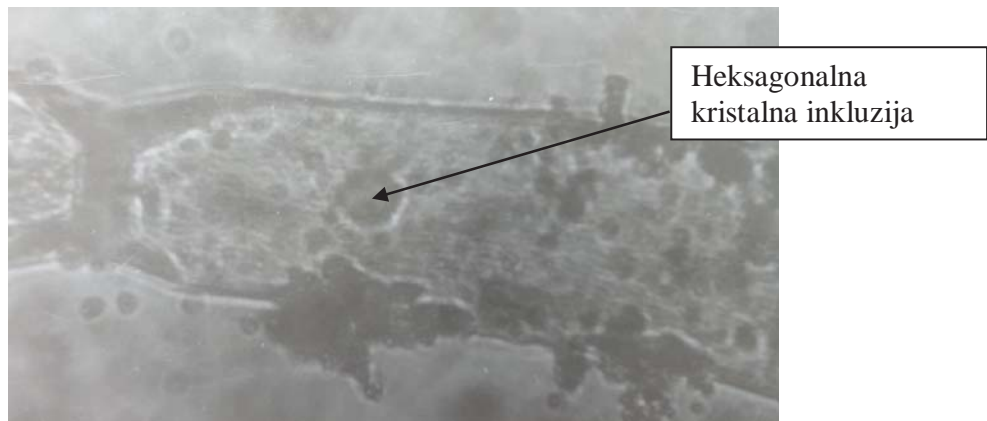
Virusne čestice mogu da budu rasute ili razbacane u citoplazmi zaražene ćelije ili se one skupljaju na pojedinim mestima u citoplazmi. Mesto gde se virusne čestice nakupljaju, odnosno agregiraju u citoplazmi naziva se viroplazmom. Često se u viroplazmi može agregirati toliko mnogo čestica da one stvaraju velike tvorevine vidljive pomoću svetlosnog mikroskopa. Te tvorevine ili tela razlikuju se od ostalih ćelijskih struktura i ne javljaju se u zdravim ćelijama. Ove strukture, koje se nalaze samo u inficiranim ćelijama se nazivaju *virusne ćelijske inkluzije* ili virusne ćelijske uklopine (intercelularne inkluzije).

Postoji veći broj tipova virusnih ćelijskih inkluzija, koji se razlikuju po obliku i građi. Tip (vrsta) ćelijske inkluzije može da bude karakterističan za pojedine vrste virusa. Međutim, potrebno je naglasiti da jedna vrsta virusa može da stvara različite tipove ćelijskih inkluzija. Neki put tip stvorenih virusnih ćelijskih inkluzija može da posluži za identifikaciju virusa. Oblik i sastav virusnih inkluzija varira. Prema obliku i sastavu virusne ćelijske inkluzije mogu da budu svrstane u tri osnovne grupe:

#### Kristalne virusne inkluzije

U prvu grupu virusnih inkluzija spadaju kristalne inkluzije. Kristalne inkluzije su po pravilu izgrađene samo od virusnih čestica. Ove čestice su pravilno raspoređene, tako da obrazuju trodimenzionalne kristalne strukture romboida, heksagonalnih ili izduženih prizmi. Ove strukture mogu da se povećavaju formirajući kristale dovoljno velike da se mogu posmatrati pod svetlosnim mikroskopom ili one mogu ostati kao male tvorevine, vidljive samo pomoću elektronskog mikroskopa. Mogućnost obrazovanja kristalnih inkluzija u ćelijama zaraženih biljaka zavisi samo od svojstva (osobina) svakog virusa posebno i nije u vezi sa koncentracijom virusa u zaraženoj ćeliji.

Kristalne inkluzije često formiraju virusi iz roda *Tobamovirus*. Postoji nekoliko tipova ovih inkluzija. Osnovni tip inkluzija, koje stvaraju virusi iz ovog roda su kristali u obliku heksagonalnih prizmi (Slika III. 2.).



Slika III.2. Kristalna inkluzija u ćeliji lisne dlačice paradajza zaražene virusom mozaika duvana (Foto: Jasnić)

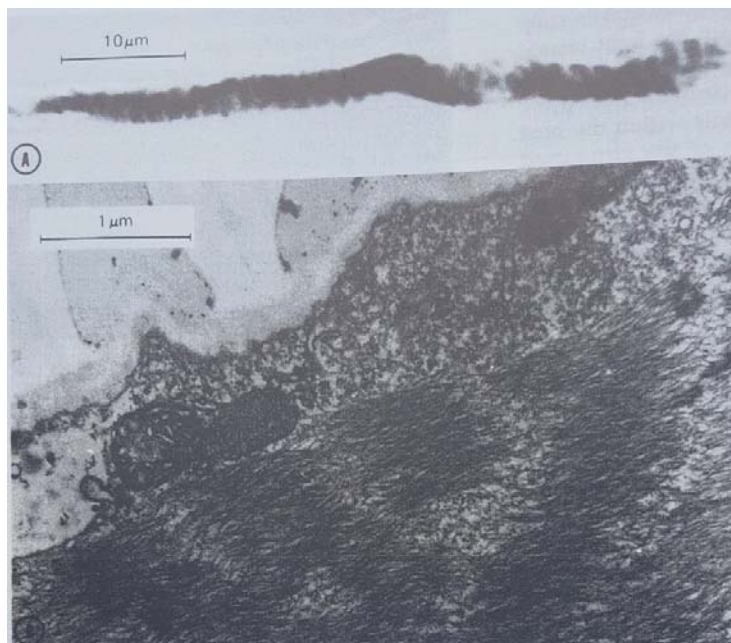
Ovi kristali se sastoje od više slojeva (3-8) gusto zbijenih (agregiranih) virusnih čestica u kojima su štapičaste čestice jednog sloja postavljene pod pravim uglom na drugi sloj duž njihove duže ose (Steere i Williams, 1953). Ove prizme su pravi poliedarni kristali



sagrađeni od pravilno poređanih slojeva virusnih čestica u šestougaoni (heksagonalni) oblik (Warmke i Edwardson, 1966). U listovima duvana i paradajza, koji ispoljavaju simptome mozaika izazvane virusom mozaika duvana u ćelijama lisnih dlačica i epidermisa, koje se nalaze iznad žutozelenih obojenih površina mogu da se uoče heksagonalne kristalne inkluzije pomoću svetlosnog mikroskopa. Ćelije tamnozelenih površina liske ne sadže ove inkluzije.

Drugi tip kristalnih inkluzija ima oblik okruglastih (kružnih) pločica. Ove inkluzije se sastoje od pet slojeva. Svaki sloj je sačinjen od gusto zbijenih agregiranih virusnih čestica i kružnog je oblika. Gornji sloj ima najmanju površinu, koja se postepeno povećava od gornjih ka donjim slojevima, formirajući stepenaste kristalne tvorevine. Ovaj tip inkluzija je karakterističan za virus mozaika bokvice (*Ribgrass mosaic virus*, RMV) i virus zeleno-šarenog mozaika krastavca (*Cucumber green mottle virus*, CGMMV), koji pripadaju rodu *Tobamovirus*.

I mnogi drugi virusi stvaraju kristalne inkluzije, koje mogu da budu različitih oblika, pošto se virusne čestice agregiraju na različite načine. Tako napr. izometrijske čestice virusa bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) se grupišu u opnaste kese. Fleksibilne čestice virusa žutice šećerne repe (*Beet yellow virus*, BYV) se sakupljaju u obliku svežnjeva, odnosno snopova ili vretena (Slika III. 3).



Slika III.3. Vretenasta inkluzija virusa žutice šećerne repe (gornja slika, A snimljena svetlosnim mikroskopom, a donja elektronskim) Foto: Esau et al. (1966)

Vretena se obrazuju tako što se izdužene virusne čestice agregiraju longitudinalno i lateralno stvarajući parakristalna vretenasta tela (svežnje). Kraj jednog vretena (svežnja) spaja se sa krajem drugog, gradeći na taj način duge trakaste inkluzije (Cronshaw et al., 1966), vidljive pomoću svetlosnog mikroskopa. Biljke zaražene nekim izometrijskim virusnim česticama, kao što je napr. virus mozaika gušarke (*Arabidopsis mosaic virus*, ArMV) mogu da sadže u zaraženim ćelijama prave trodimenzionalne kristale, koji su sagrađeni od virusnih čestica. Neki sojevi virusa uvelosti boba (*Broad bean wilt virus*, BBWV) stvaraju inkluzije u obliku cilindričnih cevčica, sastavljenih od virusa. Ove inkluzije se obrazuju u

vidu kvadratnih ili pravougaonih šupljih cevi, čiji su zidovi sačinjeni od dva paralelna reda virusnih čestica (Russo et al., 1979). Utvrđene su, takođe, i inkluzije cevastih struktura, koje su sastavljene od virusnih proteina. Ove inkluzije su pronađene u ćelijama biljaka, koje su bile zaražene nekim sojevima virusa žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus*, TYMV).

#### Amorfne virusne inkluzije

U drugu grupu virusnih inkluzija spadaju i amorfne inkluzije ili tzv. „X-tela“ (Goldstein, 1924). „X-tela“ ili amorfne inkluzije su okruglastog ili ovalnog oblika i mogu da sadrže i vakuole (Slika III.4).



Slika III.4. Amorfne inkluzije u lisnim dlačicama paradajza zaraženih virusom mozaika duvana (Foto: Jasnić)

Njihova građa, struktura i način formiranja variraju i menjaju se zavisno od vrste virusa. Najčešće u građi amorfnih inkluzija učestvuju obično virusne čestice zajedno sa ćelijskim delovima, kao što su mitohondrije, ribozomi, plastidi, endoplazmatski retikulum i dr. Virusne čestice u amorfnim inkluzijama su nepravilno raspoređene. Osim virusnih čestica i ćelijskih organela ove inkluzije sadrže i neke druge materije, kao što su proteini i lipidi. Biljke domaćini ne utiču značajnije na građu i nastanak amorfnih inkluzija.

Ovaj tip inkluzija je čest kod biljaka zaraženih virusom mozaika duvana, kao i kod biljaka zaraženih Y i X virusima krompira. Amorfne inkluzije se najčešće stvaraju u citoplazmi, ali se neki put mogu naći i u jedru. Tako napr. virus mozaika postrne repe stvara „X-tela“ u citoplazmi. Ona sadrže kristalne iglice sastavljene od virusnih čestica, kapljice lipida, mitohondrije i plastide, kao ćelijske organele. Neki virusi leguminoza formiraju slična „X-tela“ u jedru zaraženih ćelija. Veličina amorfnih inkluzija se kreće od 1-30  $\mu\text{m}$ , što omogućava njihovo posmatranje pod svetlosnim mikroskopom.

#### Cilindrične virusne inkluzije

U treću grupu inkluzija spadaju inkluzije sagrađene od proteina, koji serološki ne odgovara kapsidu virusa, koji je prouzrokovao stvaranje ovih inkluzija. Za razliku od ćelijskih kristalnih inkluzija, koje se vide običnim svetlosnim mikroskopom, ova grupa inkluzija je submikroskopske veličine i može da se vidi samo pomoću elektronskog mikroskopa.

Takvu vrstu inkluzija stvaraju virusi iz roda *Potyvirus* - končasti virusi dužine između 700 i 800 nm (virus šarke šljive *Plum pox virus*; Y virus krompira *Potato Y virus* i dr.). One su poznate kao cilindrične inkluzije (Hiebert i McDonald, 1973) i formiraju se u citoplazmi zaraženih ćelija. Cilindrične inkluzije, kada su potpuno oformljene sastoje se od središnjeg cilindra tj. centranog kanala od kojeg se zrakasto (radijalno) pružaju 10-20 tankih zakrivljenih izbrazdanih pravougaonih ili trouglastih ploča tzv. „krakova“ ili „ruku“ ili „lamela“. Cilindrične inkluzije na poprečnom preseku imaju oblik vodeničnog vitla (točka) sa savijenim krilcima u jednu stranu (Mernaugh et al., 1980). Zbog svog izgleda ove inkluzije su u literaturi opisane kao inkluzije u obliku vodeničnog vitla tzv. „pinwheel strukture“ (engl. pinwheel=vodenično vitlo) (Slika III.5.). Cilindrične inkluzije su u hemijskom smislu proteini, čiji polipeptidni lanac ima molekulsku težinu  $60 \times 70 \times 10^6$  daltona. Protein cilindričnih inkluzija kodira virusna nukleinska kiselina.



Slika III.5. Cilindrične inkluzije oblika vodeničnog vitla

### *Patohistološke promene*

Makroskopske promene, koje se javljaju kao posledica virusnih zaraza, a koje su izražene kao vidljivi simptomi bolesti najčešće su prouzrokovane patohistološkim promenama tkiva unutar zaražene biljke. Ove promene u tkivima obolelih biljaka-histopatološke promene su uzrokovane patocitološkim promenama ćelija iz kojih su sagrađena određena tkiva. Patohistološke promene utiču na građu i funkciju tkiva obolelih biljaka.

Patohistološke promene obuhvataju više tipova promena tkiva i njihovih funkcija:

- promene zbog poremećaja u deobi ćelija u toku nastajanja tkiva su histogene promene. One mogu da budu *hiperplastične*, kada se ćelije ubrzano dele, *hipoplastične*, kada se ćelije sporije (usporeno) dele i *abortivne* promene, kada prestaje deljenje ćelija.
- promene zbog poremećaja u rastu i obliku ćelija su *histotrofične* promene
- promene zbog nastajanja novih tkiva su *neoplastične* (neoplazmatske) promene
- promene zbog transformacije (preobražaja) jednog tkiva u drugo su *metaplazmatske* promene
- promene zbog nastajanja posebnih izraslina na zaraženim biljnim delovima su *strukturne* promene i
- promene zbog uginjavanja zaraženih ćelija, tj. tkiva su *nekrogene* promene

## *Histogene promene*

Virusne zaraze mogu da prouzrokuju povećano deljenje ćelija-hiperplaziju ćelija, kada se u tkivima stvara veći broj ćelija od normalnog. Ove promene se nazivaju hiperplastične promene. Posledica ovih promena je stvaranje nenormalnih struktura na zaraženim biljnim delovima, kao što su razni izraštaji, bradavice i tumori.

### Enacije

Neki virusi, usled ubrzanog deljenja ćelija prouzrokuju pojavu enacija. Enacije su lokalni izraštaji, koji se obično javljaju oko nerava na epidermalnim ćelijama naličja lista. Enacije predstavljaju deformaciju tkiva u vidu ispupčenja oblika grebena ili grba, čipkastog izgleda, ograničenog oko nerava obolelih listova. Veći broj virusa može izazvati pojavu enacija. Spomenućemo virus enacijskog mozaika graška (*Pea enation mosaic virus*, PEMV) i virus infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV). Ovi virusi obrazuju enacije oko nerava zaraženih listova.

### Tumoralni izraštaji-tumori

Usled povećane deobe ćelija i stvaranja većeg broja ćelija u odnosu na zdrava tkiva, virusi mogu da izazovu pojavu tumoralnih izraslina, odnosno tumora. Tkivo tumora je slabije organizovano sa manje diferenciranim ćelijama u odnosu na tkivo enacija. Virus iz grupe prouzrokovaca tumoralnih rana formiraju tumore na stablu i korenu zaraženih biljaka u obliku manjih ili većih izraslina (guka). Tako napr. virus tumoralnih rana deteline (*Clover wound tumor virus*) prouzrokuje tumore kako na stablu, tako i na korenu deteline. U okviru ovih tumora tkivo puca stvarajući rane.

### Bradavičavost, klobučavost i naboranost

Mnogi virusi mogu da prouzrokuju pojavu bradavičavosti, najčešće na plodovima, odnosno pojavu klobučavosti i naboranosti na listovima zaraženih biljaka (Slika III.13). Takve promene nastaju, pošto pojedini delovi biljaka pojačano rastu, usled povećane deobe ćelija. Ispupčenja, odnosno udubljenja na zaraženim delovima nastaju zato što okolno tkivo raste sporije, tj deoba ćelija je normalna. Pojava bradavica u vidu manjih ili većih ispupčenja na plodovima krastavca prouzrokuju virus mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV) i virus prstenaste pegavosti duvana (*Tobacco ringspot virus*, TRSV). Virus običnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic virus*, BCMV) prouzrokuje talasaste nabore, usled povećanog deljenja ćelija u pojedinim delovima lista, što liski daje klobučav izgled.

### Zadebljanost liske

Pojedini virusi mogu da prouzrokuju zadebljavanje delova zaraženih liski, što se ispoljava u elastičnosti i obliku liske. Tako napr. virus žutice šećerne repe (*Beet yellows virus*, BYV) prouzrokuje u žutim delovima liske repe povećano deljenje i razvoj ćelija mezofila, zbog čega su ovi delovi znatno deblji od zelenih i od lišća zdravih biljaka.

### Hipoplastične promene tkiva

Virusi mogu da uzrokuju i pojavu smanjenja deobe ćelija u tkivima zaraženih bljaka, zbog čega ova tkiva imaju manji broj ćelija od tkiva zdravih biljaka. Ova pojava se naziva

hipoplazija, a obolela tkiva su hipoplastična tkiva ili hipoplastični organi. Hipoplastična tkiva i organi biljke, koje sačinjavaju obolela tkiva, obično zaostaju u porastu i dobijaju kržljiv izgled. Tako napr. virus uvijenosi lišća krompira (*Potato leaf roll virus*, PLRV) prouzrokuje stvaranje sitnih kržljivih krtola krompira, što se nepovoljno odražava na prinos. Slično virus žutice šećerne repe smanjuje, usled hipoplazije ćelija korensku masu repe za oko 30%. Usled smanjenja broja ćelija virus infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV) prouzrokuje skraćivanje internodija lastara loze.

#### Abortivne promene tkiva

Neki virusi mogu u potpunosti da zaustave deobu ćelija u zaraženim tkivima. Odsustvovanje deobe ćelija, usled čega pojedina tkiva uopšte ne mogu da se stvaraju, naziva se abortivnim promenama. Posledice ovakvog delovanja virusa su velike promene u izgledu pojedinih delova zaraženih biljaka.

#### Peršunavost lista

Kod biljaka sa ovim tipom promena, zbog izostanka obrazovanja ćelija parenhimskog tkiva, stvaraju se duboki urezi između nerava lista, tako da list dobija izgled lista peršuna, po kome je ovaj tip simptoma dobio ime. Takve simptome na listovima vinove loze prouzrokuje virus infektivne degeneracije (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV).

#### Nitavost lista

Ove promene se ispoljavaju na listovima paradajza, koji su zaraženi virusima mozaika duvana i krastavca (TMV i CMV). Kod zaraženih listova prestaju da se obrazuju ćelije parenhimskog tkiva, kao i ostalih pratećih tkiva, tako da redukcija površine liske, može biti tolika da od nje ostaje samo glavni nerv sa nešto malo okolnih tkiva. Takvi listovi dobijaju izgled nitastih ili končastih tvorevina, a ovaj tip simptoma se naziva nitavost, odnosno končavost lista (Slika III.14).

#### Uginjavanje biljaka

Abortivne promene, prouzrokovane virusima mogu veoma retko da zahvate sve biljne delove, što dovodi do uginjavanja celih biljaka. Tako napr. virus žutog mozaika pasulja (*Bean yellow mosaic virus*, BYMV) može da prouzrokuje uginjavanje i do 30% zaraženih biljaka crvene deteline.

### *Histotrofične promene*

Histotrofične promene predstavljaju promene u veličini i obliku zaraženih ćelija. Ćelije mogu da se povećavaju u odnosu na zdrave, što predstavlja hipertrofiju ili da se smanjuju, što predstavlja hipotrofiju ćelija. Hipertrofija ćelija se obično javlja sa pojavom hiperplastičnih ćelija i zajedno sa njima stvara različite izraštaje tipa tumora. Pojava enacija na zaraženim listovima je posledica hipertrofije i hiperplazije ćelija parenhima lista. Tako u građi enacija na listu graška, zaraženog virusom enacijskog mozaika (*Pea enation mosaic virus*, PEMV) učestvuju hipertrofične i hiperplastične ćelije. Posledica hipertrofije ćelija su simptomi u obliku lokalnih zadebljanja na organima zaražene biljke.

Lišće sa simptomima mozaika izgrađeno je od hipotrofičnih ćelija u žuto obojenim površinama lista. U ovim delovima list je tanji, usled smanjene veličine ćelija u odnosu na

zelene površine. Hipotrofija se najčešće javlja kod palisadnih ćelija, koje ostaju nerazvijene kraće, tj. manje u odnosu na zdrave ćelije. Ovakav tip simptoma ispoljavaju biljke zaražene virusom običnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic virus*, BCMV), virusom mozaika šećerne repe (*Beet mosaic virus*, BtMV) i drugim.

### *Neoplazmatične (neoplastične) promene*

Neoplastične promene kod zaraženih biljaka se ispoljavaju stvaranjem novih tkiva, pod dejstvom virusne zaraze. Neoplastične promene se posebno javljaju u mladim tkivima floema i ksilema prilikom virusnih zaraza biljaka, koje su još u porastu.

Primer neoplastičnih promena predstavljaju promene u tkivu floema šećerne repe, duvana i paradajza, zaraženih virusom kovrdžavosti vrha šećerne repe (*Beet curly top virus*, BCTV). Kod zaraženih biljaka javlja se prvo degeneracija prvobitnog floema, a zatim dolazi do hiperplastičnog stvaranja novog floemskog i ksilemskog tkiva, koje prati obrazovanje velikog broja sitastih ćelija od kojih se formiraju nove sitaste cevi (Esau, 1941., loc.cit.Gibbs i Harisson, 1976).

### *Metaplazmatske promene*

Takve promene, gde se pod uticajem virusne zaraze jedan tip tkiva transformiše (preobražava) u drugi tip tkiva, dobijajući novu građu i funkciju nazivaju se metaplazmatske promene. Ovim promenama su najčešće izložene parenhimske ćelije, kao najmanje izdiferencirane ćelije u biljci. Jedna od najčešćih metaplazmatskih promena je pretvaranje (transformacija) parenhimskog tkiva u ćelije meristemskog tkiva. Ovim procesom parenhimske trajne ćelije preuzimaju funkciju meristemskih iz kojih su prvobitno nastale, zbog čega se ovaj proces naziva reverzija, a pošto se u njemu najčešće stvaraju meristemske ćelije može se označiti i kao proces meristemizacije.

Preobražavanje parenhimskog tkiva u krtolama krompira, zaraženog virusom mozaika krompira, tj. X virusom (*Potato virus X*) u meristemsko tkivo je primer metaplazmatskih promena. U krtolama krompira zaraženih ovim virusom dolazi do pojave lokalne nekroze ćelija oko mesta infekcije. Oko takvih nekrotičnih ćelija iz nezaraženih parenhimskih ćelija nastaje sekundarni meristem (plutni kambijum). Deobom ćelija plutnog meristemskog tkiva oko nekrotičnih ćelija stvara se zaštitno tkivo pluta, koje vrši izolaciju virusa i sprečava njegovo dalje širenje u okolna tkiva. Ovaj proces predstavlja odbrambenu reakciju biljke na virusnu zarazu. Tumori, koji nastaju na stablu i korenu deteline, prouzrokovani virusom tumora deteline (*Clover wound tumor virus*, CWTV) posledica su transformacije ćelija floemskog parenhima u meristemske ćelije, koje se potom hiperplastično dele obrazujući tumorska tkiva ili tumore (Lee i Black, 1955).

Virusne zaraze mogu da prouzrokuju metaplazmatske promene, samo na pojedinačnim tipovima ćelija, gde se jedan tip preobražava u drugi tip ćelija, menjajući njenu funkciju, odnosno funkciju tkiva, koje sačinjavaju te ćelije. Neki virusi prouzrokuju lignifikaciju, odnosno zdrvenjavanje zidova ćelija parenhima. Primer ove pojave je oboljenje kamenitost plodova kruške (*Pear stony pit disease*). U napadnutim delovima ploda pojedine ćelije parenhima odrvenjavaju i obrazuju se tzv. "kamene ćelije" usled čega plodovi postaju zdrvenjeni i tvrdi, te se teško mogu seći.

U metaplazmatske promene mogu se svrstati i sekundarne hemijske promene u koje se ubraja formiranje i taloženje kaloze na sitastoj ploči floema posle nekroze ćelija. Takve promene prouzrokuje virus žute patuljivosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV) i drugi virusi, prouzrokovali žutica.

### *Strukturne promene*

Delovanjem nekih virusa dolazi do pojave posebnih patoloških tvorevina u tkivu ksilema. Ove tvorevine nastaju iz parenhimskih ćelija sudovnog tkiva u lumenu sudova. Jedna od takvih promena je stvaranje „endovaskularnog kordona“, koji predstavlja zdrvenjenu traku u sudovima. Ovaj tip simptoma uzrokuje virus infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV) u sudovima ove biljne vrste.

Patološki proces nazvan tiloza prouzrokuje većina virusa, prouzrokovala žutica. Tiloze, kao strukturne promene nastaju kao posledica stvaranja struktura nazvanih tile od parenhimskih ćelija sudova. Tile u lumenima sudova mogu da spreče protok vode kroz traheje i traheide. Ova pojava javlja se kod biljaka zaraženih virusom žute patuljivosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV).

### *Nekrogene promene*

Izumiranje ćelija, tkiva ili biljnih organa predstavljaju nekrogene promene, odnosno nekrozu. Pod uticajem virusnih zaraza nekroze mogu da zahvate sva tkiva biljke, kao što su pokorično, meristemsko, parenhimsko i sprovodno. Nekroze mogu biti lokalne, delimično sistemične ili sistemične u zavisnosti od obima širenja virusa u zaraženoj biljci (Slika III.12).

Lokalne nekroze su u vidu nekrotičnih lezija, odnosno pega, koje se javljaju na mestima primarne infekcije. Neke biljke reaguju na virusnu zarazu tako što njihove zaražene ćelije izumiru, odnosno nekrotiraju. Izumiranjem ćelija sprečava se širenje virusa, kao obligatnog parazita u okolne zdrave ćelije. Nekrogene promene se javljaju kod preosetljivih (hipersensitivnih) biljaka i predstavljaju odbrambenu reakciju biljke domaćina. Opšte poznat primer je reakcija duvana (*Nicotiana glutinosa*) na zarazu virusom mozaika duvana. Na listovima zaraženog duvana javljaju se lokalne nekroze, odnosno pege, koje se obrazuju od nekrotiranih ćelija.

Delimično sistemične nekroze mogu da obuhvate pojedine delove biljke. Ove nekroze se šire i van mesta primarnih infekcija, često duž nerava oko mesta zaraze. Delimičnu sistemičnu nekrozu prouzrokuje virus mozaika duvana na pasulju.

Sistemične nekroze obuhvataju više tkiva biljke i brzo se šire prouzrokujući često uginjavanje cele biljke. Tako napr. virus mozaika krompira (X-virus krompira) kod nekih sorti krompira prouzrokuje nekrotične pruge na stablu. Nekroza se brzo širi i zahvata vršni meristem, tj. temeni pupoljak biljke, što dovodi do potpunog sušenja (nekroze), odnosno propadanja cele biljke.

### *Patofiziološke promene*

Virusne zaraze značajno utiču na fiziološke procese u obolelim biljkama. Kao posledica patocitoloških i patohistoloških promena javljaju se promene u fiziološkim

aktivnostima zaraženih biljaka, koje mogu značajno da se razlikuju od fizioloških procesa kod zdravih biljaka. Patofiziološke promene nastaju u početku zaraze i predstavljaju primarnu reakciju biljke na virusne infekcije. Virusne infekcije najčešće deluju na promene u procesima fotosinteze, respiracije, proteosinteze, hormonsku aktivnost i drugo.

### *Promene u fotosintezi*

Poznat je štetan uticaj virusnih zaraza na građu i formiranje hloroplasta. Patološke promene na hloroplastima i sprečavanje njihovog obrazovanja, usled delovanja virusa, umanjuje intenzitet fotosinteze kod zaraženih biljaka. Rezultati dosadašnjih istraživanja fotosinteze pokazuju da je po pravilu kod viroznih biljaka intenzitet fotosinteze smanjen u odnosu na zdrave biljke. U prilog ovom mišljenju postoji čitav niz primera. Tako napr. virus uvijenosti lišća krompira (*Potato leaf roll virus*, PLRV) smanjuje u krompiru količinu hlorofila za 64-76%, a energiju fotosinteze za 60% (Kuprevič, 1947). Virus mozaične kržljivosti kukuruza (*Maize dwarf mosaic virus*) smanjuje u zaraženom lišću kukuruza veličinu hloroplasta za 18%, njihovu ukupnu količinu za 24%, dok je fotosinteza kod ovih biljaka smanjena za 31% (Tu i Ford, 1968). Prema Goodman et al. (1967) intenzitet fotosinteze obolelih biljaka može biti smanjen za 20-25%.

U zaraženim biljkama javlja se i poremećaj u metaboličkim procesima, koji se dešavaju pod uticajem fotosinteze. Kao posledica ovih poremećaja dolazi do smanjenja Hilove reakcije, slabijeg vezivanja CO<sub>2</sub>, poremećaja u Kalvinovom ciklusu i dr. Najveće štetne promene u procesu fotosinteze prouzrokuju virusi prouzrokovajući žutica i uvijenosti lišća, dok prouzrokovajući mozaika imaju znatno manje negativno dejstvo na fotosintezu.

### *Promene u respiraciji*

Jedan od osnovnih fizioloških procesa u biljkama je respiracija, odnosno disanje biljaka. Respiracija spada u osnovne životne funkcije, koje omogućavaju razgradnju organskih jedinjenja, oslobađanje energije i utiču na ugljenikovu građu u ćeliji. Ovi uzastopni procesi se pod uticajem virusne zaraze menjaju. Kod zaraženih biljaka disanje se u većini slučajeva povećava i to najviše u početnim (prvim) fazama bolesti. U vreme pojavljivanja prvih simptoma bolesti respiracija se povećava, a posle u kasnijim fazama razvoja bolesti ona se smanjuje i približava normalnom nivou disanja, kao kod zdravih biljaka. Visokim intenzitetom respiracije odlikuje se, prema tome, akutna faza bolesti, dok se u hroničnoj fazi ona približava respiraciji zdravih biljaka.

Postoji veliki broj podataka o uticaju virusnih zaraza na respiraciju biljaka. Listovi duvana, zaraženog virusom mozaika krompira (*Potato virus X*, PVX) u vreme pojave prvih simptoma mozaika imali su povećanu respiraciju za 30% (Owen, 1958). Drastično povećanje respiracije za 270% javlja se kod biljaka ječma, zaraženih virusom žute patuljivosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV) (Jensen, 1968). Zaključuje se da se respiracija može povećati u značajnoj meri početkom razvoja bolesti (u vreme pojave simptoma), a da se kasnije, početkom hronične faze bolesti smanjuje u pravcu normalnih vrednosti respiracije zdravih biljaka.

Poremećaji u respiraciji viroznih biljaka prouzrokuju stvaranje povećane količine organskih kiselina u Krebsovom ciklusu, kao i promene drugih faza aerobnog ciklusa zaraženih biljaka. Istraživanja su pokazala da povećana respiracija prouzrokuje i pojačanu



aktivnost oksidativnih fermenta, kao što su peroksidaza i polifenoloksidaza. Suprotno ovome aktivnost fermenta katalaze se smanjuje kod obolelih biljaka.

### *Promene u proteosintezi*

U biljkama zaraženim virusima mogu da nastanu promene u sintezi proteina, zbog patološkog delovanja virusa na ribosome ćelijske organele, koje vrše proteosintezu. Virusi mogu da deluju, kako na ukupnu količinu, tako i na kvalitetni sastav proteina u biljci. Dosadašnja ispitivanja ukazuju da virusne zaraze malo utiču na ukupnu količinu proteina, tj. na njegov kvantitativni sastav. Međutim, virusne zaraze prouzrokuju značajne poremećaje u sintezi proteina, menjajući sastav ukupnih proteina, odnosno njegov kvalitativni sastav u zaraženim biljkama.

Sintezom virusnih čestica stvaraju se velike količine kapsidnog virusnog proteina, naročito kod virusa, koji se nalaze u velikim koncentracijama u zaraženim ćelijama biljaka domaćina (virus mozaika duvana, X i Y virusi krompira i dr.). Tako kod zaraza virusom mozaika duvana na virusni protein se može odnositi i do 30% od ukupnih rastvorljivih proteina ćelije. Osim virusnih proteina u zaraženoj biljci dolazi, pod dejstvom virusa do stvaranja interferona. Interferoni su proteini, koji imaju ulogu sprečavanja virusnih infekcija, pošto ometaju transkripciju i translaciju virusne nukleinske kiseline.

Virusne zaraze ispoljavaju i različit uticaj na količinu slobodnih aminokiselina i amida u zaraženim biljkama. Povećana količina ovih jedinjenja je utvrđena u biljkama zaraženim nekim vrstama virusa. U ovu grupu spada virus uvijenosti lišća krompira (*Potato leaf roll virus*, PLRV), koji povećava količinu aminokiseline prolina, a virus crtičastog mozaika krompira (*Potato Y virus*, PVY) prouzrokuje povećanje prolina i amida asparagina i glutamina u zaraženim biljkama (Goodman et al., 1967).

Biljke domaćini, koje reaguju hipersenzibilnim reakcijama (nekrotične lezije) na virusnu zarazu stvaraju u ćelijama više rastvorljivih proteina kao odgovor na nastanak infekcije (bolesti). To su PR-proteini, tj. proteini povezani sa patogenezom (od engl. pathogenesis related proteins). Postoje dve vrste takvih proteina, kiselih PR i baznih PR proteini. Tako napr. duvan sorte Samsun NN, koji je zaražen virusom mozaika duvana stvara najmanje 14 kiselih PR proteina. Oni su rastvorljivi na pH 3, te su otporni na proteaze. Stvaranje PR-proteina u biljkama je opšta odbrambena reakcija, a ne specifični odgovor na virusnu infekciju.

### *Makroskopske promene viroznih biljaka-simptomi oboljenja (Budakov, D.)*

Simptomi biljnih viroza su naročito bili značajni u početku razvoja biljne virusologije, pre mogućnosti da se virusi izoluju i proučavaju, kada se dijagnostika biljnih viroza, identifikacija virusa kao prouzrokovala bolesti i taksonomska klasifikacija zasnivala na makroskopskom proučavanju promena na biljkama. Najveći broj virusnih oboljenja u svom nazivu opisuje dominantan simptom oboljenja koji prouzrokuje, kao i domaćina na kojem je virus prvi put opisan. Međutim, dijagnostika biljnih virusa na osnovu makroskopskih promena na biljkama nosi određene izazove iz razloga što se jasni simptomi mogu izostati zbog:

1. Infekcije manje patogenim sojem virusa;

2. Postojanja tolerantnosti kod biljke domaćina;
3. Privednog oporavka biljke zbog novoformirane lisne mase;
4. Pregleda listova koji su zbog svoje pozicije na biljci ili zbog svog uzrasta izbegli infekciju;
5. Preovladavanja tamno zelenih zona u okviru mozaičnih listova;
6. Kod biljaka koje su zaražene kriptičkim virusima.

Ipak, poznavanje simptomatologije biljnih viroza je od velikog značaja jer prepoznavanje karakterističnih promena na biljkama olakšava suzbijanje i omogućava procenu šteta, naročito kod višegodišnjih biljnih vrsta i kod vegetativnog načina razmnožavanja (Hull, 2004).

### *Lokalni simptomi*

Pod lokalnim simptomima se podrazumevaju promene koje se dešavaju blizu mesta prodiranja virusa u biljku zbog čega se nazivaju i primarnim simptomima. Najuočljiviji su prilikom veštačkih inokulacija biljaka unošenjem virusa mehaničkim putem. Javljaju se takođe i prilikom infekcije biljaka putem vektora, na mestu njegove ishrane, ali su tada veoma sitni da bi golim okom mogli biti uočljivi. Postoji tri tipa lokalnih lezija ili pega, a koji će se tip obrazovati zavisi od virusa, osetljivosti domaćina i ekoloških uslova spoljašnje sredine:

1. Hlorotična lezija. Zaražena tkiva postaju hlorotična, jer ćelije u okviru njih gube hlorofil i druge pigmente. Takođe dolazi do smanjenja broja hloroplasta u ćelijama. Intenzitet hloroze može varirati od pojave diskretno svetlije nijanse zelene na listovima do potpuno izbeljenih zona.
2. Nekrotična lezija. Veoma često može doći do nekroze ćelija listova ili drugih biljnih delova. Ova nekroza se može manifestovati u vidu sitnih nekrotičnih zona, odnosno pega ili većih nepravilnih nekrotičnih površina. Vrlo često su ove pege oivičene hlorotičnim oreolom (Slika III. 6).



Slika III.6. Lokalne nekrotične pege na duvanu (Foto: Bagi)

3. Prstenaste pege. Manifestuju se u vidu nekrotičnih prstenova koji se sastoje od centralne grupe nekrotiranih ćelija iza kojih se obrazuje nekoliko koncentričnih krugova, gde se smenjuju zelene i nekrotirane zone. Kod nekih virusa simptomi se

mogu manifestovati u vidu hlorotičnih prstenova umesto nekrotičnih. Pojedine vrste virusa prouzrokuju lokalne hlorotične ili nekrotične lezije samo kada se prenose mehaničkim putem. Tako, virus žutice repe (*Beet yellows virus*, BYV) može prouzrokovati nekrotične pege na *Chenopodium capitatum*, ali se ova pojava izostaje kada se virus prenese putem zelene breskvine vaši (*Myzus persicae*) na neperzistentan način.

## *Sistemični simptomi*

Sistemični simptomi se nazivaju i sekundarnim simptomima jer nastaju kada se virus s mesta početne infekcije proširi na čitavu biljku. Sistemski simptomi se kod biljnih viroza javljaju u kombinaciji sledećih makroskopskih promena:

### 1. Uticaj na porast biljke

Najčešći simptom prouzrokovan virusnom infekcijom jeste smanjenje porasta biljke. Smatra se da ovaj tip simptoma u manjoj meri postoji i kod latentnih infekcija ili kod biljaka bez ispoljenih simptoma. Stepenn smanjenja porasta, odnosno kržljivosti je u korelaciji sa intenzitetom pojave drugih simptoma, naročito onih koji se javljaju kao posledica gubitka hlorofila. Kržljivost se javlja kao posledica smanjenja lisne površine i skraćivanja internodija biljke domaćina. Čak iako zaražena biljka ne pokazuje očigledne simptome oboljenja, za očekivati je određeno zaostajanje u porastu, koje može zahvatiti sve delove biljke manje ili više podjednako – listove, cvet, plodove, latice, internodije (slika III.7). U nekim slučajevima smanjenje porasta se može javiti na pojedinim biljnim delovima više nego na drugim. Tako se kod trešnje zaražene virusom kržljivosti šljive (*Prune dwarf virus*, PDV) ili virusom nekrotične prstenavosti šljive (*Prune necrotic ringspot virus*, PNRSV) simptomi ispoljavaju u vidu obrazovanja smanjenog broja plodova koji su normalne veličine, kao i obrazovanja sitnijeg semena loše klijavosti.

### 2. Mozaik i slični simptomi

Jedan od uobičajenih i najočiglednijih simptoma virusne infekcije jeste razvoj svetlo i tamno zelenih površina poput mozaika na zaraženim listovima (Slika III.8). Detaljna priroda mozaika može biti različita u zavisnosti od kombinacija domaćin-virus. Kod dikotiledonih biljaka, oblik mozaičnih zona je najčešće nepravilan. Mozaik može biti sastavljen od zona u kojima se smenjuju samo dve boje, tamno zelena i zeleno žuta, što je slučaj kod virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) na duvanu. S druge strane drugi virusi mogu prouzrokovati mozaik u vidu mnogo različitih nijansi žute i zelene boje (Hull, 2004). Prelaz između različito obojenih zona može biti oštar i jasan ili difuzan, tako da mozaik koji se sastoji od zona sličnih nijansi zelene nije ni moguće uočiti, što je slučaj sa slabo patogenim sojevima X virusa krompira (*Potato virus X*, PVX). Kod monokotiledonih biljaka mozaik se najčešće javlja u obliku linija ili crtica koje su svetlije nijanse od ostatka lista. Iako se kod mozaika mogu pojaviti velike varijacije u intenzitetu pojave i tipu, generalno se najkarakterističniji mozaik za određenu vrstu virusa javlja na mladim, sistemski zaraženim listovima. Jednom nastao, mozaik ostaje nepromenjen tokom životnog veka lista, osim što se mozaične zone povećavaju kako list raste. Kod nekih virusnih oboljenja, žute zone u okviru mozaika mogu postati nekrotirane tokom starenja lista.

- Do promene boje može doći i na laticama cvetova, što je uglavnom praćeno pojavom mozaika na listovima obolelih biljaka. Ove promene se manifestuju u vidu fleka, linija ili zona sa bojom koja se razlikuje od normalne boje cveta, a posledica su gubitka pigmenta antocijana. Veoma često je promena boje na cvetovima važan dijagnostički simptom za sve viruse koji prouzrokuju simptome mozaika. Mozaik se može javiti i na zaraženim plodovima. Ispoljava se obično u vidu tamnozelenih i svetlozelenih ili žutih nepravilnih površina na plodu.
3. **Žutica**

Virusi koji uzrokuju simptom žutice nisu tako brojni kao u prethodnom slučaju, ali neki, poput virusa žutice šećerne repe (*Beet yellows virus*, BYV), su veoma značajni sa ekonomskog stanovišta i mogu prouzrokovati potpuni gubitak prinosa. Prvi znak infekcije je obično obezbojavanje ili žutilo nerava kod mlađeg lišća, što je posle praćeno generalnim žutilom lišća (Slika III.9). Može biti zanemarljivo ili pojedinačno, bez mozaičke šeme, mada se mogu javiti zone normalnog i požutelog tkiva.
  4. **Uvijanje liske**

Virusna infekcija može da prouzrokuje uvijanje liske, obično na gore u obliku kašike (kašikavost lista), mada može biti i na dole (Slika III.10). Uvijanje liske može biti praćeno epinastijom.
  5. **Prstenaste pege**

Simptom mnogih virusnih oboljenja je pojava koncentričnih prstenova i nepravilnih linija na lišću, a slični se mogu uočiti i na plodu (Slika III.11). Linije se mogu sastojati od požutelog tkiva, kao i nekroze koja zahvata samo površinski sloj ćelija ili sve ćelije po dubini preseka lista. Kod ovih virusa, postoji snažna tendencija biljaka ka oporavku nakon inicijalnog perioda šoka. Takva pojava je uočena kod virusa prstenaste pegavosti duvana (*Tobacco ringspot virus*, TRSV). Simptomi na listovima se ne povlače, ali mlađe lišće koje se razvija ne manifestuje simptome iako je zaraženo (Hull, 2004). Simptomi prstenaste pegavosti se mogu javiti i na drugim organima, kao na primer lukovicama i krtolama krompira kod zaraze nekim sojevima virusa crtičastog mozaika krompira (*Potato virus Y*, PVY).
  6. **Nekroze**

Kod virusnih oboljenja, nekroza se može manifestovati na lisnim nervima, prateći putanju kojom se virus kreće kroz list (Slika III.12). Takođe može zahvatiti i ceo list, a može i da se vrlo brzo proširi kroz celu biljku. Tako na primer, kod virusa crtičastog mozaika krompira i virusa mozaika krompira (*Potato virus Y*, *Potato virus X*) nekrotične linije se kod nekih genotipova krompira javljaju duž celog stabla. Mogu brzo napredovati sve do tačke porasta, koja, kada nekrotira, uzrokuje potpuno propadanje tj. uginuće biljke. Ovakvom primeru sistemčne nekroze može prethoditi uvenuće biljnih delova koji će ubrzo nekrotirati.
  7. **Deformacije**

Pored smanjenja u porastu, virusom inficirane biljke mogu razviti širok spektar deformacija, koje mogu biti glavni simptom ili samo pratiti druge simptome oboljenja. U okviru deformacija prepoznamo:

    - Klobučavost listova. Veoma često, zajedno sa mozaikom listova dolazi do nejednakog porasta lisne površine. Kod takvih listova, tamno zeleni delovi su

izdignuti u vidu klobuka, plikova iznad površine lista (Slika III.13).







Istovremeno može doći do obrazovanja ivice liske koja je nepravilna i uvijena.

- Nitavost listova. Kod paradajza koji je zaražen virusom mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV) ili virusom mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) dolazi do delimične ili potpune inhibicije razvoja liske zbog prestanka stvaranja parenhimskog i drugog okolnog tkiva lista. Kao posledica obrazuje se centralni nerv sa malo okolnog tkiva i listovi dobijaju izgled niti (Slika III.14).
  - Pojava otoka ili debljanje tkiva. Primer je otok grana biljke kakao.
  - Enacije. To su izrasline koje se obrazuju na naličju lista, najčešće oko lisnih nerava. Mogu se javljati u vidu malih delova lisnog tkiva, krupnijih listolokih tvorevina nepravilnog oblika ili dugih filamentoznih izraslina. Pored listova, mogu se javiti i na laticama.
  - Tumoralni izraštaji. Najviše proučavani tumori su oni koje na biljkama prouzrokuje polifagni virus tumoralnih rana (*Wound tumor virus*, WTV). Kod sistemski zaraženih biljaka javljaju se tumori na listovima i stabljikama, na mestima gde dođe do mehaničke povrede tkiva. Na korenu, tumori mogu da se javljaju spontano, ali najčešće blizu ćelija pericikla (sloju parenhimskih ćelija blizu epidermisa) koje se povređuju prilikom nastanka bočnih korena. Pored spoljašnjih, ovaj virus može prouzrokovati i unutrašnje tumore u floemu lista, stabla i korena (Lee i Black, 1955).
8. Uvenueće. Venjenje nadzemnih biljnih delova koji prethodi uginjavanju cele biljke je bitan simptom virusnih oboljenja. Ovakav simptom se javlja kod zaraze ukrasnog bilja virusom bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) (Sherwood, et al., 2003).

Ostali tipovi simptoma biljnih viroza:

1. Smanjeno obrazovanje kvržica za fiksaciju azota.  
Često su opisivane pojave poput smanjenog broja, veličine ili mase kvržica koje na biljkama nastaju delovanjem azotofiksatora iz roda *Rhizobium*. Tako je kod deteline zaražene virusom mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*) detektovano da je fiksacija azota po jedinici kvržice bila nepromenjena u odnosu na zdrave biljke. Ipak, zaražene biljke su proizvodile manji broj kvržica, što ukazuje na smanjenu azotofiksaciju zbog virusne infekcije.
2. Oporavak od bolesti  
Nije tako neuobičajeno da biljka ispoljava simptome bolesti određenim periodom, a da se nakon toga na novonastalim biljnim delovima smanji intenzitet ili da simptomi potpuno izostanu, iako je virus i dalje prisutan. Pojava "prividnog oporavka" se često dešava kod infekcije sa virusima roda *Nepovirus*. Na ovaj efekat mogu da utiču različiti faktori, kao što je fenofaza razvoja biljke domaćina, vrsta i soj virusa, kondicija biljaka, itd.
3. Tolerantne biljne vrste  
Pojedine biljne vrste ili varijeteti su tolerantne prema pojedinim vrstama ili sojevima virusa. Naime, ove biljne vrste ne ispoljavaju simptome oboljenja prilikom zaraze određenim virusima. Međutim, ove biljke, naročito višegodišnje imaju slabiju vitalnost i kraći vek života, a često su osetljive prema suši i niskim temperaturama

kao i prema infekciji sa drugim virusima ili drugim parazitima biljaka (gljive, bakterije, itd).

	
<p>Slika III.7. Uticaj virusa na porast ploda (gornji red- plodovi sa biljaka zaraženih virusom mozaika paradajza; donji red zdravi plodovi) Foto: Jasnić</p>	<p>Slika III.8. Mozaik na listovima paprike (Foto: Bagi)</p>
	
<p>Slika III.9. Simptom žutila na duvanu (Foto: Bagi)</p>	<p>Slika III.10. Uvijanje listova cukinija na gore (Foto: Bagi)</p>
	
<p>Slika III.11. Prstenaste pege na plodu breskve (Foto: Bagi)</p>	<p>Slika III.12. Nekroza lista gajenog sirka (Foto: Bagi)</p>



Slika III.13. Plikovi na listu duvana  
(Foto: Bagi)



Slika III.14. Nitavost listova paradajza (Foto:  
Bagi)

## IV. HEMIJSKE OSOBINE VIRUSA (JASNIĆ, S.)

Hemijske osobine i sastav osnovnih hemijskih komponenata virusa je od velikog značaja za upoznavanje građe virusnih čestica, identifikaciju i sistematizaciju virusa. Utvrđivanje hemijskih jedinjenja, koja sačinjavaju virusne čestice doprinelo je novim saznanjima o građi virusnih čestica i funkciji pojedinih jedinjenja u sastavu virusa.

Iako su hemijski sastav i hemijske osobine virusa od ogromnog značaja za bolje upoznavanje virusa o njima se dugo veoma malo znalo. Ogroman napredak u proučavanju hemijskog sastava virusa učinio je Stanley (1935), koji je otkrio da je virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*) proteinske građe. Još značajniji napredak u otkrivanju hemijskog sastava virusa dve godine kasnije su napravili Bawden i Pirie (1937), koji su utvrdili da je virus mozaika duvana sačinjen iz proteina i nukleinske kiseline i odredili da su njegove čestice sagrađene od nukleoproteina.

Ova otkrića podstakla su intenzivna proučavanja hemijskih i hemijsko-fizičkih osobina virusa. Virusi, kao veoma pogodan materijal za rad postali su predmet značajnih proučavanja u oblasti biologije i molekularne biologije. Napredak i usavršavanje metoda za izdvajanje virusa iz biljne ćelije omogućio je uspešan rad na proučavanju hemijskih karakteristika virusa „*in vitro*“. Ogroman napredak u razvoju fizičkih i hemijskih metoda u proučavanju proteina, nukleinskih kiselina i drugih hemijskih jedinjenja doprineo je da se danas u potpunosti otkrije hemijski sastav proteinskog omotača, kao i sastav nukleinskih kiselina virusnog jezgra kod najvećeg broja biljnih virusa. Danas se, takođe, u najvećoj meri zna i funkcija ovih jedinjenja i njihova uloga u umnožavanju virusa.

Prilikom razmatranja hemijskih osobina biljnih virusa posebna pažnja će se posvetiti hemijskom sastavu i funkciji hemijskih jedinjenja, koja sačinjavaju virusne čestice biljnih virusa.

### *Hemijski sastav virusa*

#### *Osnovni hemijski elementi sastojci virusa*

Analizama prečišćenih biljnih virusa ustanovljeno je da oni sadrže sledeće elemente: ugljenik (C) oko 50%, vodonik (H) oko 7%, i azot (N) oko 15-17%. Slične proporcije ova tri osnovna elementa su nađene kod svih proučavanih virusa. Sadržaj sumpora (S) varira od 0-1,6% i zavisi od sadržaja sumpora u aminokiselinama od kojih se sastoji virusni protein. Sadržaj fosfora (P) se takođe menja i kreće se od 0,5-4%, ukazujući na količinu ribonukleinske kiseline u virusu, jer kao što je poznato, fosfor ili skoro sav fosfor se nalazi u sastavu RNK. Jedan deo fosfora ulazi u sastav fosfolipida kod virusa, mada su oni malobrojni. U sastav virusa ulaze i različiti metalni joni, Fe, Mg, Ca i dr., mada je njihov broj a i količina veoma različiti u zavisnosti od vrste virusa i kreće se do 1%.

### *Hemijska jedinjenja u sastavu virusa*

Osnovna hemijska jedinjenja, koja sačinjavaju virusne čestice su proteini i nukleinska kiselina. Proteini ulaze u sastav proteinskog omotača virusa (kapsid), a nukleinska kiselina u sastav unutrašnjeg dela (jezgra) virusa.



Osim osnovnih hemijskih jedinjenja sastav nekih virusa sačinjavaju i masti, ugljeni hidrati (šećeri), amidi i voda. Količina proteina i nukleinske kiseline za jednu vrstu virusa je konstantna i stalna, a različita za drugu vrstu virusa. Količina ovih osnovnih jedinjenja je odlika vrste virusa, koja se nasleđuje.

## *Nukleinske kiseline*

Nukleinske kiseline, kao najznačajniji sastojak virusa su danas veoma dobro proučene, ali se kod manjeg broja biljnih virusa još uvek ne zna njihov tačan redosled nukletida.

Nukleinska kiselina ulazi u sastav jezgra virusa. Jezgro virusa sačinjava samo jedna vrsta nukleinske kiseline ili ribonukleinska (RNK) ili dezoksiribonukleinska (DNK) kiselina, po čemu se virusi značajno razlikuju od drugih živih organizama u čiji sastav ulaze obe kiseline. Karakteristično je za sve vrste biljnih virusa da je nukleinska kiselina količinski manje zastupljena u njihovoj građi u odnosu na proteine.

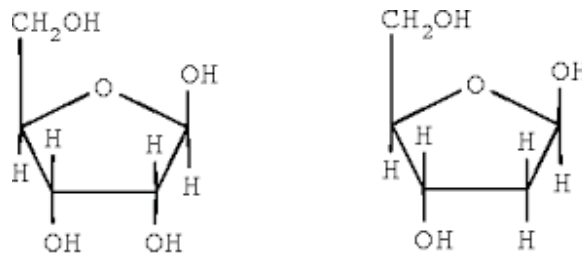
Čestice različitih biljnih virusa sadrže različite količine nukleinske kiseline. Tako je kod izometrijskih virusa nukleinska kiselina zastupljena sa 5-45% od ukupne količine. Kod izduženih virusa nukleinska kiselina je zastupljena u mnogo manjoj količini sa oko 5% od ukupne njihove količine, dok kod baciloidnih čestica koje sadrže i masti, nukleinska kiselina je zastupljena sa oko 1%. Ostatak kod najvećeg broja virusnih čestica sačinjavaju proteini. Količinski odnos proteina i nukleinske kiseline je stalan i specifičan jednu virusnu vrstu. Taj odnos protein-nukleinska kiselina iznosi napr. kod izometrijskih virusa kao što su virus žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus*) 65% proteina prema 35% nukleinske kiseline, kod virusa mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*) 82%:18%, a kod štapičastog izduženog virusa mozaika duvana taj odnos je 95%:5% (Kado i Agrawal, 1972).

Jezgro najvećeg broja biljnih virusa (89,6%) izgrađeno je od jednospiralne nukleinske kiseline (RNK). Međutim, kasnije je utvrđeno da virusi prouzrokovajući tumoralnih rana (*Wound tumor virus*) sadrže dvospiralnu RNK (Black i Markham, 1963), kao i virus krčljivosti pirinča (*Rice dwarf virus*) (Miura et al., 1966). Zastupljenost virusa sa dvospiralnom RNK je 4,3%. U ovim virusima količina nukleinske kiseline je oko 5 puta veća, nego u drugim virusima. Dugo se mislilo da biljni virusi sadrže samo RNK u jezgru. Međutim, Sheperd et al. (1968) su nešto kasnije otkrili biljne viruse sa dvospiralnom dezoksiribonukleinskom kiselinom (DNK). To je virus mozaika karfiola (*Cauliflower mosaic virus*) i još manji broj virusa iz roda *Caulimovirus*. Dvospiralna DNK virusa iz roda *Caulimovirus* se sastoji od dva kružna lanca, koji nisu kontinuirano izgrađeni. U prvom lancu kod svih virusa ovog roda postoji samo jedan prekid u kružnom lancu, a u drugom lancu različitih virusa i sojeva virusa iz roda *Caulimovirus* postoje jedan, dva ili tri prekida u lancu. Kružni lanac sa samo jednim prekidom se naziva  $\alpha$  ili „-“, lanac, a drugi sa jednim ili više prekida  $\beta$  ili „+“ lanac. Kasnije su opisani tzv. *Geminivirusi*, koji u svom jezgru imaju jednospiralnu DNK (Goodman, 1977).

Nukleinska kiselina predstavlja jedan makromolekul, koji je kod izduženih virusa u obliku pravilno razvučene spirale, a kod izometrijskih virusa u vidu nepravilno sabijene spirale. Molekulska težina nukleinske kiseline od oko  $2-3 \times 10^6$  daltona je utvrđena kod infektivnih čestica najvećeg broja biljnih virusa, ali neki virusi sadrže manje ili veće količine nukleinske kiseline, koje se kreću od  $0,4 \times 10^6$  daltona kod satelitnog virusa (najmanji virus

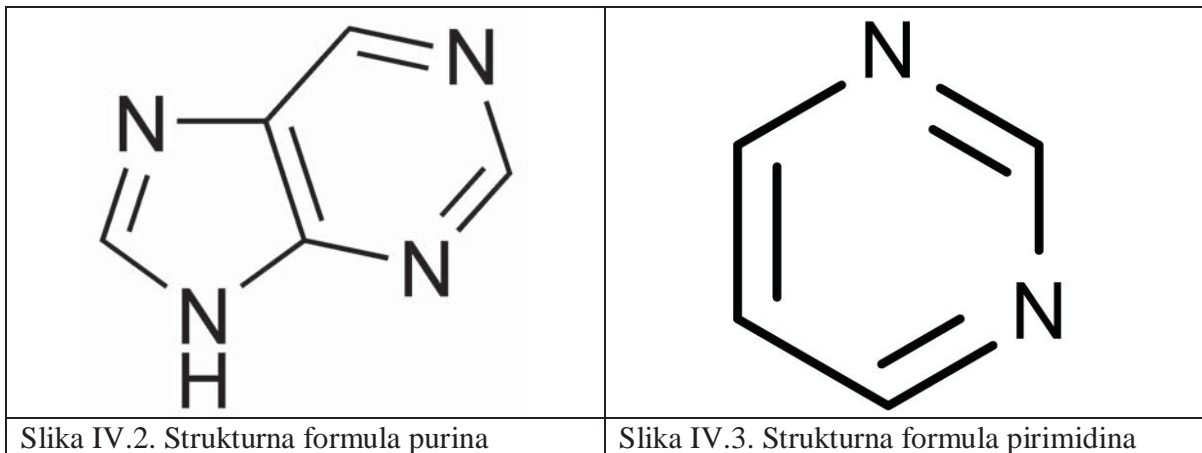
poznat do sada) do  $16,9 \times 10^6$  daltona kod virusa tumorskih rana deteline (koji ima dvospiralnu RNK).

Sastav nukleinske kiseline sačinjavaju pentozni šećeri riboza ili dezoksiriboza (slika IV.1), zatim ostatak fosforne kiseline (fosfatna grupa), dve purinske i dve pirimidinske baze. Riboza učestvuje u građi ribonukleinske (RNK), a dezoksiriboza u građi dezoksiribonukleinske kiseline (DNK). Fosfatna grupa predstavlja ostatak fosforne kiseline ( $H_3PO_4$ ).

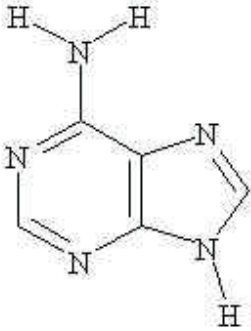
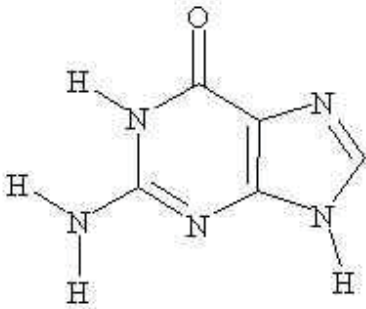
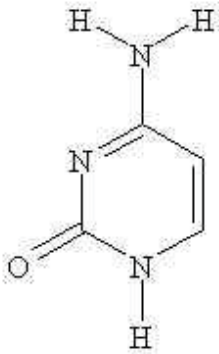
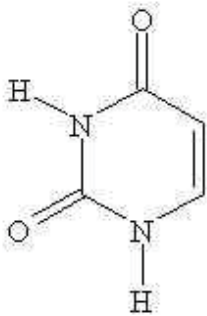
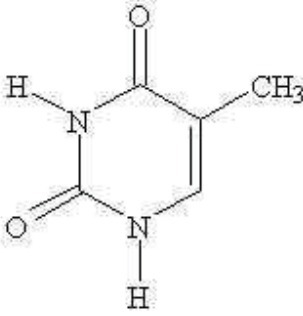


Slika IV.1. Strukturna formula riboze (levo) i dezoksiriboze (desno)

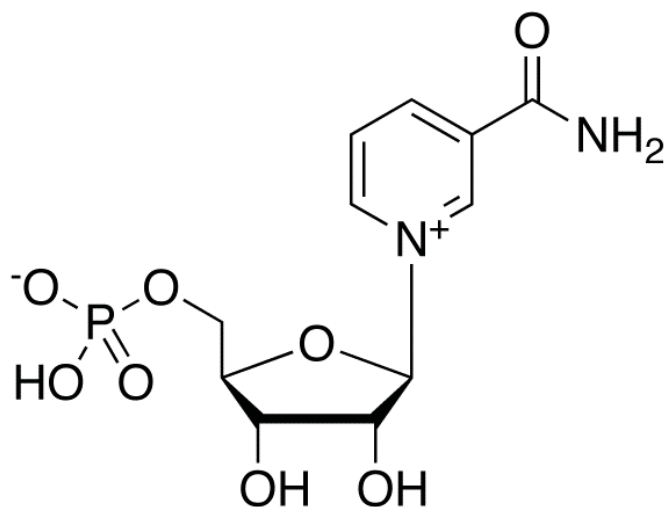
Makromolekul ribonukleinske kiseline (RNK) sagrađen je od dve purinske baze: guanin (G) i adenin (A), i dve pirimidinske baze: citozin (C) i uracil (U) Slika IV. 4-7). Purinske baze su derivati heterocikličnog jedinjenja purina čiji se prsten može smatrati kondenzacionim proizvodom pirimidinovog i imidazonovog prstena (Slika IV.2).



Pirimidinske baze su derivati šestočlanog heterocikličnog prstena pirimidina (Slika IV.3.) koji sadrži dva azotna i četiri ugljenikova atoma. Iste baze učestvuju u građi dezoksiribonukleinske kiseline, osim što je uracil zamenjen timinom (T) (Slika IV.8).

	
Slika IV.4. Strukturna formula adenina	Slika IV.5. Strukturna formula guanina
	
Slika IV.6. Strukturna formula citozina	Slika IV.7. Strukturna formula uracila
	
Slika IV.8. Strukturna formula timina	

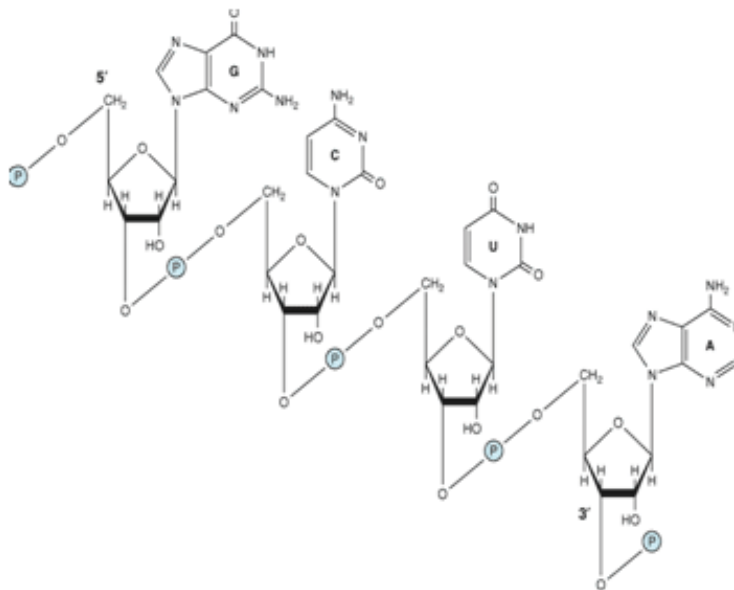
Jedinjenje između šećera i baze naziva se nukleozid, a deo nukleinske kiseline sačinjen od molekula šećera, fosfatne grupe (ostatka fosforne kiseline) i baze poznat je kao nukleotid. Nukleotidi (mononukleotidi, Slika IV.9.) su, prema tome, proizvodi koji nastaju razlaganjem nukleinskih kiselina i sastoje se od pirimidinske baze ili purinske baze, šećera pentoze (riboze ili dezoksiriboze) i fosforne kiseline koja je estarski vezana za primarnu hidroksilnu OH grupu, koja se nalazi na "C" atomu pentoze u položaju 5.



Slika IV.9. Strukturna formula jednog mononukleotida

Nukleotidi (mononukleotidi) se međusobno povezuju preko fosfatne grupe i tako čine polinukleotidni lanac. Nukleinska kiselina, prema tome, predstavlja polinukleotid sastavljen od velikog broja nukleotida (od nekoliko stotina do nekoliko hiljada). Broj nukleotida, koji sačinjavaju nukleinsku kiselinu virusa je uvek isti i karakterističan za jednu vrstu virusa. Tako napr. virus mozaika duvana (TMV) sadrži 6300 nukleotida u polinukleotidnom lancu njegove RNK. Pojedini nukleotidi su međusobno povezani posredstvom fosfatne grupe (fosforne kiseline) na taj način što se jedna OH grupa (hidroksilna grupa) fosforne kiseline vezuje sa OH grupom sa ugljenikovog (C) atoma pentoze u položaju pet 5' svog mononukleotida, a druga OH grupa ostatka  $H_3PO_4$  (fosforna grupa) sa OH grupom ugljenikovog (C) atoma u položaju tri (3') susednog mononukleotida, gradeći na taj način dugačke lance koji sačinjavaju nukleinsku kiselinu.

Kao što se iz napred navedenog vidi, fosfatne komponente u lancu nukleinske kiseline nalaze se između dva ostatka šećera. Ta se fosfatna grupa jednim svojim krajem vezuje sa 5' atomom ugljenika (ugljenikov atom u položaju 5 u lancu pentoze), a drugim krajem sa 3' (trećim) atomom ugljenika (atom ugljenika u položaju 3) u lancu pentoze drugog ostatka šećera. Da bi se razlikovali od atoma ugljenika u bazama, brojevima kojim se označavaju atomi ugljenika u šećeru, dodaje se uz broj crtica - apostrof 5' (označava se sa pet prim) i 3' (Slika IV. 10.).



Slika IV. 10. Šema strukture dela lanca RNK

U šemi strukture RNK se uočava da se ostatak šećera na jednom kraju lanca završava potencijalno slobodnim 5' fosfatnom grupom vezanom za 5' ugljenikov atom u položaju 5' (sa O=P-O) koji se označava kao 5' kraj, a na drugom kraju lanca RNK ostatak šećera se završava potencijalno slobodnom 3' hidroksilnom (OH) grupom na trećem C atomu šećera koji se označava kao 3' kraj. Identičnu strukturu imaju sve RNK sa 5' krajem, na početku lanca, sa slobodnom fosfatnom grupom i sa 3' krajem na završetku lanca i slobodnom OH grupom šećera.

Transkripcija (prepisivanje) nukleinske kiseline u komplementarni lanac, koji se zbiva uz pomoć polimeraze teče od 3' prema 5' kraju izvornog lanca (roditeljskog) virusne nukleinske kiseline. Izvorni (roditeljski, parentalni) lanac služi kao kalup na osnovu kojeg nastaje komplementarni lanac prilikom umnožavanja RNK. Novosintetisani komplementarni lanac se stvara (sintetiše) od svojeg 5' kraja ka 3' kraju, te prema tome roditeljski (izvorni) lanac i komplementarni lanac su različitog odnosno obrnutog pola (polariteta) i za njih se kaže da su antiparalelni. Za razliku od ovog procesa translacija nukleinske kiseline u proteine se odvija od 5' prema 3' kraju RNK.

Međusoban odnos baza zavisi od broja spirala koje sačinjavaju nukleinske kiseline u građi virusa. Baze kod dvospiralnih nukleinskih kiselina virusa se javljaju u istom broju tj. u parovima. Tako je kod dvospiralne dezoksiribonukleinske kiseline broj A=T i G=C, tj. broj purinskih baza je jednak broju pirimidinskih baza (A+G=T+C). Broj baza je npr. u nukleinskoj kiselini (DNK) kod faga T 7 iznosi A=26, T=26, G=24, C=24. Kod dvospiralnih ribonukleinskih virusa se takođe ispoljava ista pravilnost u sastavu baza: A=U, G=C. Na osnovu ovakve građe može se zaključiti da kod dvospiralnih nukleinskih kiselina nastaje parno sjedinjavanje njihovih baza. Naime, ovde se dve spirale namotavaju spiralno jedna oko druge, tako što se svaki guanin u jednoj spirali vezuje pomoću tri vodonikove veze za citozin, koji mu je paralelan u komplementarnoj (dopunskoj) spirali i slično tako svaki adenin se vezuje pomoću dve vodonikove veze za uracil. Brojčani odnos baza kod virusa sa jednospiralnim nukleinskim kiselinama je nejednak, kao što je slučaj kod virusa mozaika

duvana koji sadrži: A=28, U=29, G=25, C=18. Kod ovakvih virusa, prema tome, ne može biti vezivanja baza u parovima kao što je to bilo u prethodnom slučaju.

Kod nekih biljnih virusa nukleinska kiselina u infektivnim virusnim česticama je u obliku samo jedne molekule. Kod drugih virusa nukleinska kiselina je podeljena u virusnoj čestici na više manjih segmenata ili manjih molekula. Tako je dvospiralna RNK virusa tumoralnih rana deteline podeljena na 12 segmenata različite veličine (molekulske težine/mase od  $2,9 \times 10^6$  do  $0,32 \times 10^6$  daltona). Svi ti segmenti se nalaze zajedno u jednoj virusnoj čestici. Međutim, jednospiralna RNK kod mnogih biljnih virusa može da bude podeljena na dva ili više segmenata (molekula), koji se nalaze u zasebnim česticama, tako da čestice tih virusa ne sadrže iste količine nukleinske kiseline. Stoga, kod tih virusa, s obzirom na sadržaj nukleinske kiseline, postoji više tipova nukleoproteinskih čestica. O ovim virusima tzv. višedelnim virusima biće više govora u poglavlju, koje se odnosi na građu virusnih čestica.

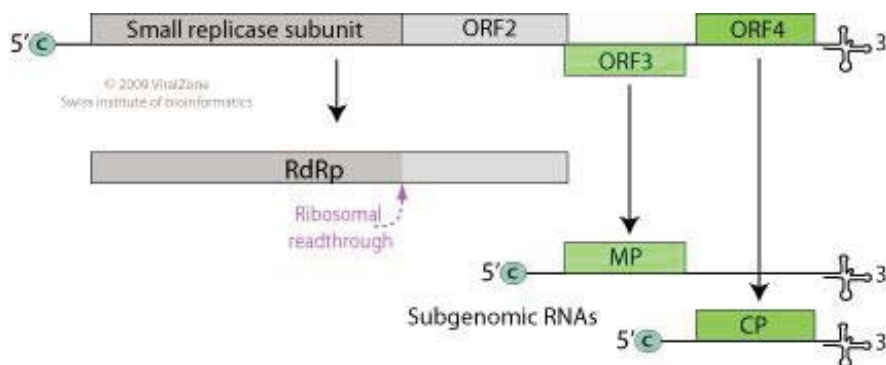
Jednospiralne virusne ribonukleinske kiseline imaju svoj polaritet (pol). One su ili plus (+) ili minus (-) pola (polariteta), odnosno značenja pa se govori o virusnoj jednospiralnoj (+) RNK sa „+“ (pozitivnom) spiralom, tzv. (+)ssRNK (engl. single stranded=jednospiralna) i virusnoj jednospiralnoj (-)RNK sa „-“ negativnom spiralom, tzv. -ssRNK. Polarnost, odnosno pol (+ ili -) ne označava u ovom slučaju naelektrisanost ovih čestica, već se ove oznake određuju u odnosu genoma virusa (RNK) prema informacionoj RNK, tj. mRNK (mRNK= RNK mesenger). Naime, prema dogovoru virusologa svaka mRNK se označuje kao (+) RNK jer se može neposredno (direktno) prevesti u protein. Sve druge molekule nukleinske kiseline koje su komplementarne molekuli mRNK (informacione RNK) i koje se ne mogu direktno prevesti u protein označuju se kao „-“ RNK (negativna). U dvospiralnoj nukleinskoj kiselini dsRNK (engl. double stranded=dvospiralna) jedna spirala je uvek + (pozitivna) a druga je - (negativna). Najviše biljnih virusa sadrži (+)ssRNK (76,6% biljnih virusa). Prema tome genomi virusa, odnosno sve virusne RNK, koje direktno prelaze u informacionu, mRNK (bez procesa transkripcije) označavaju se kao „+“, a one koje se ne mogu direktno prevesti u mRNK već samo preko procesa transkripcije se označavaju kao „-“. Zastupljenost virusa sa (-)ssRNK je 13%.

Krajevi (+)RNK karakteristično su građeni. Građa krajeva (+)RNK biljnih virusa može se upoređivati sa građom krajeva ćelijskih mRNK. Kao što je poznato, kod većine eukariotskih organizama (sa jedrom u ćeliji) molekula mRNK ima karakterističnu građu svojih krajeva. Na kraju 5' one imaju kapu (šesirić)- zapravo posebnu strukturu koju čini 7-metil-gvanozin, ( $me^7Gppp$  ili  $7meG$  ili  $m^7G^5ppp^5$ ). Metilgvanozin je karakteristično vezan na ostali deo mRNK pomoću 5'-5' trifosfatne veze i to tako da se 5' ugljenik u ribozu gvanozina povezuje sa 5' ugljenikom u ribozu na 5' kraju mRNK, dakle u smeru 5'-5', a ne u očekivanom smeru 5'-3'. U nukleotidnom redosledu na 5' kraju može da postoji nekoliko kapa. Kapa štiti 5' krajeve molekula mRNK od nukleaze i fosfataze, enzima koji razlažu RNK, što povećava stabilnost RNK, a uz to ona pojačava translaciju mRNK u proteine. Idućičnu građu 5' kraja, kao kod mRNK imaju i mnogi biljni virusi, tako da kod mnogih virusa molekule RNK na 5' kraju imaju, kao i eukariotske mRNK, pomenutu kapu tj. strukturu  $me^7G^5ppp^5$ . Ako virusna RNK ne poseduje ovu kapu ona nije infektivna.

Međutim, po građi 5' kraja sve virusne RNK nisu građene kao eukariotske mRNK. Postoje još dva tipa građe 5' kraja virusnih RNK. Kod drugih biljnih virusa 5' kraj njihovih RNK je modifikovan tako da se završava jednim proteinom koji se označava sa VPg (od engleskog izraza virus protein genom linked-virusni protein povezan sa genomom). To je

protein male težine od 3000-24000 daltona. Ovaj protein je kovalentno vezan za 5' kraj genoma. VPg protein kodira sam virus. Kod najvećeg broja virusa utvrđen je gen za kodiranje ovog proteina. Zanimljivo je da se takav protein nalazi i kod animalnih pikorna virusa (npr. kod poliovirusa). Kod treće grupe biljnih virusa 5' kraj njihove RNK se završava sa dve ili tri fosfatne grupe.

Građa 3' kraja biljnih virusnih RNK je takođe različita. Kod jednih virusa 3' kraj se završava kao i kod eukariotskih mRNK sa više adenina (tzv. poli A sekvenca ili tzv. poliadenilni rep). Dužina poliadenilnog repa kod različitih molekula RNK je obično promenljiva. Ovaj tip završetka 3' kraja imaju virusi iz roda *Bromovirus* i *Hordeivirus*. Kod drugih virusa njihov 3' kraj ima neobičnu trodimenzionalnu građu koja podseća na tRNK (transportna RNK), a svojim oblikom liči na list deteline (Slika IV.11). Virusi sa građom 3' kraja koji podseća na građu tRNK mogu se na tom kraju vezati, pod određenim eksperimentalnim uslovima, za specifične aminokiseline. Tako napr. virus žutog mozaika postrne repe može vezati aminokiselinu valin (Pinck et al., 1970), virus mozaika ovsika tirozin, a virus mozaika duvana i još neki virusi iz roda *Tobamovirus* vezuju histidin (Litvak et al., 1973; Garcia-Arenal, 1988). Funkcionalno značenje takve posebne građe 3' kraja, koji liči na tRNK, nije još objašnjeno.



Slika IV. 11. Organizacija genoma virusa mozaika duvana – na slici obratiti pažnju na sekundarne strukture 3' kraja TMV-RNK koji oblikom podseća na tRNK (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Iz napred rečenog može da se vidi da građa krajeva RNK kod svih virusa nije ista. Tako na primer neki virusi iz roda *Potexirus* (X-virus krompira) poseduju RNK koja u potpunosti liči na ćelijsku mRNA tj. na 5' kraju. Ti virusi imaju kapu, a na 3' kraju poli A sekvencu. Virusi iz rodova *Comovirus* i *Potyvirus* (Y-virus krompira) na 3' kraju imaju poli A sekvencu, ali nemaju na 5' kraju kapu. Ti virusi na 5' kraju nose mali protein VPg koji je za RNK vezan tirozin-fosfat-estarskom vezom. Posebnu grupu virusnih RNK čine molekule RNK virusa nekroze duvana (*Tobacco necrosis virus*) i RNK njegovog satelitnog virusa. Molekuli RNK ovih virusa nemaju ni kape ni poli A sekvence. Po tome su te RNK slične molekulama RNK-faga.

#### Sekundarna građa virusne nukleinske kiseline

Dugački molekuli virusnih nukleinskih kiselina mogu da se povežu međusobno i svojim bočnim delovima na različite načine. Tako jednospiralne (jednolančane) molekule nukleinske kiseline virusa mogu da se međusobno povezuju pomoću različitih delova

molekula u lancu, a kod dvospiralnih (dvolančanih) molekula nukleinskih kiselina mogu da se povežu spiralam t.j. pomoću dve spiralne (lančane) molekule. Takvim povezivanjem se stvara tzv. sekundarna struktura. Ta struktura nukleinskih kiselina ostvaruje se uglavnom pomoću dva tipa molekularnih sila: i to hidrofobnim vezama (mostovi) između susednih baza jedne spirale (lanca) kod jednospiralnih RNK i vodonikovim vezama između parova baza dvaju spirala (lanca) kod dvospiralnih RNK.

I dvospiralne RNK biljnih virusa imaju sekundarnu građu sličnu građi dvospiralne DNK. To je pravilna dvostruka spirala. Jednolančane RNK kao ona npr. kod virusa mozaika duvana imaju takođe spiralnu građu u obliku jedne izdužene spirale, koje svoju spiralnu građu učvršćuju time što slede udubljenja u proteinskim podjedinicama virusnog omotača, ulaze u ova udubljenja, pa zbog toga ne može da dođe do spajanja njenih baza. To je slučaj kod jednospiralnih RNK svih grupa izduženih (anizometrijskih) virusa.

Međutim, kod poliedarnih (izometrijskih) virusa jednospiralna (jednolančana) RNK nije građena u vidu izdužene spirale kao ona kod virusa mozaika duvana i drugih izduženih virusa, već je više u obliku sabijene spirale. Nukleinska kiselina izometrijskih virusa zbog znatnog savijanja (sabijanja) spirale omogućava sparivanje baza u okviru jednolančane (jednospiralne) molekule RNK virusa. Nukleinske kiseline sa sparenim bazama, u odnosu prema jednospiralnim nukleinskim kiselinama, gde baze nisu sparene dobijaju nove fizičko-hemijske osobine. One npr. apsorbuju UV-svetlo (ultravioletno) za oko trećinu manje nego RNK sa nesprenim bazama.

Baze su raspoređene duž nukleinskih kiselina po određenom redosledu. Određivanje njihovog redosleda je vrlo značajno u proučavanju osobina virusa, a posebno njihovih genetskih osobina. Međutim, određivanje redosleda je vrlo teško zbog nekih postojećih tehničkih teškoća. Naime, prilikom pripremanja nukleinske kiseline dolazi do njenog kidanja na delove, pri čemu se remeti redosled baza u polinukleotidnom lancu. Međutim, zahvaljujući razvoju novih metoda u nauci, danas se može odrediti tačan redosled nukleotida u polinukleotidnom lancu brojnih biljnih virusa. Nukleinska kiselina je, nalazeći se u unutrašnjem delu virusne čestice, zaštićena od neposrednog dejstva spoljne sredine. Ona je nosilac svih bioloških aktivnosti virusa. Nukleinska kiselina se umnožava i upravlja stvaranjem novih generacija nukleinskih kiselina virusa. Na nukleinskoj kiselini počiva parazitizam virusa; taj parazitizam je u celosti povezan sa reprodukcijom virusa. Odvojen kapsid za sebe nije infektivan, dok je sama nukleinska kiselina infektivna. Njena infektivnost je najpotpunija u prisustvu kapsida, ali je postojanje kapsida ne uslovljava. Nukleinska kiselina je nosilac genetskih osobina virusa koje se na kraju prenose u različite proteine (translacija), a preko tih proteina ostvaruju se osobine virusa u novim virusnim česticama. Ona upravlja i sintezom novih virusnih čestica u ćeliji. Sa oštećenjem i razlaganjem nukleinske kiseline prestaje istovremeno i postojanje infektivno aktivne virusne čestice.

## *Proteini*

Najveći deo, odnosno najveću masu virusne čestice sačinjavaju proteini. Proteini ulaze u sastav proteinskog omotača-kapsida svih biljnih virusa. Proteini predstavljaju makromolekule sastavljene od velikog broja aminokiselina, koje su međusobno povezane peptidnim vezama u duge polipeptidne lance-polipeptide. Proteini virusa se sintetišu u ćeliji biljke domaćina. Aminokiseline, kao što je poznato imaju u svom hemijskom sastavu dve funkcionalne grupe, baznu  $(NH_2)^+$  i kiselinu  $(COOH)^-$  pa se zato mogu ponašati kao baze ili



kao kiseline u zavisnosti od grupe, koja preovlađuje. U rastvoru ove grupe disociraju i kreću se prema suprotnom polu zbog naelektrisanog stanja proteina. Ova osobina proteina omogućuje utvrđivanje elektroforetskih karakteristika virusa.

Najveći broj malih izometrijskih i izduženih virusa sa jednospiralnom RNK sadrži samo jednu vrstu proteina u kapsidu. Manji broj složenih virusa ima više vrsta proteina u svom sastavu. U grupu virusa koji u svom sastavu imaju više od jednog proteina spadaju i složeni veliki virusi (virusi iz roda *Reovirus*), kao i oni koji oko svog proteinskog omotača imaju jednu spoljnu membranu (ovojnicu), omotač od lipida (*Cytorhabdovirus* i *Tospovirus*). Tako napr. virus žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus*), koji sadrži 4 tipa proteina poseduje lipidnu ovojnicu (Gibbs i Harrison, 1976). Neki virusi roda *Comovirus* sa jednospiralnom RNK sastoje se od dva proteina, a ostali imaju više proteina, od kojih neki ulaze u sastav enzima. Jedna od osobina ovih složenijih biljnih virusa je da je jedan ili više njegovih proteina vezan za glukozu. Ti se proteini obično nalaze u membrani koja se nalazi oko virusne čestice (ovojnica). Kod virusa bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*) sva tri glavna proteina su glukozirana tj. vezana za glukozu, a dva od njih se nalaze u virusnoj lipidnoj membrani-ovojnici, koja se formira oko kapsida.

Neki biljni virusi (rod *Potyvirus* - Y virus krompira) osim proteina koji ulazi u sastav virusne čestice stvaraju i druge proteine. Ti proteini sačinjavaju submikroskopska citoplazmatska tela, u obliku vodeničnog vitla (pinwheel-inkluzije) koje se mogu naći u zaraženim biljnim ćelijama. Proteini ovih inkluzija u potpunosti se razlikuju od proteina od kojih je izgrađena sama virusna čestica.

U građi proteina biljnih virusa učestvuje 20 vrsta aminokiselina, koje se ponavljaju u polipeptidnom lancu. Iste vrste aminokiselina sačinjavaju i proteine biljaka, životinja i bakterija. Ne samo da osnovnih 20 aminokiselina sačinjavaju proteinski omotač biljnih virusa, istih kao i kod proteina drugih živih organizama, nego je konstatovan i sličan prosečan odnos aminokiselina kod proteina biljnih virusa i proteina drugih živih organizama. Na primer aminokiseline cistein, metionin, triptofan, histidin i tirozin se nalaze obično u malim količinama kod svih proteina živih organizama. Razlika postoji u visokom sadržaju hidroksilnih aminokiselina serina i treonina u proteinima biljnih virusa, što je tipično za proteine biljnih virusa u poređenju sa proteinima drugih organizama. Aminokiseline su povezane međusobno peptidnim vezama u dugačke polipeptidne lance. Redosled (sekvenca) aminokiselina u proteinu određen je genetskom informacijom nukleinske kiseline i prema tome, tipičan za jednu vrstu virusa. Kod najvećeg broja virusa, kao napr. kod virusa mozaika duvana, redosled aminokiselina je u potpunosti utvrđen (Tsugita et al., 1960; Anderer et al., 1960).

Obrazovanje proteinskog omotača obavlja se u toku četiri organizacione strukture proteina. Primarnu strukturu proteina čini broj aminokiselina povezanih po određenom redosledu. U sekundarnoj strukturi polipeptidni lanac postaje spiralan. Polipeptidni lanci u sekundarnoj strukturi obrazuju takozvanu  $\alpha$  spiralu. U  $\alpha$  spirali aminokiselinski lanac namotava se spiralno, tako da 3,7 aminokiselina sačinjava jedan navojak spirale. Aminokiseline susednih navojaka su povezane vodonikovim vezama, karbonilnim (C=O), ili imino vezama (-NH grupama) njihovih peptidnih veza. Tercijarna struktura nastaje posle uvijanja sekundarne strukture, kada ona postaje trodimenzionalna ( $\beta$  spirala). Merenjem je tako utvrđeno da 25% do 35% aminokiselina u proteinskom omotaču virusnih čestica virusa mozaika duvana su u  $\alpha$  spiralama, čije su dužne ose uglavnom pod pravim uglom u odnosu na dužnu osu virusne čestice, gradeći trodimenzionalnu simetriju. I na kraju, raspoređivanjem

potpuno obrazovanih proteinskih podjedinica nastaje kvartarna struktura, koja predstavlja građu proteinskog omotača. Proteinski omotač (kapsid), odnosno proteini iz kojih je ovaj izgrađen su povezani sa nukleinskom kiselinom, što omogućava stabilnost virusnih čestica. Ove veze su najbolje proučene kod virusa koji u svom jezgru sadrže jednospiralnu RNK. Veza između RNK i proteina virusa iz roda *Cucumovirus* zasniva se na elektronskoj sili, koja se uspostavlja između baznih aminokiselina kapsida (pozitivan naboj) i fosfatnih grupa RNK virusa (negativan naboj). Kod nekih virusa ove veze između proteina i nukleinske kiseline se međutim ostvaruju pomoću hidrofobnih sila.

Proteinske podjedinice su osnovni građevinski deo omotača. One mogu biti, kao što je napred rečeno, sačinjene od jednog ili više vrsta polipeptida (proteina). Broj hemijskih podjedinica je isti za jednu vrstu virusa, ali je različit za pojedine vrste virusa. On je veći kod izduženih virusa, jer se njihov kapsid (omotač) odlikuje razvijenom površinom. Tako kapsid izduženog virusa mozaika duvana ima oko 2130 podjedinica, a virus mozaika krompira (X-virus krompira) 1475. Kod virusa izometrijskog oblika broj hemijskih podjedinica je manji; virus mozaika krastavca iz ove grupe, na primer, ima u kapsidu 176, a virus žutog mozaika postrne repe 180 hemijskih podjedinica, a satelitni virus samo 60.

Proteinske podjedinice se razlikuju po broju aminokiselina koje učestvuju u njihovoj građi. Taj broj se, prema vrsti virusa, kreće od oko 150 do preko 600 (Gibbs i Harrison, 1976). Utvrđeni redosled aminokiselina u proteinu je karakterističan, kako smo napomenuli, za jednu vrstu virusa; on je do sada poznat kod velikog broja virusa u koje spadaju virus mozaika duvana i virus žutog mozaika postrne repe i drugi virusi. Po redosledu aminokiselina razlikuju se, takođe, i neki sojevi virusa. Tako je poznat i redosled aminokiselina u proteinskom omotaču nekoliko sojeva virusa mozaika duvana od kojih ćemo navesti kao primer tri soja ovog virusa i tzv. tipski soj ili obični tj. tipični soj virusa mozaika duvana, zatim soj dahlemense, tj. virus mozaika paradajza i soj bokvice (*Plantago lanceolata*), tj. virus mozaika bokvice. Hemijska podjedinica virusa mozaika duvana sastoji se iz 158 aminokiselina. Broj prisutnih aminokiselina (20) u građi proteinske podjedinice pokazuje da se one ponavljaju u redosledu; kod virusa mozaika duvana ta ponavljanja iznose 18 x asparagin, 16 x trionin, 16 x serin, 16 x glutamin, 11 x arginin, 8 x prolin... sve do ukupnog broja 158 (Kado i Agrawal, 1972). Međutim, redosled aminokiselina kod ova tri napred navedena soja se takođe razlikuje. Kod prva dva on je sličniji u odnosu na treći soj, dok je ovaj raspored očigledno sličan kod svih proteina virusa mozaika duvana i znatno se razlikuje od rasporeda utvrđenog kod drugih biljnih i bakterijskih virusa. Razlike koje se javljaju u redosledu aminokiselina kod proteina različitih sojeva virusa mozaika duvana nisu slučajne, kao što ni raspored aminokiselina nije slučajan duž polipeptidnog lanca. Neki delovi polipeptidnog lanca su manje promenljivi nego drugi. Tako npr. aminokiseline u lancu od 87-94 i od 113-122 su iste za sve sojeve ovog virusa. Manje promenljivi regioni lanca su možda delovi u redosledu aminokiselina čija je tačna struktura važna za funkciju virusa koja im daje osnovne karakteristike vrste, te sojevi jednog virusa imaju mnogo zajedničkih osobina (morfološke, serološke, hemijske i dr.). Promene u ovim regionima daju proteine koji su nestabilni ili su u nemogućnosti da deluju kao proteini čestice virusa i takvi mutanti bivaju eliminisani selekcijom. Kao što je već rečeno kapsid biljnih virusa najčešće je izgrađen od jedne vrste proteina, te se sastoji od velikog broja potpuno istih proteinskih molekula (monomera) poznatih pod imenom kao proteinske podjedinice. Zašto se kapsid sastoji od istih, a ne različitih proteinskih podjedinica? Jednostavno zato, što za virus takva građa kapsida je najekonomičnija. Naime, virus sa jedne strane mora da ima jedan veliki

kapsidni protein, a sa druge strane on raspolaže sa malo genetskih informacija za stvaranje većeg broja proteina. Virus stvara kapsid od istovetnih proteinskih molekula koje kodira jedan te isti gen, pošto je RNK relativno mala i kratka tako da na njoj može da stane samo određeni broj gena virusa, odnosno ograničen broj informacija.

Svi delovi virusa, prema hemijskoj građi i mestu gde se nalaze, imaju određenu ulogu u održavanju i aktivnostima virusne čestice. Jedna od uloga kapsida je zaštita i očuvanje virusnog jezgra od štetnog dejstva spoljne sredine. Ovu ulogu kapsid ostvaruje mehaničkim putem. Kapsid je otporan prema dejstvu fermenta nukleaza, pošto je izgrađen od proteina i time sprečava njihovo razlažuće dejstvo na nukleinske kiseline kao nosioca vrste virusa. Tek sa oštećenjem i razgradnjom proteina oslobađa se nukleinska kiselina i postaje podložna dejstvu pomenutih fermenta. Zahvaljujući finim porama koje se nalaze na njegovoj površini, kapsid istovremeno omogućuje i održavanje potrebne veze između unutrašnjosti virusa i ćelije, kao spoljne sredine. Po proteinskoj prirodi kapsid je nosilac antigenih osobina virusa. Aktivni kao antigeni, virusi prouzrokuju stvaranje antitela u organizmu toplokrvnih životinja. Na osnovu ove reakcije pripremaju se antiserumi virusa koji imaju odgovarajuću primenu kako u biljnoj, tako i u animalnoj virologiji. O ovim osobinama govoriće se detaljnije u poglavlju, gde se razmatraju antigene osobine virusa.

### *Ostali hemijski sastojci biljnih virusa*

Pored osnovnih sastojaka virusa koje čine protein i nukleinska kiselina postoje i drugi sastojci u njegovoj građi koji su manje zastupljeni. U ove sastojke spadaju: poliamini, lipidi, ugljeni hidrati, metali i voda.

### *Poliamini*

Poliamini čine građu nekoliko biljnih virusa (virus žutog mozaika postrne repe, virus kovrdžavosti vrha šećerne repe, virus mozaika duvana i virus šarenila boba). Johnson i Markham (1962) ustanovili su da poliamini predstavljaju 0,7% težine sastava virusa žutog mozaika postrne repe. Isti autori smatraju da ovaj virus sadrži dva tipa poliamida spermidin (I) i spermin (II), koji su prvenstveno vezani za njegovu ribonukleinsku kiselinu, pošto je oko dve trećine poliamina utvrđeno u RNK virusa žutog mozaika postrne repe. Pomenuti poliamini su dovoljni da neutrališu oko 20% fosfatnih grupa virusa. Virus mozaika duvana sadrži veoma male količine poliamina (putrescini, spermidin i spermin), koji mogu da neutrališu 0,3% fosfatnih grupa virusne RNK (Torrighiani et al., 1995).

### *Lipidi i ugljeni hidrati*

Lipidi i ugljeni hidrati su otkriveni kod virusa koji na kapsidu imaju poseban lipidni omotač (membranu) tzv. ovojnicu. Prisustvo lipida je poznato u građi nekih animalnih virusa i smatra se kao deo omotača koji se normalno javlja u građi ovih virusa. Best i Katekar (1964) su otkrili lipide u česticama virusa bronzavosti paradajza, gde oni predstavljaju oko 19% težine čestice. Ahmed et al. (1964), takođe su utvrdili lipide u virusu žute krzljivosti krompira, koji čine oko 20% težine virusnih čestica. Virus žute mrežavosti sonhusa (*Sonchus yellow net virus*, SYNV) ima u svom sastavu oko 18% lipida, koje sačinjavaju 62%

fosfolipidi, 31% steroli i 7% trigliceridi (Selstam i Jackson, 1983). Lipide sadrže svi biljni virusi koji imaju omotač oko kapsida. Ovako značajne količine lipida nametnule su pitanje u kojoj meri oni predstavljaju sastojke virusa, kao i da li su oni uopšte sastojci virusa ili su samo prisutni kontaminanti. U svakom slučaju pomenute vrste virusa imaju omotač oko svog kapsida, pa se ukazuje na mogućnost da su lipidi sastavni delovi ovog omotača.

Virusni omotač (membrana ili ovojnica) na kapsidu sadrži ugljene hidrate u obliku glukoproteina. Reč je o polisaharidima koji su za protein vezani preko aminokiselinskih ostataka serina, treonina i asparagina. Poznato je da su ugljeni hidrati kao gradivna komponenta prisutni i u virusnoj nukleinskoj kiselini i to kao šećer riboza ili dezoksiriboza.

### *Joni metala*

Stanley je još 1936. godine utvrdio da biljni virusi u svom sastavu imaju različite metale. Virusne čestice sadrže razne količine jona metala (neorganski i organski katjoni). Od neorganskih katjona u virusnoj čestici zastupljeni su joni metala: gvožđa, magnezijuma, kalcijuma, bakra, aluminijuma i cinka a od organskih katjona mogu se naći poliamini, kao npr. spermidin. Ti katjoni vezuju se za negativno naelektrisane anjone fosfatnih grupa nukleinskih kiselina. Količina katjona može da čini do 1% mase čestica. Izgleda da neutralizacija negativnog naelektrisanja koji ostvaruju ovi katjoni olakšava smeštanje srazmerno velikih nukleinskih kiselina u unutrašnjost proteinskog omotača. Tako napr. virus mozaika duvana vezuje po dva jona kalcijuma ( $Ca^{2+}$ ) po jednoj podjedinici proteina (Gallagher i Lauffer, 1983). Kod virusa južnog mozaika pasulja (*Southern bean mosaic virus*) utvrđeno je značajno prisustvo kalcijum ( $Ca^{2+}$ ) i magnezijum ( $Mg^{2+}$ ) jona (Hsu et al., 1976). Virus crtičavosti duvana (*Tobacco streak virus*), kao i neki drugi virusi sadrže cink, koji pomaže vezivanju proteina za nukleinsku kiselinu.

### *Voda*

Jedan od univerzalnih sastojaka u virusnoj čestici je voda koja se nalazi u znatnim količinama. Prema Gibbsu i Harrisonu-u (1976) voda iznosi 10-59% težine virusnih čestica u suspenziji, odnosno oko 50% težine virusnih kristala. O ulozi vode, čije je prisustvo vezano za građu virusa, nema odgovarajućeg tumačenja. Međutim, mogla bi biti realna pretpostavka da voda doprinosi održavanju konzistencije i odgovarajuće strukture virusnih čestica.

Sadržaj vode i njen značaj kod virusa je uglavnom bio zanemaren, iako se zna značaj vode u živim ćelijama drugih organizama. Poznato je da tipične ćelije prokariotskih organizama (bez diferenciranog jedra) sadrže oko 3-4 ml vode/g suve materije. Nekoliko izduženih virusa sa lipidnim omotačem o kojima postoje podaci, takođe sadrže sličnu količinu vode (Matthews, 1975). Nasuprot tome, mali izometrijski virusi sadrže manje vode. Tako napr. virus crne prstenaste pegavosti paradajza (*Tomato black ring virus*, TBRV) ima u svom sastavu 0,75 ml vode/g suve materije (Camerini-Otero et al., 1974), virus žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus*) oko 0,78 ml vode/g suve materije, a virus prugavosti duvana, (*Tobacco streak virus*, TSV) oko 1,1 ml/g. Virus mozaika karfiola, koji ima dve proteiske školjke (dvostruki omotač) sadrži oko 1,7 ml/g suve materije, nešto više od malih izometrijskih virusa.

## V. GRAĐA VIRUSA (JASNIĆ, S.)

Saznanja o građi, odnosno strukturi virusa su veoma bitna za bolje razumevanje mnogih aspekata iz biljne virusologije. Poznavanje građe biljnih virusa omogućava bolje razumevanje i objašnjenje mnogih procesa kod virusa, kao što su proces zaražavanja biljaka, umnožavanja virusa unutar ćelije domaćina, preživljavanje izvan ćelija, srodnost između pojedinih virusa i drugo.

Razvojem savremenih metoda istraživanja, kao što su usavršene procedure u elektronskoj mikroskopiji i rengenskoj kristalografiji, kao i najnovija saznanja o hemijskom sastavu virusa doprinela su napretku u proučavanju strukture biljnih virusa, tako da je danas kod velikog broja virusa njihova građa, odnosno struktura u potpunosti poznata.

Poznato je da se virusi po svojoj građi bitno razlikuju od svih drugih živih organizama. Ta razlika se odnosi na nećelijsku građu virusa, pošto oni nemaju ćelijske karakteristike, kao što je ćelijska membrana, ćelijski sadržaj i druge ćelijske elemente. Prema tome virusi su za razliku od drugih živih organizama nećelijski ili acelularni, zbog čega se telo virusa označava kao čestica (partikula) ili elementarna virusna čestica.

### *Veličina virusnih čestica*

Virusi su mnogo manji od ćelije koju parazitiraju. Oni su submikroskopske veličine, koja se izražava u nanometrима (nm). Jedan nanometar je milioniti deo milimetra (mm), odnosno  $1 \text{ mm} = 10^6 \text{ nm}$ . Za posmatranje, radi omogućavanja vidljivosti virusa se koristi elektronski mikroskop, koji ima značajno veću moć uvećavanja u odnosu na svetlosni. Prouzrokovali boginja kod životinja, spadaju među one retke viruse koji su vidljivi i pod svetlosnim mikroskopom.

Virusi, pa i biljni, mogu biti veoma različite veličine i oblika. Veličina biljnih virusa se kreće od 17 nm kod satelitnog virusa uz virus nekroze duvana (*Satellite virus of Tobacco necrosis virus*), izometrijskog oblika do 2000 nm kod izduženog virusa "tristeza" citrusa (*Citrus tristeza virus*). Veličina izduženih tzv. anizometrijskih virusa izražava se njihovom dužinom i širinom. Širina ovih se kreće od 10 do 25 nm, a na osnovu dužine mogu biti podeljeni u nekoliko grupa kao što su:

-kruti štapići, čija se dužina kreće od 130 nm (virus prugavosti ječma *Barley stripe virus*, 130 nm) do 300 nm (virus mozaika duvana, *Tobacco mosaic virus*, 300 nm),

-končasti virusi dužine od 480 nm (virus mozaika bele deteline, *White clover mosaic virus*, 480 nm) do 580 nm (virus aukuba mozaika krompira *Potato aucuba mosaic virus*, 580 nm),

-dugi kruti do blago savijeni virusi dužine od 620 nm (virus prugavosti graška, *Pea streak virus*, 620 nm) do 700 nm (virus crtičastog mozaika pšenice, *Wheat streak mosaic virus*, 700 nm),

-savitljivi (fleksibilni) virusi dužine od 730 nm (Y virus krompira *Potato Y virus* 730 nm) do 765 nm (virus šarke šljive, *Plum pox virus*, 765 nm) i

-veoma savitljivi (veoma fleksibilni virusi) dužine od 1250 nm (virus žutice šećerne repe, *Beet yellows virus*, 1250 nm; Slika V.3.) do 2000 nm (virus „tristeza“ citrusa, *Citrus tristeza virus*, 2000 nm). U ovu grupu virusa spadaju najduži biljni virusi.

Zbog različite pripreme preparata virusa i tendencije agregiranja krajeva čestica virusa jedan za drugi, kao i lomljenja virusnih čestica one se razlikuju po veličini, odnosno dužini i kod iste vrste virusa. Dužina jedne vrste izduženih virusa izračunava se merenjem dužina infektivnih virusnih čestica, koje u preparatu imaju približno iste dužine. Prosečna dužina izmerenih čestica predstavlja dužinu određene vrste virusa i po pravilu ovakvih čestica bi trebalo da bude više od 60% od ukupno izmerenih virusnih čestica u preparatu. Virusni izduženog oblika mogu se relativno lako razlikovati u preparatima od sastojaka zdrave biljne ćelije. Dimenzije izduženih virusa su specifične za pojedine vrste virusa i zato mogu da se koriste, pored ostalih osobina, za identifikaciju ovih virusa.

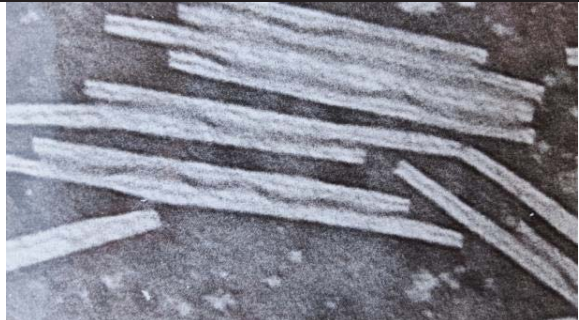


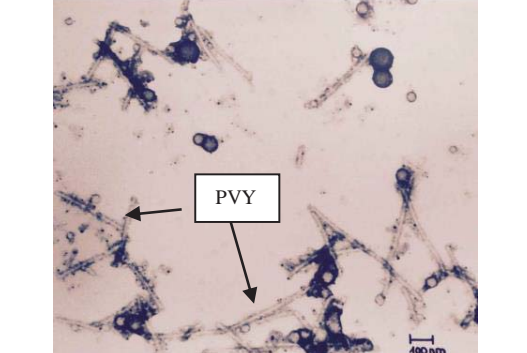
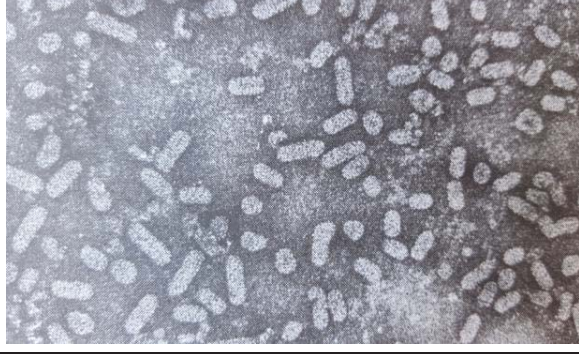
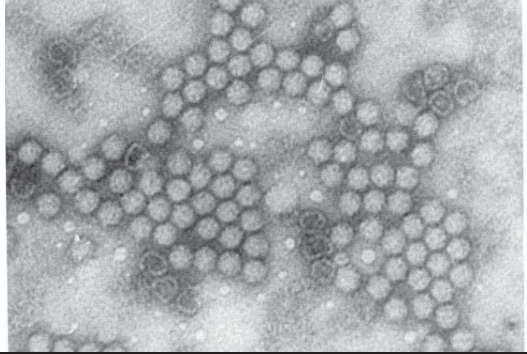
Kod izometrijskih virusa veličina čestica se izražava prečnikom, pošto su oni poliedarnog (sferičnog) oblika. Ovi virusi su znatno manji u odnosu na izdužene i njihov prečnik je između 17 nm kod satelitnog virusa uz virus nekroze duvana (*Satellite virus of Tobacco necrosis virus*) i 110 nm kod virusa žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus*). Oni se mogu podeliti po veličini u dve grupe: manje sa prečnikom od 20 do 35 nm, gde spada većina izometrijskih virusa (virus prstenaste pegavosti duvana *Tobacco ringspot virus*, 28 nm; virus mozaika krastavca *Cucumber mosaic virus*, 30 nm i drugi), i veće sa prečnikom od 60 do 110 nm (virus kržljivosti pirinča *Rice dwarf virus*, 70 nm; virusi tumoralnih rana *Wound tumor viruses*, 60-80 nm; virus bronzavosti paradajza *Tomato spotted wilt virus*, 90 nm i drugi).

Suprotno od izduženih, izometrijski virusi, a naročito oni sa manjim prečnikom u pripremljenim preparatima teže se mogu razlikovati od drugih normalnih ćelijskih tvorevina, koje su slične veličine i oblika kao i ovi virusi. Zato se morfološke osobine izometrijskih virusa moraju vrlo oprezno koristiti za njihovu determinaciju.

Elektronsko-mikroskopski snimci preseka zaraženih ćelija sa virusnim česticama ukazuju samo na njihovu relativnu veličinu, pošto su ovi snimci virusa dvodimenzionalni, a virusne čestice u ćeliji su trodimenzionalne. Zapremina napr. ćelija mezofila duvana iznosi oko  $2 \times 10^{13} \text{ nm}^3$ , a zapremina velikih biljnih virusa je oko  $6 \times 10^5 \text{ nm}^3$ , a malih  $4 \times 10^4 \text{ nm}^3$ , što ukazuje da jedna biljna ćelija može da sadrži i 10 miliona virusnih čestica.

## *Oblik virusnih čestica*

Virusne čestice mogu imati više oblika, ali su dva osnovna i to su: izduženi ili anizometrijski i izometrijski oblik virusnih čestica (Slika V.1-6). Ranije su se izometrijski virusi nazivali i sferični (loptasti) virusi, zbog njihovog loptastog izgleda na elektromikroskopskim snimcima, napravljenim pri manjim uvećanjima, ali kasnije je utvrđeno da ovi virusi imaju poliedaran oblik.

	
<p>Slika V.1. Čestice virusa mozaika duvana, uvećanje 270000X (Foto: Jasnić)</p>	<p>Slika V.2. Čestice virusa mozaika duvana, uvećanje 54000X (Foto: Jasnić)</p>
	
<p>Slika V.3. Čestice virusa žutice šećerne repe, uvećanje 40000X (Foto: Klinkowski, 1967)</p>	<p>Slika V.4. Čestice virusa crtičastog mozaika krompira negativno bojnih 2% fosfovolframovom kiselinom, uveličanje 44000X (Foto: Starović)</p>
	
<p>Slika V.5. Čestice virusa mozaika lucerke (Foto: Babović, 2003)</p>	<p>Slika V.6. Čestice virusa bugarskog latentnog virusa vinove loze, negativno bojnih 2% fosfovolframovom kiselinom (Foto: Kuzmanović)</p>

## *Izduženi virusi*

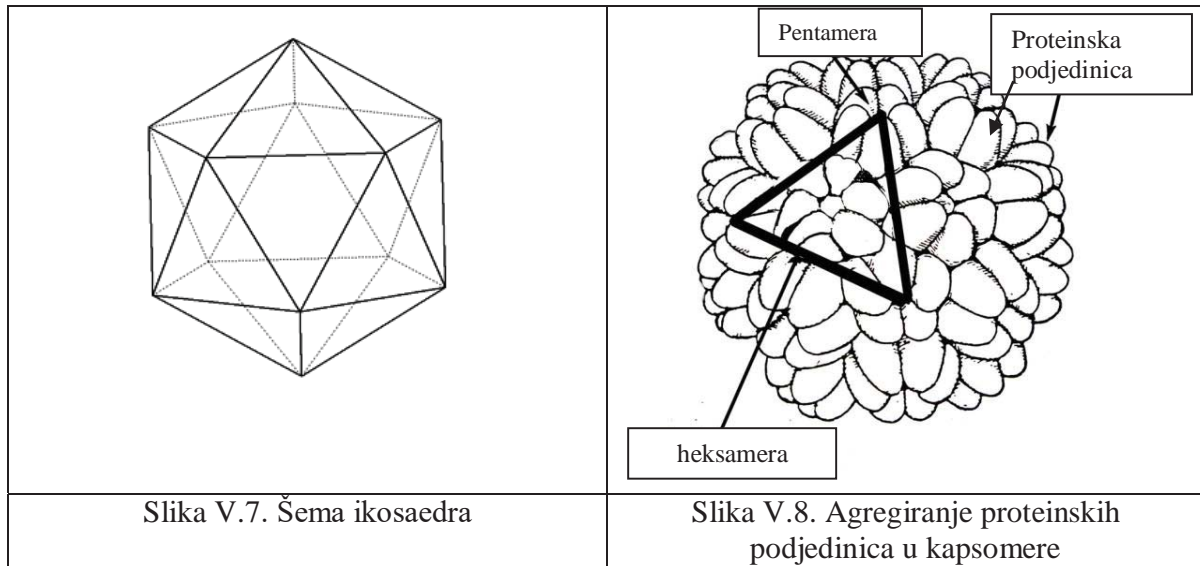
Izduženi virusi se razlikuju po dužini i širini. Oni su iduženog oblika (Slika V.1-4). Virusne čestice mogu biti u obliku krutih štapića ili u vidu više ili manje savitljivih končastih tvorevina. Postavlja se pitanje zašto su neki virusi kruti, a drugi savitljivi ili pak zašto postoji razlika u stepenu savitljivosti virusnih čestica, pošto su neke savitljivije od drugih. Objašnjenje za pojavu različite savitljivosti virusnih čestica je u građi njihovog proteinskog omotača, odnosno u jačini, tj. obimu veza interakcije između proteinskih podjedinica, od kojih je sagrađen omotač virusa. Proteinske podjedinice, koje sačinjavaju omotač virusa određuju oblik izduženih virusa. Kod virusa mozaika duvana, koji je u obliku krutog štapića, postoji veoma jako međudejstvo (interakcija) između proteinskih podjedinica, koje grade omotač virusa, što uslovljava njihovu zbijenost i daje krutost takvim virusima. Kod savitljivih čestica međudejstva između podjedinica proteinskog omotača su slabije izražena, što dovodi do stvaranja sunderaste ili šupljikaste strukture sa proređenim sadržajem podjedinica i vodom ispunjenih šupljina u omotaču virusa. Ovakva građa omotača omogućava opštu savitljivost takvih virusnih čestica.

Iako je najveći broj izduženih virusa u obliku krutih ili više ili manje savitljivih štapića u ovu grupu svrstavaju se i posebni oblici virusa gde spadaju baciloidne ili baciloformne čestice sa ovalnim zaobljenim krajevima, kao i virusi sa šiljatim krajem, nalik na puščano zrno (metak). Ove čestice su obično nekoliko puta duže u odnosu na širinu. To su najčešće kompleksne čestice zbog njihove složene građe, odnosno oblika. Do sada je opisano nekoliko virusa sa velikim baciloidnim česticama. U ovu grupu spada i virus mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*), koji sadrži baciloidne čestice različitih dužina sa širinom od 18 nm (Slika V.5). Najčešće se javljaju čestice od 30, 35, 43 i 56 nm dužine. U ovu grupu čestica sa zaobljenim krajevima spada i virus žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus*). Njegove dimenzije se u proseku kreću od 380 nm dužine do 75 nm širine. Jedan od virusa sa šiljatim krajem, sa oblikom u vidu puščanog zrna je virus nekrotičnog žutila salate (*Lettuce necrotic yellows virus*). Čestice ovog virusa, pored šiljatog oblika, nalik na metak mogu biti i baciloidne sa dimenzijama, koje najčešće iznose 227 nm dužine i 68 nm širine. Samo baciloidne čestice ovog virusa su infektivne.

## *Izometrijski virusi*

Izometrijski virusi su poliedarnog oblika i njihova veličina izražava se pomoću prečnika virusne čestice (Slika V.6). Ovi virusi imaju kubnu simetriju. Virusne čestice su u obliku geometrijskog tela-poliedra, koji se sastoji od većeg broja ravnostranih trouglova. Tako mali izometrijski virusi imaju oblik poliedra, čija je površina sastavljena od 20 ravnostranih trouglova. Ovo telo predstavlja ikosoedar (Slika V.7). Mali broj izometrijskih virusa je u obliku ikosoedra. Znatno veći broj virusa iz ove grupe je u obliku ikosodeltaedra, odnosno poliedra čija je površina sačinjena od 60 ravnostranih trouglova.





### *Građa (struktura) virusnih čestica*

Najveći broj biljnih virusa ima sličnu građu. Oni se sastoje iz dva osnovna dela: spoljnog dela ili omotača virusa i unutrašnjeg dela ili jezgra. Spoljni deo virusne čestice može biti u obliku valjka, cevaste strukture kod izduženih virusa ili u obliku zatvorene školjke, poliedarnog oblika kod izometrijskih virusa. Spoljni deo virusne čestice sačinjen je od proteina i naziva se proteinski omotač ili kapsid. Unutrašnji deo virusa sačinjava nukleinska kiselina. Unutrašnji deo sa nukleinskom kiselinom predstavlja jezgro virusne čestice. Proces u kojem nukleinska kiselina, odnosno genom virusa biva obložen, odnosno obmotan proteinskim omotačem naziva se enkapsidacija, a nukleinska kiselina okružena kapsidom (proteinskim omotačem) stvara nukleokapsid. Potpuno obrazovana virusna čestica, koja sadrži kapsid i nukleinsku kiselinu je sposobna za vršenje infekcije, naziva se virion. Međutim sve virusne čestice nisu infektivne i ne mogu se umnožavati. Razlog ovim pojavama je nedostatak određenih građivnih ili funkcionalnih delova virusnih čestica. Neinfektivnim virusnim česticama, koje se obično ne mogu ni umnožavati nedostaje nukleinska kiselina, koja je, kako je to već ranije rečeno, nosilac infektivnosti i mogućnosti replikacije virusa. Znači samo ona virusna čestica, koja je potpuna tj. sadrži kapsid i jezgro (nukleinsku kiselinu) je infektivna i replikativna i predstavlja virion. Prema tome svaka virusna čestica nije istovremeno i virion.

Kapsid kod najvećeg broja biljnih virusa je sagrađen od jedne vrste proteina i sastoji se od velikog broja istih molekula proteina (monomera). Kod manjeg broja biljnih virusa proteinski omotač je sačinjen od više različitih vrsta proteina. Tako napr. kapsidi virusa iz roda *Comovirus* su izgrađeni od dve vrste proteina tj. od dva molekula proteina različitog hemijskog sastava i veličine. Virus žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus*) sa složenijom građom ima kapsid, koji je sačinjen od četiri vrste većih polipeptida, po čemu je sličan rabdovirusima kičmenjaka.

Pojava da je kapsid kod najvećeg broja biljnih virusa sagrađen od velikog broja molekula istog proteina objašnjava se tako što je ovakva građa kapsida virusne čestice najekonomičnija i najefikasnija. Naime, virusi s jedne strane, moraju da izgrade veliki proteinski omotač, radi zaštite virusne nukleinske kiseline od delovanja nukleaza, a s druge

strane virus raspolaže malim genetskim potencijalom, tj. malim brojem gena na nukleinskoj kiselini. Radi prevazilaženja ovog problema virus obrazuje kapsid od istovetnih molekula proteina, koje kodira jedan te isti gen na genomu.

Kapsid biljnih virusa, kako je to napred rečeno, sastavljen je od velikog broja istih molekula proteina, koje se nazivaju proteinske podjedinice. Proteinske podjedinice, koje sačinjavaju kapsid su pravilno raspoređene u kapsidu. One su sastavljene najčešće od jedne vrste proteina, tj. istog su hemijskog sastava za jednu vrstu virusa i nazivaju se još i hemijske podjedinice. Kod izometrijskih virusa dolazi do sakupljanja, odnosno agregiranja nekoliko proteinskih podjedinica u kapsomere (Slika V.8). Kapsomere, koje se mogu videti na elektronskom mikroskopu, kao posebne tvorevine nazivaju se još i morfološke jedinice.

Raspored proteinskih podjedinica u kapsidu određuje tip građe ili simetrije virusnih čestica. Prema tome razlikuju se dva tipa građe ili simetrije čestica biljnih virusa i to: spiralna građa ili simetrija, tipična kod izduženih virusa i poliedarna, odnosno kubna građa ili simetrija, karakteristična za izometrijske viruse. Na osnovu ovih činjenica kada se govori o simetriji virusne čestice uvek se misli na oblik virusnog nukleokapsida.

Oko kapsida kod malog broja složenih biljnih virusa javlja se još jedan gradivni deo, kao poseban omotač u vidu slabo pričvršćene membrane ili ovojnice, koja pored proteina sadrži lipide i ugljene hidrate. Smatra se da sintezu ovojnice vrši ćelija biljke domaćina u kojoj se nalazi virus. Sa ovakvom građom do sada je opisan mali broj biljnih virusa, kao što je jedan izometrijski virus bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*) i tri izdužena virusa: virus mozaika kukuruza (*Maize mosaic virus*), virus nekrotičnog žutila salate (*Lettuce necrotic yellow virus*) i virus žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus*).

Crick i Watson (1956) su prvi izneli hipotezu o građi malih virusa, koja je uglavnom danas u najvećoj meri i potvrđena. Koristeći saznanja, koja su tada bila dostupna o građi izometrijskog virusa žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus*) i izduženog virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*) oni su zaključili da je virusna ribonukleinska kiselina (RNK) zatvorena u omotač od proteina, odnosno opkoljena proteinskim omotačem. Takođe su utvrdili da je i sama tj. „gola“ RNK virusa mozaika duvana bez omotača infektivna. Oni su pretpostavili da je osnovni zahtev malih virusnih čestica prisutnost proteinskog omotača, radi zaštite virusne RNK. Ovi autori su izneli pretpostavku da bi srazmerno veliki proteinski omotač mogao biti najefikasnije formiran, ako bi virus usmerio sintezu ka stvaranju velikog broja identičnih malih proteinskih molekula, pre nego jedne ili više velikih molekula. Crick i Watson (1956) su izneli pretpostavku da ako se javlja isti raspored povezivanja molekula u proteinskom omotaču i ako se ovaj raspored ponavlja u više navrata kod virusnih čestica, tada će se mali proteinski molekuli sakupljati (agregirati) na pravilan način oko RNK. Prema ovim autorima postoji ograničen broj načina po kojima mogu biti raspoređeni proteinski molekuli, odnosno proteinske podjedinice. Oni su zaključili da se kod svih virusa, kako izduženih, tako i izometrijskih proteinske podjedinice omotača skupljaju u pravilan niz. Proteinske podjedinice mogu biti složene u vidu spirale, tj. mogu da imaju spiralnu građu ili simetriju. Kod malih izometrijskih virusa prema Crick-u i Watsonu-u (1956) proteinski omotač, odnosno proteinska školjka mogla bi biti izgrađena od identičnih proteinskih podjedinica raspoređenih u kubnu simetriju. Najveći broj biljnih virusa je izduženog oblika ili su male izometrijske čestice, a samo manji broj su krupnije čestice sa lipoproteinskom ovojnicom.

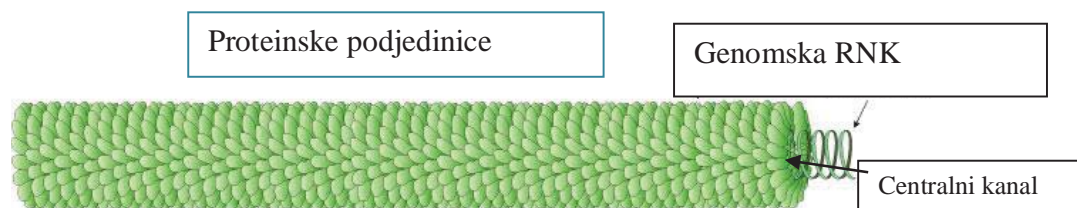
## Građa izduženih virusa

Svi izduženi virusi imaju spiralnu građu i formiraju kapsid cevaste, odnosno valjkaste strukture. Proteinske podjedinice, od kojih je sačinjen kapsid su pravilno spiralno raspoređene i ne postoji teorijsko ograničenje broja proteinskih podjedinica, složenih u spiralni niz kod izduženih virusa. U spiralan kapsid, formiran od proteinskih podjedinica je uklopljena, tj. ugrađena ili smeštena ribonukleinska kiselina (RNK) virusa. Na taj način ribonukleinska kiselina je zaštićena od spoljne sredine proteinskim omotačem, kako na spoljašnjoj, tako i na unutrašnjoj površini centralnog otvora. Prečnik (širina) izduženih virusa i parametri spirale su promenjivi kod različitih vrsta virusa i zavise od osobina proteinskih podjedinica, koje grade kapsid i nekih drugih faktora.

Spiralna građa je proučena kod mnogih izduženih virusa, ali je najdetaljnije opisana kod virusa mozaika duvana, pa ćemo građu ovog virusa detaljno razmotriti.

### Građa virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*)

Čestica virusa mozaika duvana je u obliku krutog spiralnog štapića, dužine 300 nm a širine 18 nm. Ima oblik pravilnog valjka ili cilindra. Unutar proteinskog omotača nalazi se jednospiralna RNK (ssRNK) (Slika V.9).

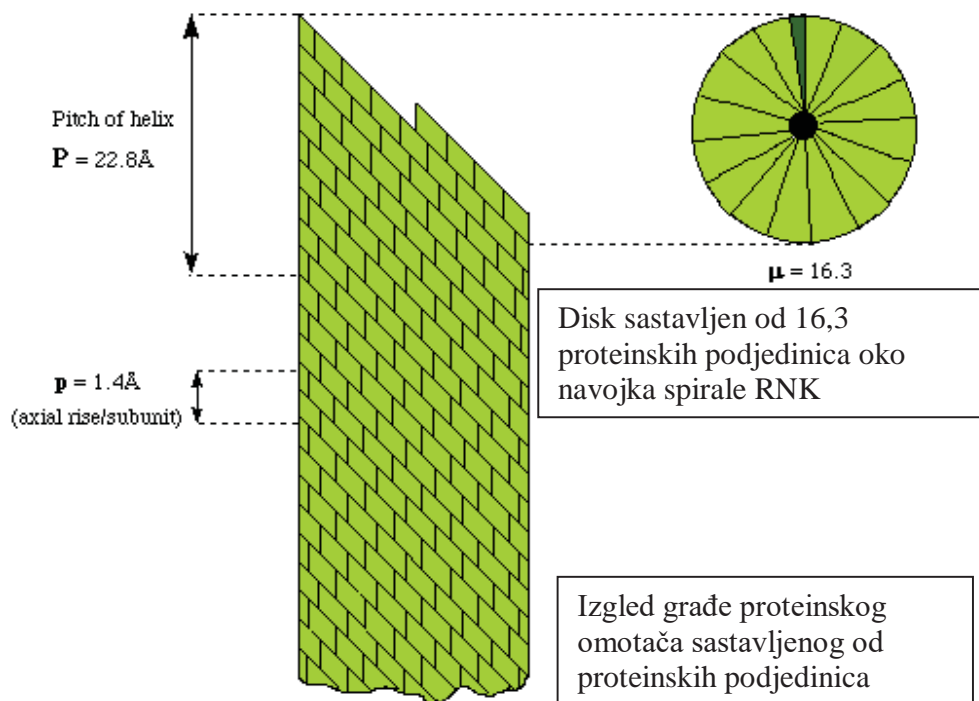


Slika V.9. Šematski prikaz građe čestice virusa mozaika duvana (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Ukupna molekulska težina čestice iznosi 40000 kDa (kilodaltona). Na molekulska težinu proteinskog omotača spada 38000 kDa ili 95%, a na molekulska težinu RNK 2000 kDa ili 5% od ukupne težine čestice. Ribonukleinska kiselina običnog soja (common strain) virusa mozaika duvana sastoji se od 6395 nukleotida. Ribonukleinska kiselina je spiralnog oblika sa rastojanjem od 2,3 nm između navojaka spirale. Protein jedne proteinske podjedinice omotača sačinjava molekul sastavljen od 158 aminokiselina. One formiraju izdužene eliptične molekule oko 7 nm dužine i 2-2,5 nm širine u najširem delu (Slika V.9). Molekulska težina jedne proteinske podjedinice je 17500 Da (daltona).

Kapsid je izgrađen od 2130 identičnih eliptičnih do jajastih proteinskih podjedinica, koje se sužavaju prema spoljnoj strani dajući brazdastu i rešetkastu strukturu površini virusnog kapsida sa otvorima od oko 5 nm. Podjedinice su pravilno spiralno raspoređene, oko središnje šupljine – otvora čestice, prečnika 4 nm u kojoj se nalazi spiralna RNK oko zamišljene ose čestice. Na jednu proteinsku podjedinicu dolazi oko 3 nukleotida virusne RNK, odnosno na jednu podjedinicu naležu 3 nukleotida RNK, formirajući neku vrstu kandže, koja zahvata vršni deo proteinske podjedinice povezujući se sa njom. Jedan navojak ili zavoj spirale RNK virusa sačinjava 49 nukleotida povezanih sa 16 celih i 1/3 proteinskih

podjedinica ili približno oko 17, koje formiraju jedan prsten ili disk. Utvrđeno je da je kapsid čestica virusa mozaika duvana izgrađen od dvostrukih (duplih) diskova, koji se sastoje, kako je rečeno, iz dva prstena od po približno 17 proteinskih podjedinica svaki ili ukupno od oko 34 podjedinica (Slika V.10). Dvostruki diskovi se pravilno ponavljaju i raspoređeni su u slojeve jedan iznad drugog kod izduženih virusa. Stvaranje dvostrukih diskova kod virusa mozaika duvana je od značaja za proučavanje strukture virusa. Ovi diskovi mogu da formiraju prave trodimenzionalne kristale, koji su bili kasnije korišćeni od mnogih istraživača za rendgensko kristalografske analize u proučavanju građe virusa.



Slika V.10. Šematski prikaz građe proteinskog omotača virusa mozaika duvana (uz odobrenje dr Shaun Heaphy, <http://www.nsgs.it/indexas00.htm>)

Korišćenjem savremenih metoda, kao što je rendgenska kristalografija, elektronska mikroskopija (metoda negativnog bojenja) i drugih veći broj istraživača (Stubbs et al., 1977; Namba i Stubbs, 1986; Namba et al., 1989; Wang i Stubbs, 1993, i dr.) došli su do detaljnih podataka o strukturi virusa mozaika duvana na atomskom nivou pri visokoj rezoluciji od 2,9 Å (angstrema). Ovde ćemo izneti samo neke glavne karakteristike građe virusa mozaika duvana.

Utvrđena je struktura najvećeg dela polipeptidnog lanca, koji sačinjava proteinsku podjedinicu virusa. Protein sadrži veliku proporciju sekundarne strukture sa 50% ostataka, koji obrazuju  $\alpha$  spirale i 10% ostataka u  $\beta$  spiralnoj strukturi. Četiri  $\alpha$  spirale (rezidui aminokiselina u lancu od 20-32; 38-48; 74-88 i 114-134) grade jezgro (unutrašnji deo) podjedinice. Krajevi četiri  $\alpha$  spirala su povezani bočno pomoću uskih traka, koje čine  $\beta$  spirale u obliku ploča. Poznato je da su proteinske podjedinice, koje izgrađuju kapsid agregirane, odnosno raspoređene u obliku dvostrukog diska. Delovi polipeptidnog lanca

najbliži unutrašnjosti virusne čestice su savitljivi, odnosno u fleksibilnom stanju sa nesređenom strukturom. Proteinske podjedinice dvostrukih diskova okrenute ka unutrašnjem delu čestice grade neku vrstu čeljusti, koja je otvorena i spremna za sklapanje, posle ulaska RNK virusa u otvore čeljusti. Pošto je došlo do ulaska i zahvatanja virusne RNK, dolazi do zatvaranja čeljusti i povezivanja RNK za protein. Nakon ovog procesa dolazi do određenih promena kod proteinskih podjedinica. Podjedinice, koje su do tada bile skoro pod pravim uglom prema vertikalnoj osi dvostrukog diska značajno se iskreću, odnosno naginju ili ukošavaju u odnosu na vertikalnu osu. Najveći deo polipeptidnog lanca, koji je bio nesređen preuzima spiralan oblik, paralelan sa pravcem ose čestice. Ove vertikalne spirale obrazuju zid, koji okružuje unutrašnjost osnog otvora čestice u kojem se nalazi spiralna RNK virusa. Proučavanja virusa mozaika duvana su pokazala da kruti štapić virusa kod 3' kraja RNK je blago ispupčen, a kod 5' kraja udubljen. Podaci dobijeni proučavanjem strukture virusa pokazuju da su molekuli vode raspoređeni na svim delovima proteinske podjedinice, kako na unutrašnjim, tako i na spoljnim površinama virusne čestice, kao i u međuprostorima između podjedinica.

Poznato je da virus mozaika duvana ima izuzetno stabilnu strukturu. To omogućavaju veze, koje postoje između susednih proteinskih podjedinica, zajedno sa interakcijom, između baza RNK i proteinskih podjedinica, što uslovljava vrlo stabilnu makromolekularnu strukturu virusne čestice. Iako su čestice virusa mozaika duvana veoma stabilne mora da postoji i mogućnost rasklapanja, tj. razgradnje virusa „*in vivo*“, radi oslobađanja virusne RNK u procesu započinjanja umnožavanja virusa. Slično moraju da postoje i molekularni mehanizmi za samosklapanje virusnih čestica, tj. proteina omotača i virusne RNK. O ovim procesima govorićemo detaljno kasnije u poglavlju o umnožavanju virusa. Ovi procesi su verovatno kontrolisani i pomoću negativnih naboja susednih grupa, koje stvaraju elektrostatički potencijal za rasklapanje virusa. Ove grupe su karboksil-karboksilati ili karboksil-fosfati, parovi koji mogu da vezuju jone  $Ca^{2+}$  ili  $H^+$ .

Ostali virusi, koji pripadaju rodu *Tobamovirus* izgrađeni su po istom opštem principu kao i virus mozaika duvana, koji je predstavnik ovog roda.

Građa virusa šuštavosti duvana (*Tobacco rattle virus*)

Slična strukturna građa kao i kod virusa mozaika duvana je opisana i za virus šuštavosti duvana (*Tobacco rattle virus*) iz roda *Tobravirus*. Čestice ovog virusa su u obliku krutih štapića. Genom mu je u vidu jednospiralne ribonukleinske kiseline (ss RNK) podeljen u dva fragmenta između čestica dvaju dužina kraćih (46-114 nm) i dužih (180-215 nm). Svaki od ova dva tipa virusnih čestica sadrži svoju sopstvenu RNK (RNK<sub>1</sub> i RNK<sub>2</sub>). Postoji međuzavisnost između ova dva tipa čestica. Virus šuštavosti duvana je tipičan višedelni virus, sastavljen od dva tipa čestica, koje su međusobno zavisne. Umnožavanje ovog virusa može samo da se ostvari ako su u zaraženoj ćeliji prisutna oba tipa virusnih čestica. Znači za stvaranje potpune virusne čestice virusa šuštavosti duvana neophodna je saradnja, tj. kooperacija oba tipa virusnih čestica. O višedelnim virusima govorićemo kasnije detaljno u posebnom odeljku ovog poglavlja. U ovom delu razmotrićemo samo građu dugih čestica virusa šuštavosti duvana, pošto se smatra da su kratke čestice izgrađene po istom sistemu, kao i duge.

Proučavanjem strukturne građe ovog virusa bavio se Offord (1966). Na bazi rezultata njegovih istraživanja utvrđeno je da je prosečna dužina dugih čestica 191 nm, a širina 25,6

nm. Razmak između navojaka virusne RNK je 2,5 nm. Izgrađena je od oko 6791 nukleotida (Hamilton et al., 1987). Na tri navojka spirale RNK naleže 76 proteinskih podjedinica, odnosno tačno 25 i 1/3 podjedinica na jednom navojku. Poluprečnik centralnog otvora virusa je 2,7 nm. Primećeno je da virus šuštavosti duvana ima različite oblike krajeva čestice. Jedan kraj je blago ispupčen, dok je kod drugog kraja centralni otvor blago levkasto udubljen (Harrison i Woods, 1966). Takođe je utvrđeno da su proteinske podjedinice u obliku banane i da njihova dužna osa nije nagnuta pod pravim uglom (90°) prema vertikalnoj osi čestice. Kao i kod virusa mozaika duvana polipeptidni lanac proteinske podjedinice sastavljen je od značajnih količina u obliku  $\alpha$  spirala, čijih struktura virus šuštavosti duvana ima više u odnosu na virus mozaika duvana (Blanch et al., 2001). Slično kao i kod virusa mozaika duvana proteinske podjedinice se sakupljaju u strukture dvostrukog diska prilikom formiranja kapsida virusa (Gugerli, 1976).

### Građa drugih izduženih virusa

Strukturna građa drugih izduženih virusa sa spiralnom simetrijom nije još uvek detaljno proučena. Nema dovoljno podataka o spiralnom rasporedu proteinskih podjedinica u kapsidima ovih virusa. Pretpostavlja se da verovatno svi izduženi virusi (končasti ili fleksibilni) imaju u osnovi sličnu strukturnu građu, kao i kruti štapići, koja je opisana kod virusa mozaika i šuštavosti duvana. Međutim, primećene su razlike između nekih parametara kod čestica u obliku krutih štapića i savitljivih čestica. Tako je prečnik, odnosno širina kod krutih čestica veća (oko 20 nm) u odnosu na fleksibilne izdužene viruse (širina oko 11-13 nm). Postoje razlike i između rastojanja navojaka spirale virusnih RNK. Kod krutih čestica ova rastojanja su kraća (2,4-2,6 nm), dok su kod savitljivih izduženih virusa duža (3,3-3,8 nm). Savitljivost izduženih virusnih čestica je verovatno rezultat slabije strukture, odnosno slabije povezanosti proteinskih podjedinica u kapsidu i slabije interakcije između proteinskih podjedinica i RNK virusa.

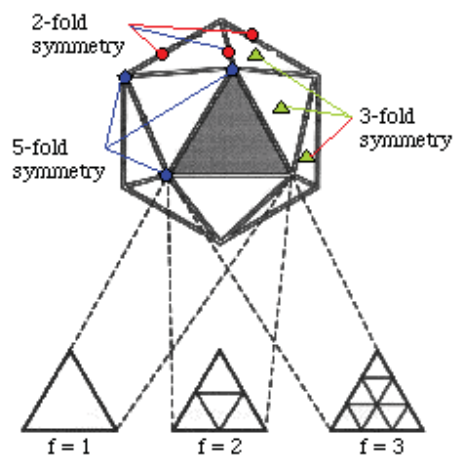
Strukturna građa kod savitljivih izduženih virusa je najdetaljnije proučena kod virusa iz roda *Potexvirus* (Tollin i Wilson, 1988). Proučavanja strukture proteinskog omotača virusa mozaika narcisa (*Narcissus mosaic virus*) i X virusa krompira (*Potato virus X*), koji pripadaju rodu *Potexvirus* pokazala su da proteinske podjedinice ovih virusa su sačinjene od veće količine sekundarne strukture u obliku  $\alpha$  spirala (45%), a da sadrže manje  $\beta$  spiralnih struktura (Wilson et al., 1991). Kod X virusa krompira proučen je i raspored proteinskih podjedinica u kapsidu virusa (Baratova et al., 1992).

### Građa izometrijskih virusa

Izometrijske virusne čestice pri manjim uvećanjima na elektromikroskopskim snimcima imaju sferičan ili loptast oblik i zbog toga su ranije nazivane sferičnim ili loptastim virusima. Kasnije, usavršavanjem i povećanjem moći uvećanja elektronskog mikroskopa utvrđeno je da su tzv. sferični virusi poliedarnog oblika i nazvani su izometrijskim virusima. Prema tome izometrijske virusne čestice predstavljaju geometrijska tela poliedarnog oblika, čija je površina sastavljena od većeg broja ravnostranih trouglova. Izometrijski virusi imaju kubnu simetriju. Strukturna građa proteinskog omotača malih izometrijskih virusa je obliku ikosoedra, tela čija je površina izdvojena na 20 ravnostranih trouglova. Ikosoedar je poliedar

sačinjen od 12 temena u kojima se sučeljavaju vrhovi (uglovi) 5 ravnostranih trouglova i 30 ivica (Slika V.7.).

Ovo telo ima ukupno 10 ravni simetrije (5:3:2) i to 5 ravni simetrije prolazi kroz pojedini vrh (teme) ikosoedra, 3 ravni simetrije prolaze kroz sredinu površine ikosoedra, a dve ravni simetrije mogu se povući kroz ivicu dveju susednih površina, odnosno kroz okomitu liniju, koja seče ivicu dveju površina (Slika V.11). Utvrđeno je da je površina jednog trougla sagrađena od tri gradivne proteinske podjedinice, što znači da su virusi ikosoedarne građe sačinjeni od 60 ( $20 \times 3 = 60$ ) proteinskih podjedinica, koje izgrađuju proteinsku školjku, odnosno proteinski omotač poliedarne virusne čestice.



Slika V.11. Šematski prikaz izometrijskih virusnih čestica sa označenim osama simetrije i način deljenja osnovnih trouglova –  $F^2$  (uz odobrenje dr Shaun Heaphy, <http://www.nsgs.it/indexas00.htm>)

Na osnovu kristalografskih istraživanja izometrijskih virusa Crick i Watson (1956) su došli do zaključka da bi proteinski omotač malih „sferičnih“ virusa mogao biti izgrađen od identičnih proteinskih podjedinica raspoređenih u kubnu simetriju. Oni su istakli da najverovatnije kubna simetrija prouzrokuje izometrijski oblik virusnih čestica i isključuje sferičan oblik. Postoje tri tipa kubne simetrije tetraedarni (2:3), oktaedarni (4:3:2) i ikosoedarni (5:3:2). Ako bi proteinska školjka (omotač) virusne čestice bio sagrađen po jednom od ova tri tipa kubne simetrije, tada bi kapsid mogao biti sačinjen od 12, 24 ili 60 identičnih podjedinica, raspoređenih na isti način na spoljnoj površini kapsida (omotača). Kasnije su Klug i Caspar (1960) izneli pretpostavku da mnogi virusi najverovatnije imaju proteinske omotače sačinjene od podjedinica raspoređenih u ikosoedarnu simetriju. Horne i Wildy (1961) predložili su moguće modele grupisanja proteinskih podjedinica u ikosoedarnom omotaču sa 5:3:2 simetrijom, kao i moguće agregiranje proteinskih podjedinica, sakupljenih u grupe od 5 i 6. Caspar i Klug (1962) takođe, ukazuju na principe izgradnje virusnih čestica, a posebno onih sa poliedarnom građom, zasnovanom na ikosoedarnim strukturama. Oni su došli do zaključka da je proteinski omotač izometrijskih virusa sagrađen od velikog broja malih identičnih molekula proteina, što omogućava da se najefikasnije koristi genetski materijal kod izgradnje kapsida. Pretpostavke o građi izometrijskih virusa gore pomenutih autora, kao i drugih istraživača pokazale su se u velikoj

meri kao tačne. Na osnovu usavršenih metoda istraživanja u oblasti virusologije i molekularne biologije danas je detaljno proučena i poznata građa mnogih izometrijskih virusa.

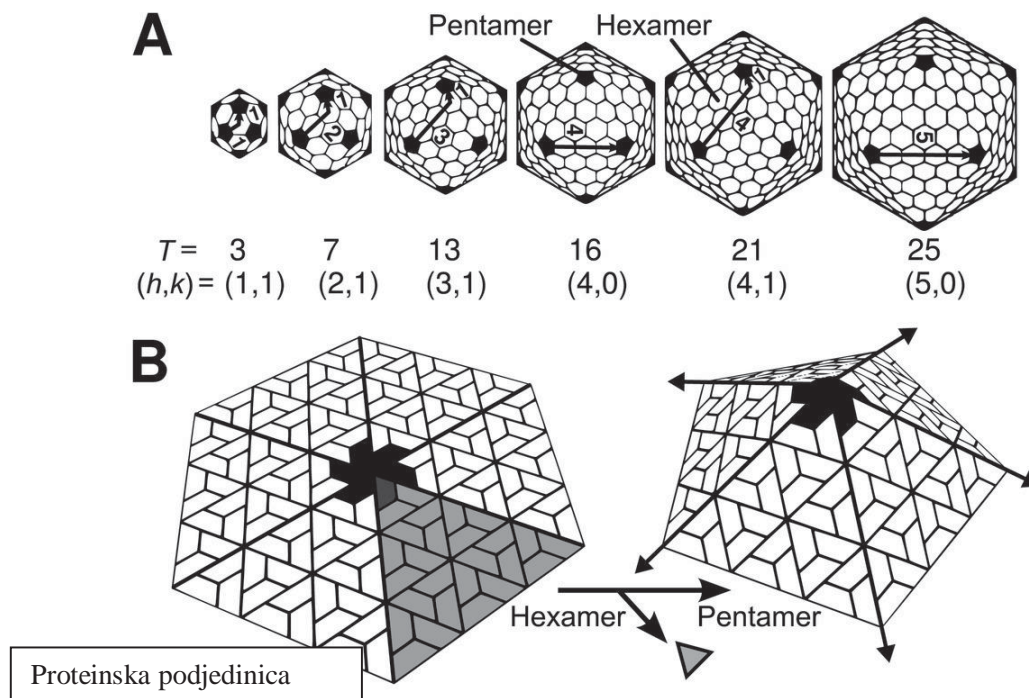
Mali izometrijski virusi, koji obuhvataju manji broj vrsta biljnih virusa, gde spada najmanji biljni virus satelitni virus uz virus nekroze duvana *Satellite virus of Tobacco necrosis virus*), neki virusi iz roda *Nepovirus* (virus mozaika gušarke; *Arabis mosaic virus*, virus prstenaste pegavosti duvana i paradajza; *Tomato ring spot virus*; *Tobacco ring spot virus*, virus infektivne degeneracije vinove loze; *Grapevine fanleaf virus* i dr.) i drugi su jedini biljni virusi, bar koliko je dosada poznato, čiji je proteinski omotač ikosoedarne građe, tj. u obliku geometrijskog tela ikosoedra, čija je površina sačinjena od 20 ravnostranih trouglova i izgrađena od 60 proteinskih podjedinica, pošto je poznato da svaki trougao građe po tri proteinske podjedinice ( $20 \times 3 = 60$ ). Međutim kod najvećeg broja vrsta biljnih izometrijskih virusa proteinski omotač je izgrađen od više nego 60 proteinskih podjedinica (obično sadrži 180 podjedinica).

Caspar i Klug (1962) nabrojali su sve moguće strukture ikosoedarne građe, na osnovu kojih bi mogao biti sagrađen proteinski omotač izometrijskih virusnih čestica, kao i mogući broj proteinskih podjedinica, koje bi mogle da sačinjavaju omotače virusa, različite strukturne građe. Utvrđeno je da je osnovni model proteinskog omotača u obliku ikosoedra, sagrađen od 20 trouglova sa  $20 \times 3 = 60$  gradivnih proteinskih podjedinica može biti podeljen. Kod izometrijskih virusa, gde je proteinski omotač sačinjen od više nego 60 gradivnih proteinskih podjedinica, dolazi do podele površina osnovnih ravnostranih trouglova ikosoedra na veći broj manjih ravnostranih trouglova. Ova pojava naziva se triangulacija. Osnovni trougao ikosoedra triangulacijom može biti podeljen po sledećoj formuli:

$$T = h^2 + h \times k + k^2$$

gde T predstavlja triangulacioni broj, tj. onaj broj trouglova u koje svaka površina osnovnog trougla može biti teorijski podeljena. Prema tome od svakog osnovnog izvornog trougla ikosoedra može nastati teorijski  $20 \times T$  novih trouglova. Slova h i k predstavljaju bilo koji ceo broj (Slika V.12.). Međutim, praktično samo određene vrednosti su moguće za h i k, odnosno za triangulacioni broj T, prilikom deljenja osnovnog trougla ikosoedra na manje trouglove kod izometrijskih virusa. Vrednosti za T kod ovih virusa mogu biti sledeće: kada je  $h = k$ , tada vrednosti za T mogu iznositi 3, 27, 48, 75, itd. ili kada je  $h = 0$ , a k bilo koji ceo broj, odnosno kada je  $k = 0$ , a h bilo koji ceo broj tada T iznosi 1, 4, 9, 25, itd. Za predhodno navedene vrednosti T na osnovu kojih može biti podeljen osnovni trougao ikosoedra na određen broj manjih dobija se geometrijsko telo poliedar, sastavljeno od trouglova, koji su simetrično raspoređeni na površini ovoga poliedra. Za druge vrednosti h i k, dobijeni poliedri nastali deljenjem osnovnog trougla ikosoedra na bazi izračunatog triangulacionog broja T bili bi nepravilni i imali bi iskrivljenu simetriju. Ovakav tip izometrijskih virusa sa nepravilnom simetrijom javlja se kod nekih animalnih i humanih virusa.





Slika V.12. Tipovi kapsomera i triangulacija ikosoedra pri različitim vrednostima triangulacionog broja (po Mannige i Brooks (2010) uz odobrenje Creative Commons Attribution 2.5 Generic license)

Najprostiji poliedar je ikosoedar sastavljen od 20 ravnostranih trouglova ima triangulacioni broj  $T = 1$ . Složeniji ikosodeltaedar ima triangulacioni broj  $T = 3$  (kada je  $h = k = 1$ ). Kod ikosodeltaedra površina osnovnog trougla ikosoedra je podeljena na tri manja ravnostrana trougla. Na ovaj način dobija se geometrijsko telo sagrađeno od 60 ravnostranih trouglova, tj. ikosodeltaedar. Svaki trougao je sačinjen od tri proteinske podjedinice, pa prema tome proteiski omotač gradi 180 ( $3 \times 60$ ) proteinskih podjedinica. Čestice najvećeg broja vrsta izometrijskih virusa imaju proteinski omotač sagrađen po modelu ikosodeltaedra ( $T = 3$ ), koji sačinjava 180 proteinskih podjedinica.

Vrednost triangulacionog broja  $T$  može se izračunati i po drugoj formuli:

$$T = P \times f^2$$

Gde je  $T$  triangulacioni broj

Značenje parametra  $f$ : svaka površina osnovnog ravnostranog trougla pomoću pravih linija može biti podeljena tako da stvara jednake površinske delove na svakoj strani trougla. Stoga  $f$  predstavlja broj mogućih deljenja svake stranice osnovnog trougla, a  $f^2$  je broj manjih trouglova, koji se formiraju deljenjem strana osnovnog trougla.

Značenje parametra  $P$ : postoji i drugi način po kojem podela triangulacijom osnovnog trougla može da se izvrši i to se označava parametrom  $P$ , koji predstavlja broj novoformiranih trouglova unutar početne površine osnovnog trougla i izračunava se po formuli:

$$P = h^2 + h \times k + k^2$$

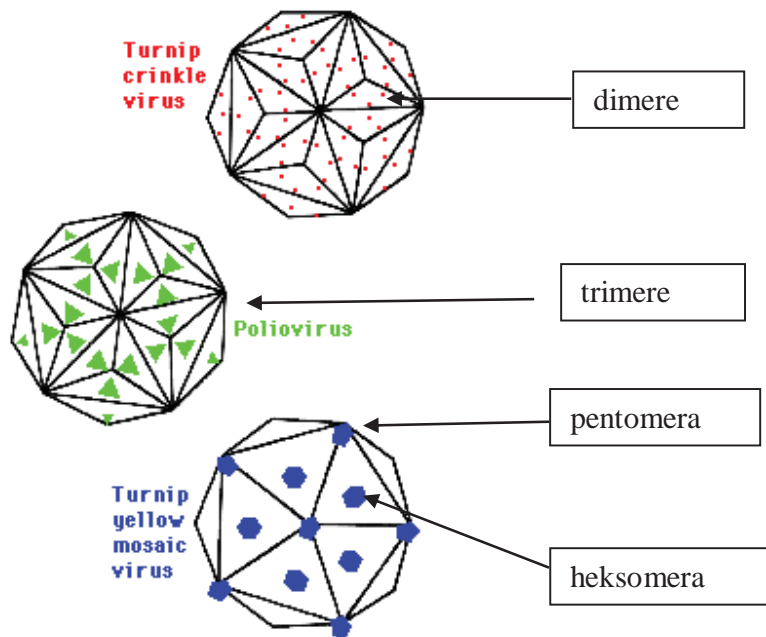
Gde su  $h$  i  $k$  bilo koji ceo broj koji nema zajednički imenilac. Tako napr: za  $h = 1$  i  $k = 0$  vrednost  $P = 1$

za  $h = 1$  i  $k = 1$  vrednost  $P = 3$

za  $h = 2$  i  $k = 1$  vrednost  $P = 7$  itd.

Pošto pomoću parametra  $P$  svaki od trouglova može biti izdijeljen na manje delove u  $f^2$  manje trouglove, prema tome  $T$  predstavlja ukupan broj deljenja prvobitne površine trougla. Za vrednosti  $P < 7$  dobijeni poliedri ikosoedarne strukture su iskošeni i to obično s desna ulevo, mada je moguće i s leva udesno.

U zavisnosti od građe poliedra, tj. od njegove simetrije po čijem je modelu izgrađen proteinski omotač izometrijskih virusnih čestica, kapsid može biti sačinjen od 60 proteinskih podjedinica kod virusa sa omotačem ikosoedarnog oblika ili pak od 180 proteinskih podjedinica kod virusa, čiji je omotač u obliku ikosodeltaedra. Proteinske podjedinice na snimcima dobijenim na velikim uvećanjima na elektronskom mikroskopu mogu da izgledaju slično ili identično ili pak da se razlikuju po obliku i veličini. Različiti izgled i oblici proteinskih podjedinica na elektromikroskopskim snimcima je prouzrokovan činjenicom da proteinske podjedinice virusa, a posebno izometrijskih imaju sposobnost i osobinu da se sakupljaju, odnosno agregiraju više njih zajedno na različite načine, formirajući na taj način morfološke jedinice različitog oblika. Agregiranje proteinskih podjedinica je posebno izraženo kod izometrijskih virusa. Srodni virusi imaju sličan tip agregiranja podjedinica, odnosno slične oblike skupljenih podjedinica. Proteinske podjedinice, kao što je poznato predstavljaju najčešće pojedinačne molekule polipeptida, odnosno proteina molekulske težine, koja iznosi kod većine izometrijskih virusa od 20000 - 40000 D. One se nazivaju još i hemijske jedinice. Pošto je molekulska težina proteinskih podjedinica veoma mala, one se veoma teško i retko mogu videti pojedinačno na elektromikroskopskim snimcima, jer kod većine njihova veličina je na granici moći uvećanja, odnosno vidljivosti savremenih elektronskih mikroskopa. Agregirane podjedinice su veće, jer su skupljene nekoliko njih zajedno i mogu se lakše videti na elektronskom mikroskopu. One predstavljaju skup hemijskih jedinica i nazivaju se morfološke jedinice ili kapsomere. Postoje tri osnovna tipa agregiranja, odnosno skupljanja proteinskih podjedinica, koje se na elektronskom mikroskopu vide kao jedna celina, odnosno kao poseban oblik ili morfološka jedinica (kapsomera). Tri proteinske podjedinice, koje grade površinu svakog trougla poliedra mogu da se sakupe u centru trougla, formirajući morfološku jedinicu od tri podjedinice ili tzv. trimeru. Parovi proteinskih podjedinica iz susednih trouglova mogu se sakupiti na ivicama između trouglova obrazujući po dve agregirane podjedinice zajedno ili dimere. Tako se u jednom osnovnom (izvornom) trouglu mogu da nalaze po 6 podjedinica u tri dimere. Proteinske podjedinice mogu se sakupiti u temenima (vrhovima) trouglova ikosoedra. Pošto pet vrhova trouglova čine jedno teme ikosoedra formira se pentomera, morfološka jedinica sastavljena od pet proteinskih podjedinica. Tamo gde se šest trouglova sučeljava u teme ikosodeltaedra obrazuju se morfološke jedinice sastavljene od šest proteinskih podjedinica, tzv. heksomere (Slika V.8 i V.13.).



Slika V.13. Primeri agregiranja proteinskih podjedinica: virus kovrdžavosti postrne repe (*Turnip crinkle virus*) formira 90 dimera; poliovirus (prouzrokovatelj dečje paralize) formira 60 trimera; virus žutog mozaika postrne repe formira 20 heksamera i 12 pentomera (uz odobrenje dr Shaun Heaphy, <http://www.nsgs.it/indexas00.htm>)

Proteinske podjedinice kod većine malih izometrijskih virusa, kao što je već rečeno, su male molekule polipeptida sa molekulskom težinom, koja se kreće u opsegu od oko 20000 do 40000 D. Kod manjeg broja vrsta izometrijskih virusa proteinske podjedinice mogu biti u vidu većih, odnosno krupnijih molekula sa većom molekulskom težinom. U odnosu na izdužene virusne čestice sekundarna struktura građa polipeptidnih lanaca izometrijskih virusa se znatno razlikuje. Polipeptidni lanci, koji sačinjavaju proteinske molekule podjedinica izometrijskih virusnih čestica u svojoj građi imaju znatno veći udeo  $\beta$  spiralnih struktura ili  $\beta$  ploča i znatno manju proporciju  $\alpha$  spirala (Denloye et al., 1978; Odomosu et al., 1981). Polipeptidni lanci proteinskih podjedinica, izometrijskih virusa sastoje se najčešće od osmospiralnog antiparalelnog  $\beta$  skupa ili sendviča, koji gradi buretastu ili valjkastu strukturu, tzv.  $\beta$  buretastu tvorevinu ili  $\beta$  valjak. Proteinske podjedinice sa  $\beta$  buretastom strukturom imaju više ili manje klinast oblik i njihove strane su izgrađene od  $\beta$  spirala, koje sačinjavaju maksimalno rastegnute polipeptidne spiralne lance. Ovi lanci su zbijeni jedan uz drugi stvarajući tzv.  $\beta$  ploče, koje su stabilizovane pomoću monovalentnih veza. Kod nekih izometrijskih virusa, za razliku od gore pomenutih, proteinske podjedinice mogu biti i u obliku banane. Molekula polipeptida ovih podjedinica je sastavljena od oko 9%  $\alpha$  spirala i od oko 43%  $\beta$  spiralnih tvorevina, odnosno  $\beta$  ploča. Oko 48% polipeptida podjedinica ima nepravilnu građu, odnosno zbrkani (neuređeni) sklop (Hartman et al., 1978). Polipeptidni lanci, takođe obrazuju  $\beta$  buretastu ili  $\beta$  valjkastu strukturu, sastavljenu od osam antiparalelnih  $\beta$  spirala.

Proteinske podjedinice izometrijskih virusa mogu da se sastoje od jednog, dva ili tri dela, odnosno domena i to: domena S, R i domena P. S domen je sačinjen od proteina u obliku osmospiralne antiparalelne  $\beta$  buretaste strukture, odnosno  $\beta$  ploče, koja se sužava pri

jednom kraju formirajući klinast oblik proteinskih podjedinica. Ovakav oblik podjedinica omogućava njihovo zbijanje, odnosno tesno međusobno primicanje u proteinskom omotaču virusa. Kod drugih izometrijskih virusa S domen proteinskih podjedinica je obliku banane i ima sličnu strukturnu građu proteina, kao i onaj klinastog oblika. S domen proteinske podjedinice zahvata približno jednu trećinu površine trougla ikosoedra. P domen (oblast) predstavlja istureni deo kapsida, odnosno površinu, koja štrči u obliku ispuččenja ili šiljka na kapsidu kod nekih izometrijskih virusa sa reljefnom neravnom površinom kapsida. P domeni, prema tome, izgrađuju ispuččene tvorevine na kapsidu virusa. R domen ili oblast predstavlja spajajući krak, u obliku šarke, koji spaja S i P domen proteinske podjedinice. R domen se sastoji od određenog dela terminalnih N-regiona polipeptidnog lanca, koji je povezan sa virusnom RNK. Proteinske podjedinice svih izometrijskih virusa imaju S domen, a P i R domeni se javljaju samo ređe, kod nekih izometrijskih virusa. Tako, izometrijski virusi sa reljefnom površinom kapsida, tj. sa površinom na kojoj se nalaze izvesna ispuččenja ili određene tvorevine u vidu bodlji sačinjeni su od proteinskih podjedinica koje su izgrađene pored domena S i od domena P i R.

Na osnovu oblika poliedra i broja trouglova od kojih je izgrađena površina poliedra, koji predstavlja model za proteinski omotač izometrijskih virusa mogu se razlikovati nekoliko tipova strukturne građe proteinskog omotača. Proteinski omotači izometrijskih virusa se međusobno razlikuju po triangulacionom broju, odnosno po broju trouglova, koji sačinjavaju kapsid i po broju, građi i obliku proteinskih podjedinica, od kojih je izgrađen kapsid izometrijskih virusa. To su virusi sa sledećim triangulacionim brojevima:

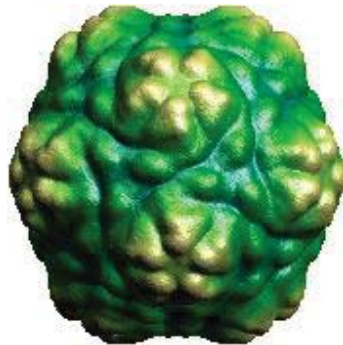
- izometrijske virusne čestice sa triangulacionim brojem  $T=1$ , gde je površina proteinskog omotača sačinjena od 20 ravnostranih trouglova (ikosoedar) i izgrađena od 60 proteinskih podjedinica, najčešće sakupljenih u pentomere;
- baciloidne virusne čestice, čiji su delovi proteinskog omotača izgrađeni na bazi triangulacionog broja  $T=1$ ;
- „gemini“ virusi (virusi sa dvojnim česticama), čiji je proteinski omotač izgrađen na bazi triangulacionog broja  $T=1$ ;
- izometrijske virusne čestice sa triangulacionim brojem  $T=3$ , gde je površina proteinskog omotača sačinjena od 60 ravnostranih trouglova (ikosodeltaedar) i izgrađena od 180 proteinskih podjedinica, najčešće sakupljenih u pentomere i heksomere;
- baciloidne virusne čestice, čiji su delovi proteinskog omotača izgrađeni na bazi triangulacionog broja  $T=3$ ;
- virusne čestice, čiji je proteinski omotač izgrađen na bazi pseudo  $T=3$  simetrije i
- izometrijske virusne čestice, čiji je proteinski omotač izgrađen na bazi triangulacionog broja  $T=7$ .

Građa nekih od gore pomenutih grupa virusa je detaljno proučena i o njihovoj strukturi postoje brojni podaci. U ovom delu izneće se podaci o strukturnoj građi najbolje proučenih izometrijskih virusa na osnovu tipa njihove građe.

### **Virusne čestice sa proteinskim omotačem izgrađenim na bazi triangulacionog broja $T=1$**

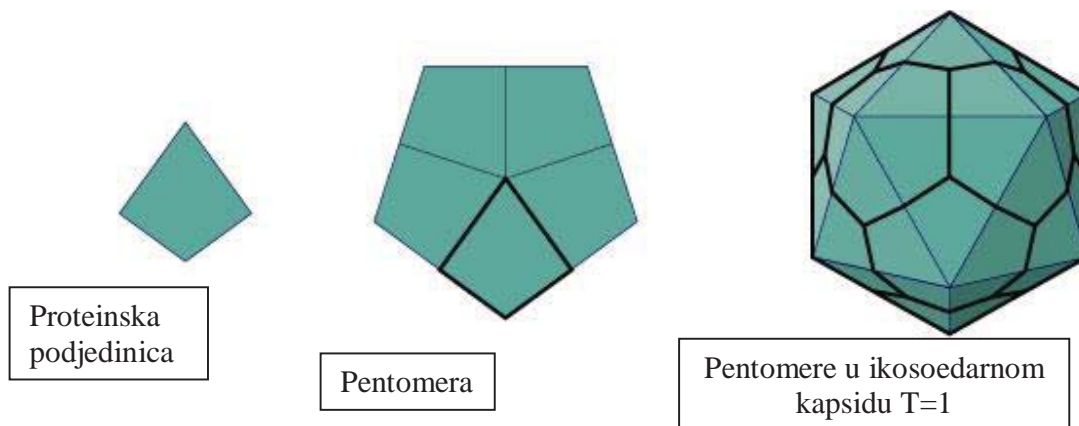
U ovu grupu virusa spada i do sada najmanji utvrđeni biljni virus a to je satelitni virus uz virus nekroze duvana, *Satellite virus of Tobacco necrosis virus-STNV*(Slika V.14.). U

ovoj grupi se nalaze i neki virusi, koji pripadaju rodu *Nepovirus*, kao i neki drugi satelitni virusi.



Slika V.14. Model čestice čestice satelitnog virusa uz virus nekroze duvana (STNV) (slika ustupljena ljubaznošću Viperdb2 sajta, Carillo-Tripp et al., 2009)

Čestice satelitnog virusa uz virus nekroze duvana (STNV) su prečnika 17 nm. Proteinski omotač je u obliku ikosoedra sastavljenog od 20 ravnostranih trouglova. Kapsid je izgrađen od 60 hemijskih jedinica ili proteinskih podjedinica ( $20 \times 3 = 60$ ), sakupljenih u 12 pentomera. Ove kapsomere su agregirane u 12 temena ikosoedra (Slika V.15.).



Slika V.15. Šema građe kapsida virusne čestice sa triangulacionim brojem  $T=1$  (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

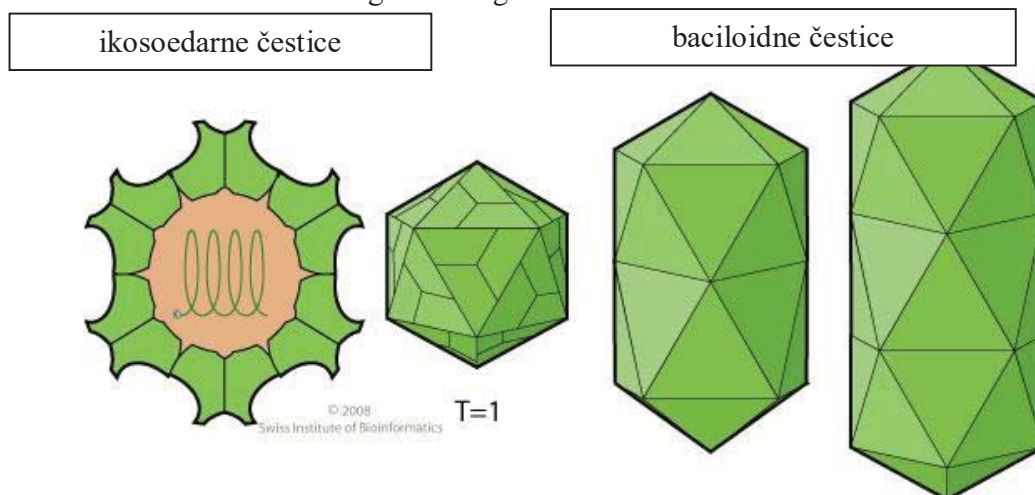
Proteinske podjedinice su klinastog oblika molekulske težine 21,3 kD (kilodaltona). Struktura proteinskih podjedinica virusa je slična strukturi onih, kao kod virusa žbunaste kržljivosti paradajza (*Tomato bushy stunt virus*). One se sastoje od S domena, a nemaju P domen. S domen je sagrađen od  $\beta$  buretaste strukture, koju sačinjavaju osam polipeptidnih lanaca u obliku gusto zbijenih antiparalelnih  $\beta$  spirala. Proteinski lanci su stabilizovani pomoću monovalentnih sila (Jones i Liljas, 1984). Na amino krajevima proteina satelitnog virusa je utvrđeno 11 nepravilno raspoređenih ostataka aminokiselina (12–22), koji su spojeni sa RNK, odnosno ulaze u RNK virusa. Takođe su locirana tri različita mesta sa metalnim jonima ( $\text{Ca}^{2+}$ ), čija je uloga međusobno povezivanje proteinskih podjedinica u kapsidu.

## Baciloidne virusne čestice sa delovima proteinskog omotača izgrađenim na bazi triangulacionog broja T=1

U grupu baciloidnih virusnih čestica, čiji je proteinski omotač izgrađen na osnovu triangulacionog broja T=1 spadaju virusi iz rodova *Alfamovirus*, *Ilarvirus* i *Ourmiavirus*.

Građa virusa mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*)

Virus mozaika lucerke (AMV), pripadnik roda *Alfamovirus* je višedelni virus, koji se sastoji od više vrsta čestica različitih dužina koje sadrže RNK, dimenzija između 30 i 56 nm i širine 18 nm (Slika V.5. i V.16.). Ove čestice nemaju izometrijski oblik, već su baciloidne sa zaobljenim krajevima. One su izgrađene od dva zaobljena dela na krajevima čestice, koji predstavljaju polovine ikosoedra i valjkastog ili cilindričnog srednjeg dela, koji se sastoji od proteinskih podjedinica raspoređenih u dvostruko ili trostruko simetriji. Tip čestica bez nukleinske kiseline, veličine 18 nm, razlikuje se od drugih, jer nema baciloidni oblik već su ove čestice izometrijske. Detaljnije će se o virusu mozaika lucerke govoriti u delu ovog poglavlja u kojem se razmatraju karakteristike višedelnih ili multikomponentalnih virusa. U ovom delu razmotriće se samo građa ovoga virusa.



Slika V.16. Šematski prikaz građe čestica virusa mozaika lucerke (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

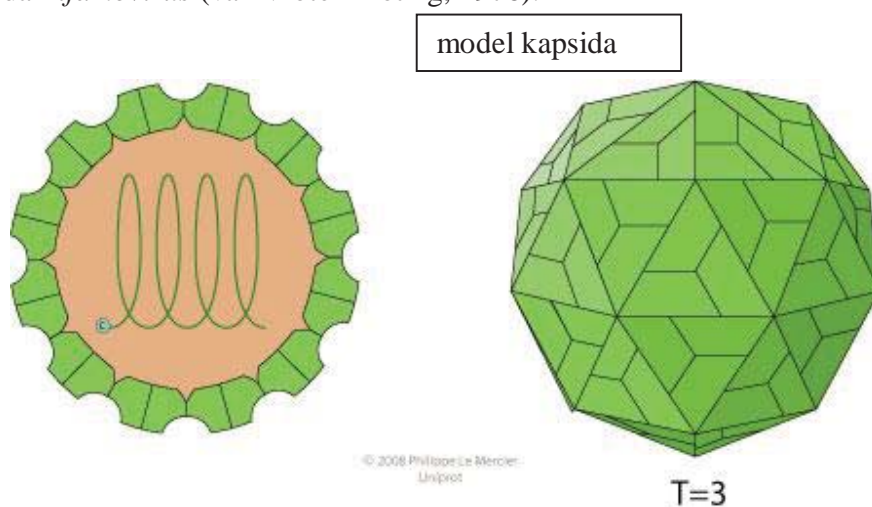
Proteinski omotač najmanjih izometrijskih čestica virusa mozaika lucerke, prečnika 18 nm je sagrađen od 120 proteinskih podjedinica, sakupljenih u 60 dimera, koje formiraju T=1 ikosoedar (Heijntink i Jaspars, 1976). Cilindrični deo baciloidnih čestica ovog virusa je izgrađen na bazi T=1 ikosoedra sa trostrukom osom simetrije i sastoji se od prstenova, koji su sačinjeni od tri heksamere (18 monomera, odnosno proteinskih podjedinica). Broj prstenova, koji formiraju cevasti deo zavisi od dužine cevastog dela čestice virusa (Hull et al., 1969). Zaobljeni ili zaokruženi delovi krajeva baciloidnih čestica virusa mozaika lucerke predstavljaju polovinu T=1 ikosoedra i sagrađeni su od 30 dimera, odnosno 60 proteinskih podjedinica.

Proučavanjem strukturne građe proteinskog omotača virusa je utvrđeno da sve čestice virusa mozaika lucerke imaju identičan hemijski sastav. Proteinski omotač se sastoji od krutog jezgra i fleksibilnog (savitljivog) aminoterminalnog dela od oko 36 ostataka aminokiselina (Kan et al., 1982).

Čestice virusa mozaika lucerke su nestabilne i veoma se lako razgrađuju na protein i RNK virusa, naročito pri visokim koncentracijama soli. Stabilnost da se virusne komponente u virusnoj čestici drže zajedno uslovljena je interakcijom između proteina i RNK virusa.

#### Građa virusa iz roda *Ilarvirus*

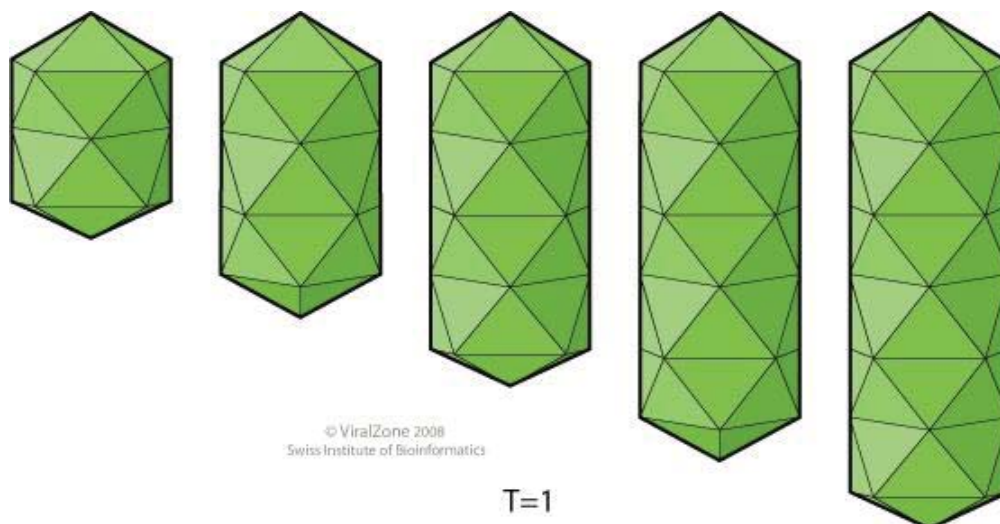
Virusi iz roda *Ilarvirus*, gde spada i virus crtičavosi duvana (*Tobacco streak virus* TSV) imaju neku vrstu izometrijskih čestica, a ponekad se mogu naći i čestice baciloidnog oblika (Slika V.17). Ovi virusi imaju četiri različita tipa čestica, koje se razlikuju po veličini. Virusne čestice ovoga roda imaju u pogledu građe mnoge zajedničke osobine sa grupom virusa iz roda *Alfavirus* (van Vloten-Doting, 1976).



Slika V.17. Šematski prikaz čestica virusa roda *Ilarvirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### Građa virusa iz roda *Ourmiavirus*

Virusi iz roda *Ourmiavirus* imaju baciloidne čestice širine 18 nm i tri različite dužine od 30, 37 i 45,5 nm (Lisa et al., 1988; Slika V.18.). Proteinske podjedinice u vršnom zaobljenom delu virusa, koji je izgrađen u obliku preseka ikosaedra sakupljene su u dimere ili trimere. Cilindrični deo virusa sastavljen je od proteinskih podjedinica raspoređenih u diskontinuirane dvostruke diskove. Cevasti deo čestice može biti izgrađen od dva, tri, četiri ili šest dvostrukih diskova. Čestice sa 4 ili 6 dvostrukih diskova su retke.

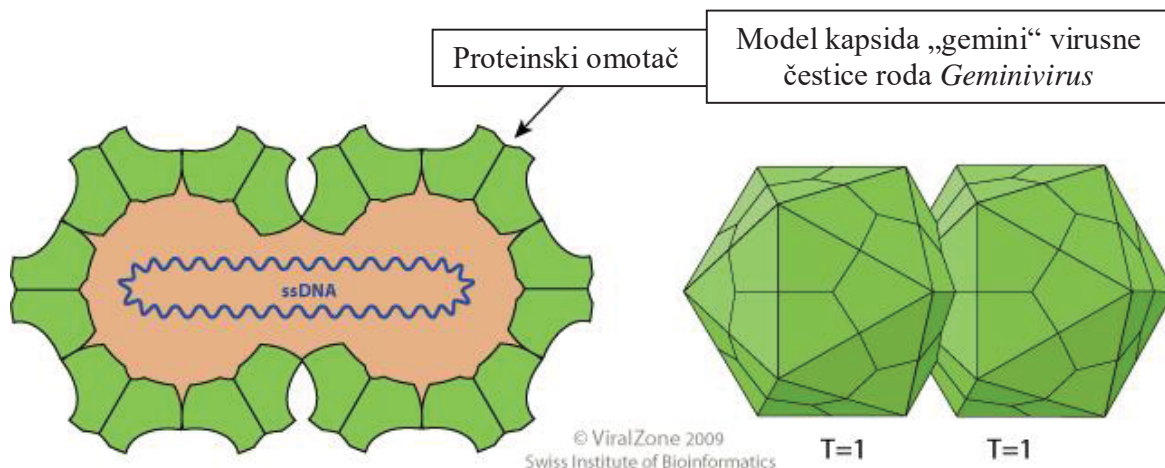


Slika V.18. Šematski prikaz građe čestica virusa roda *Ourmiavirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

**Virusi iz familije *Geminiviridae* sa proteinskim omotačem izgrađenim na bazi triangulacionog broja T=1**

Virusi familije *Geminiviridae* sastoje se od jednospiralne dezoksiribonukleinske kiseline (ss DNK) i proteinskog omotača sačinjenog od jedne vrste polipeptida (proteina). Virusi iz roda *Geminivirus* sagrađeni su u obliku dvostrukih čestica tzv. “gemina” ili čestica blizanaca, čiji je proteinski omotač izgrađen u formi ikosaedra sa T=1 simetrijom (Slika V.19.). Građa ove grupe je detaljno proučena kod virusa hlorotično mozaične prugavosti (*Chlorotic striate mosaic virus* CSMV), pripadnika ovoga roda i o strukturi ovoga virusa izneće se podaci. Tako je utvrđeno da se proteinski omotač jedne čestice izgrađen po modelu ikosaedra sa simetrijom T=1 sastoji od 110 proteinskih podjedinica, odnosno molekula istog polipeptida, čija je molekulska težina 28 kD. Proteinske podjedinice su sakupljene u 22 morfološke jedinice. Jedna polovina virusa (jedna čestica) sadrži jedan molekul ssDNK, molekulske težine  $27,1 \times 10^5$  D. Virus hlorotične mozaične prugavosti sastoji se iz dva dela, tj. iz dva T=1 ikosaedra, koja su međusobno spojena jedan sa drugim, formirajući dvostruku česticu. Mesto spajanja ovih dveju čestica (gemina) se nalazi na kapsidu gde jedna morfološka jedinica nedostaje iz svakog ikosaedra (kapsida čestice) dajući ukupno 22 morfološke jedinice po ikosaedru, odnosno proteinskom omotaču svake virusne čestice (Francki et al., 1980).

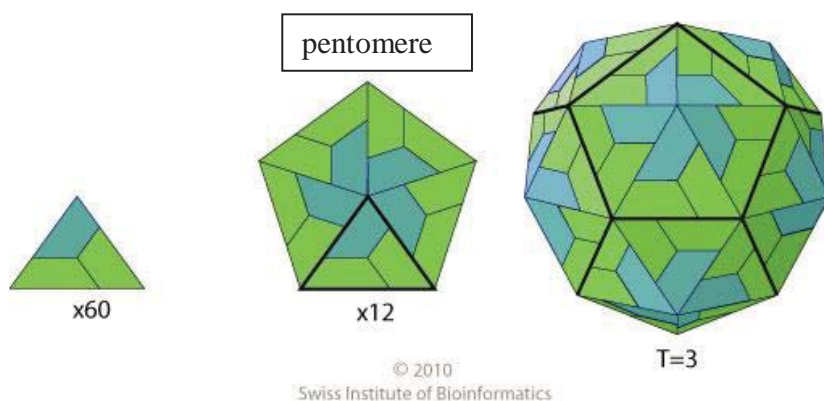




Slika V.19. Šematski prikaz građe čestica virusa familije *Geminiviridae* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### Virusne čestice sa proteinskim omotačem izgrađenim na bazi triangulacionog broja T=3

U ovoj grupi izometrijskih virusnih čestica nalaze se virusi, čiji je proteinski omotač izgrađen po modelu ikosodeltaedra sa triangulacionim brojem T=3 (Slika V.20.). Ikosodeltaedar je geometrijsko telo, čija se površina sastoji od 60 ravnostranih trouglova, odnosno gde je površina svakog osnovnog trougla ikosoedra podeljena na tri manja ravnostrana trougla, pošto je T=3. Kapsid je sagrađen od 180 (60 x 3) proteinskih podjedinica. Proteinske podjedinice su obliku banane, sakupljene u morfološke jedinice pentomere i heksomere. U ovu grupu spadaju virusi iz rodova *Tymovirus*, *Bromovirus* i *Cucumovirus*. Istu strukturnu građu proteinskog omotača u obliku ikosodeltaedra imaju i virusi iz rodova *Sobemovirus* i *Tombusvirus*. Međutim, virusi iz ovih rodova imaju proteinske podjedinice klinastog oblika, β buretaste strukture, sakupljene u 90 dimera.

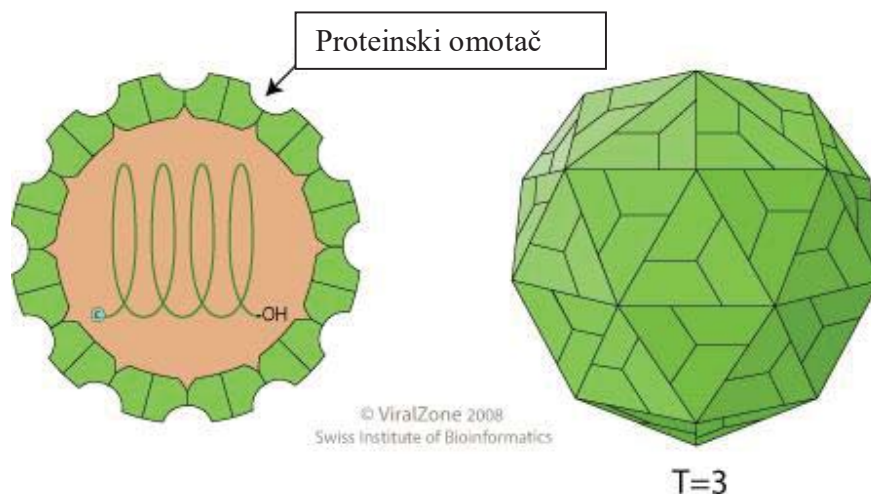


Slika V.20. Građa kapsyda virusne čestice sa triangulacionim brojem T=3 (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### Građa virusa iz roda *Tymovirus*

Najdetaljnije proučena građa virusa iz ove strukturne grupe je kod virusa žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus TYMV*) iz roda *Tymovirus*. Kapsid je

obliku ikosodeltaedra, sagrađen od 60 ravnostranih trouglova na bazi  $T=3$  simetrije (Slika V.21.). Svaki trougao sastoji se od tri gradivne ili proteinske podjedinice, a kapsid od ukupno 180. One su agregirane u 12 pentomera i 20 heksomera, odnosno u 32 morfološke jedinice i sakupljene su u temenima ikosodeltaedra. Prečnik čestice je oko 30 nm. Kapsid se sastoji od jedne vrste polipeptida, kojeg sačinjavaju 189 aminokiselina. U unutrašnjosti ili jezgri virusne čestice smeštena je jednospiralna ribonukleinska kiselina (ssRNK) u vidu sabijene spirale. Ona se sastoji od 6318 nukleotida. Prema nekim istraživanjima utvrđeno je da bi oko 60-70% RNK virusa moglo biti bazno-sparenog oblika. Proučavanja Klug et al. (1966) i Finch-a i Klug-a (1966) su pokazala da se na površini proteinskog omotača virusne čestice nalazi 180 rasutih mesta udaljenih 145 Å od centra čestice. To su završeci proteinskih podjedinica. Na kapsidu su uočena i 32 rasuta mesta u obliku ispupčenja na površini omotača, koja su oko 125 Å udaljena od centra čestice (Huxley i Zubay, 1960; Nixon i Gibbs, 1960). Ova mesta predstavljaju morfološke jedinice, odnosno pentomere i heksomere, proteinske agregate, koji izbijaju na površinu kapsida, formirajući udubljenja i ispupčenja na njegovoj površini. Proteinske podjedinice su u obliku približnom banani, sagrađene od jedne molekule polipeptida. Polipeptidni lanac sačinjen je od 9%  $\alpha$  spirala i 43%  $\beta$  spirala ili  $\beta$  ploča. Oko 48% polipeptidnog lanca ima nepravilan sklop (Hartman et al., 1978). Polipeptidni lanac formira jednu antiparalelnu osmospiralnu  $\beta$  ploču ili „sendvič“, odnosno tzv.  $\beta$  buretastu strukturu (Canady et al., 1996). Navojci RNK virusa žutog mozaika postrne repe su tesno povezani sa svakom od 32 morfološke jedinice (Finch i Klug, 1966). Međutim, elektromikroskopski snimci pokazuju da je prodiranje virusne RNK u proteinski omotač, odnosno proteinske podjedinice vrlo malo. Utvrđeno je, takođe, da su proteinske podjedinice međusobno gusto zbijene i da je veza između heksomera mnogo jača, odnosno da su ove morfološke jedinice mnogo čvršće povezane, nego pentomere, a da su veze heksomera sa heksomerom čvršće nego veza pentomera-heksomera.



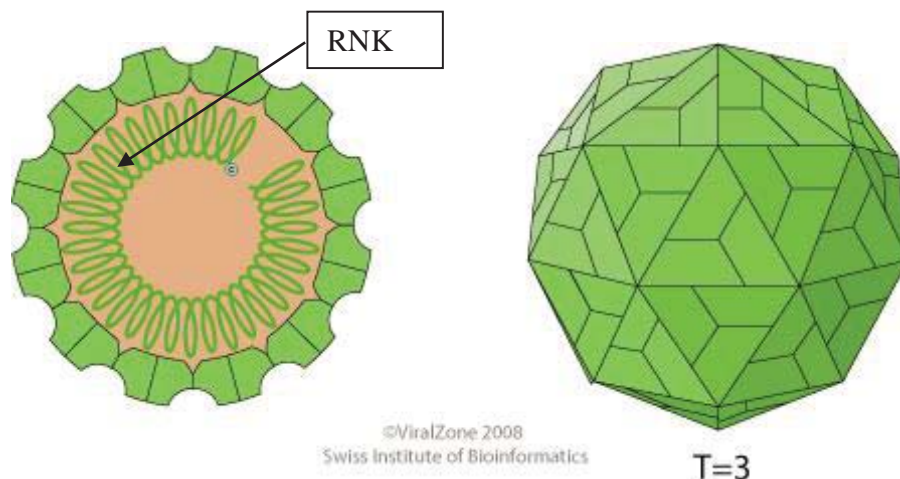
Slika V.21. Šematski prikaz građe čestice virusa roda *Tymovirus* sa triangulacionim brojem  $T=3$  (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

U prečišćenim preparatima virusa žutog mozaika postrne repe uočeno je da je od jedne trećine do jedne petine čestica ovog virusa prazno, odnosno da se u šupljini čestice ne nalazi RNK virusa. Ove čestice bez RNK su poznate kao T čestice ili vršna komponenta, pošto se sporije talože u suspenziji, nego B čestice ili donja komponenta, koja sadrži RNK. T

čestice su po spoljnoj građi identične građi B čestica. Međutim, samo potpune virusne čestice sa RNK su infektivne. Stabilnost strukturne građe T čestica ukazuje da je stabilnost virusa uslovljena, mnogo više, jakim vezama, odnosno interakcijama između proteinskih podjedinica, nego međudejstvima između proteina i RNK virusa. Kasnije je utvrđeno da se u tzv. praznim T česticama nalaze male molekule subgenomske RNK sa genom, koji kodira sintezu proteina kapsida virusa.

#### Građa virusa iz roda *Bromovirus*

Virusi iz roda *Bromovirus* imaju sličnu strukturnu građu, kao i oni iz roda *Tymovirus* (Slika V.22.) u odnosu na grupisanje proteinskih podjedinica u kapsidu, kao i raspored virusnih RNK i proteinskih podjedinica u virusnoj čestici. Prečnici virusa ovoga roda su između 25 i 28 nm. Proteinski omotač je izgrađen od 180 proteinskih podjedinica molekulske težine 19,4 kD po podjedinici. One su raspoređene u proteinskom omotaču sa T=3 simetrijom u obliku ikosodeltaedra. Virusna RNK sastoji se iz tri fragmenta: RNK<sub>1</sub>, RNK<sub>2</sub> i RNK<sub>3</sub>, koji su odvojeni i nalaze se u posebnim česticama sa identičnom građom kapsida. Subgenomska RNK, koja kodira stvaranje proteina kapsida nalazi se zajedno sa RNK<sub>3</sub> u istoj čestici.

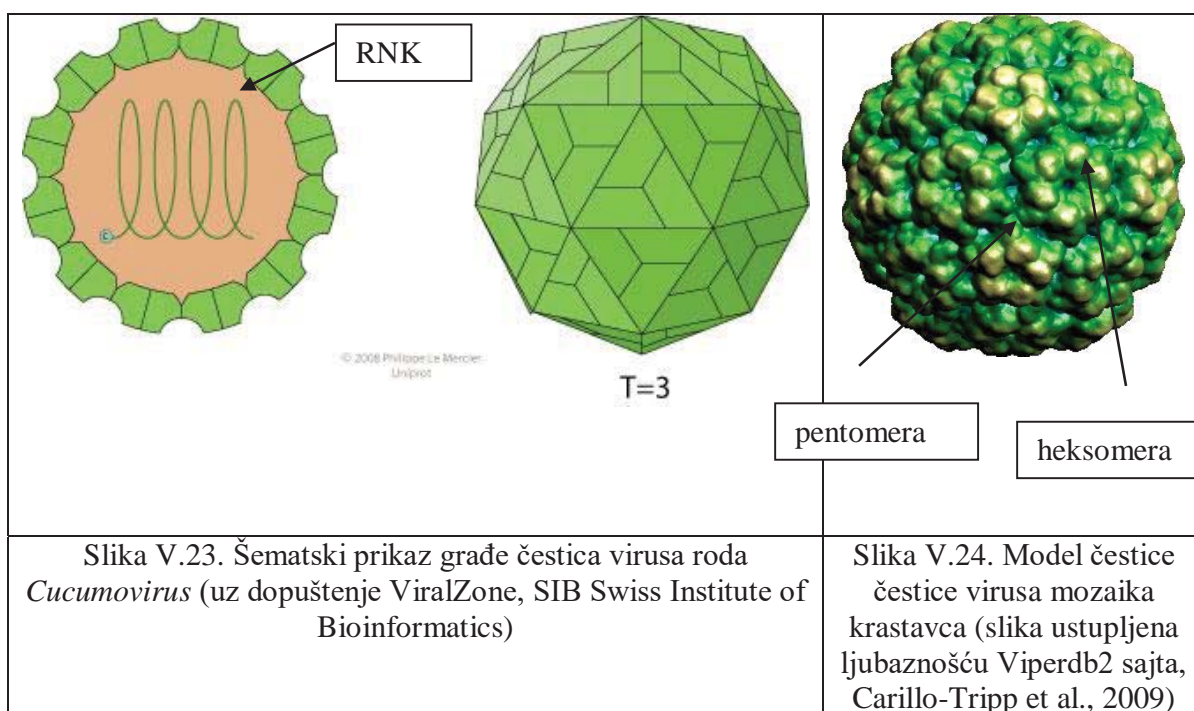


Slika V.22. Šematski prikaz građe čestica virusa roda *Bromovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Stabilnost virusnih čestica virusa ovoga roda je znatno manja u odnosu na viruse iz roda *Tymovirus*. Proučavanjem strukturne građe virusa mozaika ovsika (*Brome mosaic virus*, BMV) utvrđena su dva katjonska vezna mesta po proteinskoj podjedinici, koja imaju ulogu u njihovom povezivanju. Smatra se, takođe, da obe karboksilne grupe proteina i fosfati RNK učestvuju u povezivanju proteina kapsida i virusne RNK (Pfeiffer i Durham, 1977). Polipeptidni lanci podjedinica proteinskog omotača su uređeni u obliku  $\beta$  buretastih tvorevina sa C-terminalnim regionima susednih podjedinica, koji su isprepletani, odnosno utkani između jedne i druge susedne proteinske podjedinice, što uslovljava određenu stabilnost omotača kod virusa hlorotičnog šarenila stočnog graška (*Cowpea chlorotic mottle virus*, CCMV), pripadnika ovoga roda (Speir et al., 1993. i 1995).

### Građa virusa iz roda *Cucumovirus*

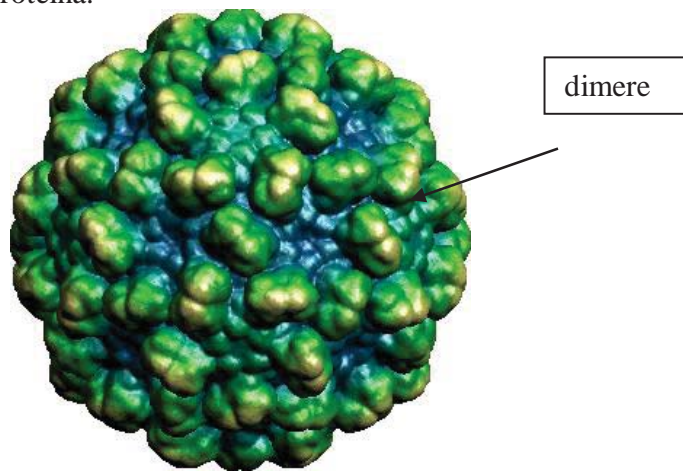
Virusi iz roda *Cucumovirus* imaju čestice prečnika 30 nm i sadrže 4 vrste RNK smeštene u tri odvojene identične čestice. Raspored i grupisanje proteinskih podjedinica i ribonukleinskih kiselina su isti kao i kod virusa iz roda *Bromovirus*. Tako je virus mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV), predstavnik roda *Cucumovirus* veoma sličan po površinskoj strukturi omotača virusima roda *Bromovirus* (Finch et al., 1967; Slika V.23. i 24). Struktura virusa mozaika krastavca je veoma slična građi virusa hlorotičnog šarenila stočnog graška, kako po morfologiji kapsida čestica, po veličini i  $\beta$  buretastoj strukturi, tako i po sličnosti stabilizirajućih faktora, u vidu interakcije između proteinskih podjedinica sakupljenih u heksomere (Wikoff et al., 1997). Međutim, čestice virusa mozaika krastavca znatno su nestabilnije u odnosu na one kod virusa roda *Bromovirus*.



### Građa virusa iz roda *Tombusvirus*

Proteinski omotač čestice virusa iz roda *Tombusvirus* je sagrađen od 180 proteinskih podjedinica sakupljenih u dimere molekulske težine od 38-43 kD. Kapsid ima oblik ikosodetraedra sa T=3 simetrijom (Slika V.25.). Virus sadrži samo jednu vrstu genomske RNK. Prečnik čestica je 30 nm. Među virusima pripadnicima roda *Tombusvirus* najdetaljnije je proučena građa virusa žbunaste kržljivosti paradajza (*Tomato bushy stunt virus*, TBSV). Prema podacima dobijenim na osnovu istraživanja Harrison et al. (1978) i Olson et al. (1983) utvrđeno je da je proteinski omotač virusa žbunaste kržljivosti paradajza sagrađen od 180 proteinskih podjedinica molekulske težine 43 kD. One formiraju kapsid u obliku ikosodetraedra sa T=3 simetrijom sa istaknutim dimerama skupljenim na spoljnoj površini proteinskog omotača. Ovi agregati, tj morfološke jedinice-dimere pružaju se, odnosno štrče na površini kapsida do poluprečnika od oko 17 nm. Proteinske podjedinice imaju  $\beta$  buretastu strukturu i više ili manje su klinastog oblika. One se sastoje od dva odvojena loptasta dela S i P domena, koja su spojena pomoću savitljivog dela u obliku šarke tzv. R domena. Domen R je sačinjen od pet aminokiselina. Svaki P domen formira jednu polovinu dimere, koja

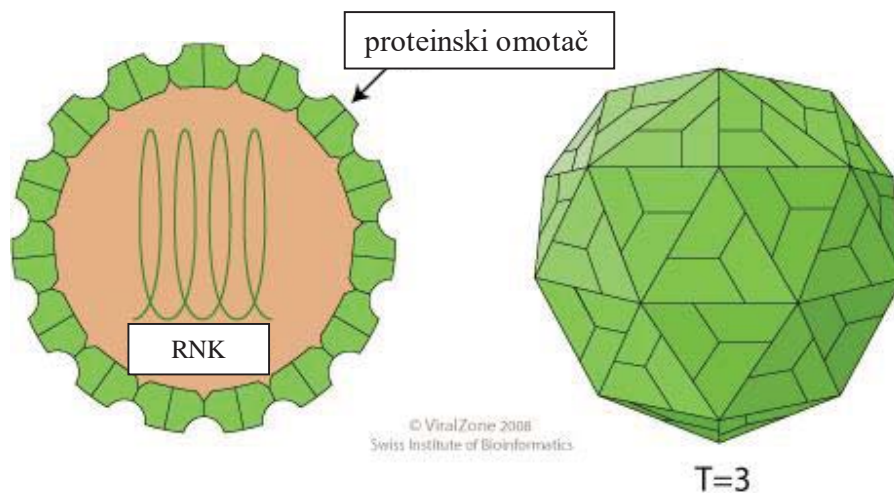
obrazuje ispupčenje na površini kapsida virusne čestice. Tako se na površini kapsida nalazi 90 grupa dimera u vidu ispupčenja, formiranih od parova P domena. Svaki P domen zauzima oko jedne trećine površine trouglova, od kojih je sastavljen ikosodeltaedar. S domen formira deo ikosodeltoidnog proteinskog omotača, debljine oko 3 nm. S domeni kod ovog virusa su opkoljeni petostrukim ili šestosrukim temenima ikosodeltaedra. S domen je sagrađen od osmospiralne antiparalelne  $\beta$  buretaste strukture ili  $\beta$  ploče. RNK virusa je čvrsto složena ili upakovana unutar virusne čestice. Između virusne RNK i N-terminalnih krakova polipeptidnog lanca, koji potiču iz susjednih dimera postoji verovatno određena interakcija. Virusne čestice virusa žbunaste kržljivosti paradajza su nestabilne i lako se razlažu na protein i virusnu RNK. Smatra se da su ove komponente u čestici povezane pomoću interakcije virusne RNK i proteina.



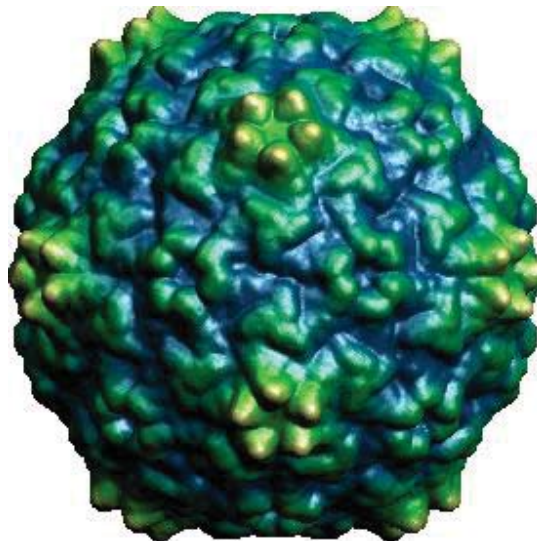
Slika V.25. Model virusa roda *Tombusvirus*, vrste virus žbunaste kržljivosti paradajza (*Tomato bushy stunt virus -TBSV*) (slika ustupljena ljubaznošću Viperdb2 sajta, Carillo-Tripp et al., 2009)

#### Građa virusa iz roda *Sobemovirus*

Virusi iz roda *Sobemovirus* imaju prečnik od oko 30 nm. Proteinski omotač sačinjava 180 proteinskih podjedinica molekulske težine od 30 kD. Unutar virusne čestice, opkoljena kapsidom nalazi se jedna vrsta virusne RNK (Slika V.26 i 27.). Raspored u omotaču i agregiranje proteinskih podjedinica virusa ovoga roda je sličan, kao kod virusa iz roda *Tombusvirus*. Proteinske jedinice su sakupljene u dimere sa S domenom sličnim po obliku i strukturi onom, kao kod virusa žbunaste kržljivosti paradajza. Međutim, proteinske podjedinice virusa roda *Sobemovirus* nemaju P domen, što prouzrokuje da je spoljna površina kapsida čestica virusa ovoga roda glatka, odnosno ravna.



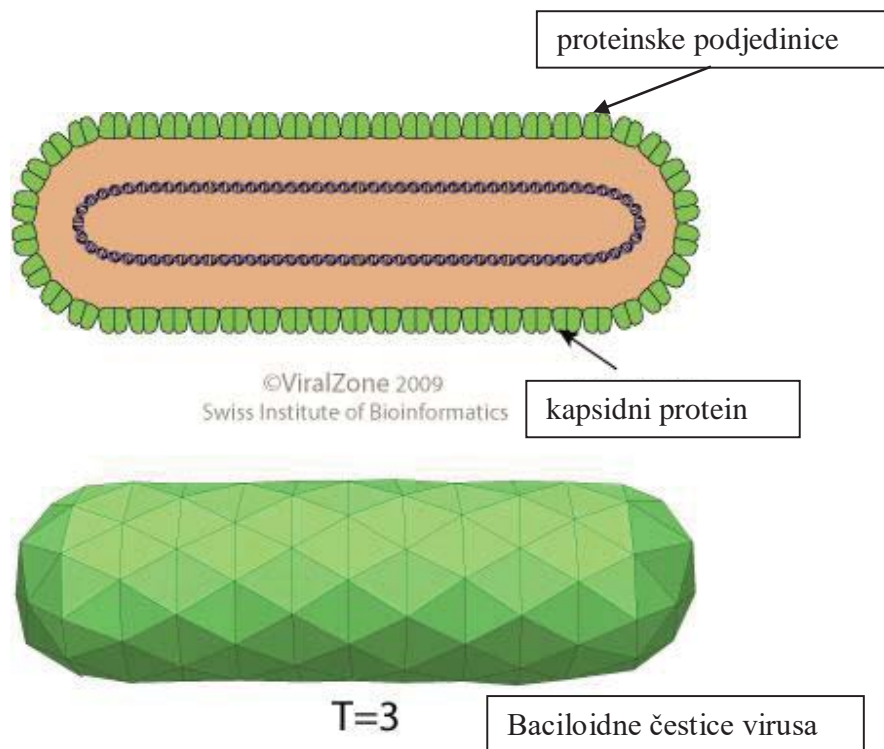
Slika V.26. Šematski prikaz građe čestice virusa roda *Sobemovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)



Slika V.27. Model virusa roda *Sobemovirus*, virusa južnog mozaika pasulja (*Southern bean mosaic virus –SBMV*) (slika ustupljena ljubaznošću Viperdb2 sajta, Carillo-Tripp et al., 2009)

### **Baciloidne virusne čestice sa proteinskim omotačem izgrađenim na bazi triangulacionog broja T=3**

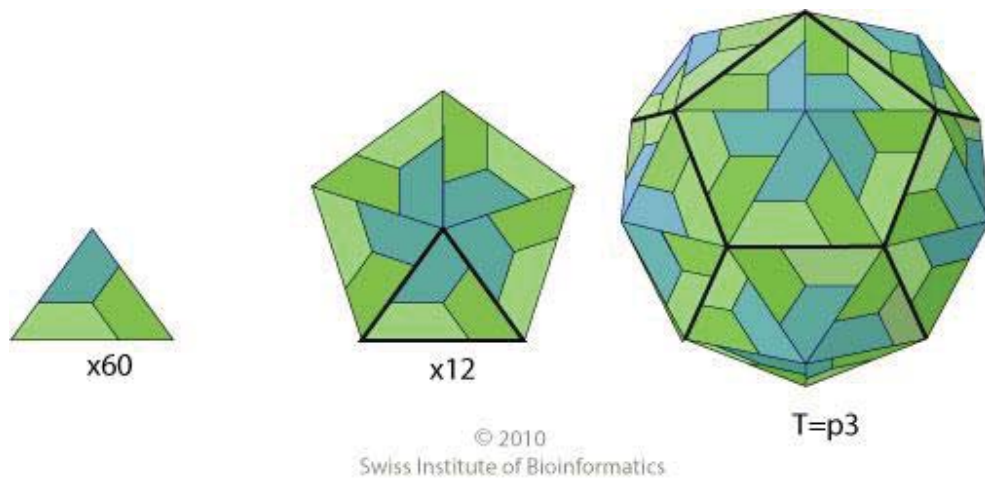
U viruse sa ovim tipom strukturne građe spada baciloidni „tungro“ virus pirinča (*Rice tungro bacilloform virus*, RTBV). Ovaj virus ima baciloidne čestice dimenzija 130 nm dužine i 30 nm širine (Slika V.28.). Na osnovu veličine proteinskog omotača i prečnika čestice smatra se da je kapsid ovog virusa sagrađen u obliku poliedra na bazi T=3 simetrije (Hull, 1996). Veličina proteinske podjedinice mogla bi da iznosi oko 100 Å ili 10 nm. One su raspoređene u T=3 simetriji u proteinskom omotaču virusa.



Slika V.28. Šematski prikaz građe čestica tungro virusa pirinča (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

**Virusne čestice sa proteinskim omotačem izgrađenim na bazi „pseudo“ triangulacionog broja T=3 (pseudo T=3 simetrije)**

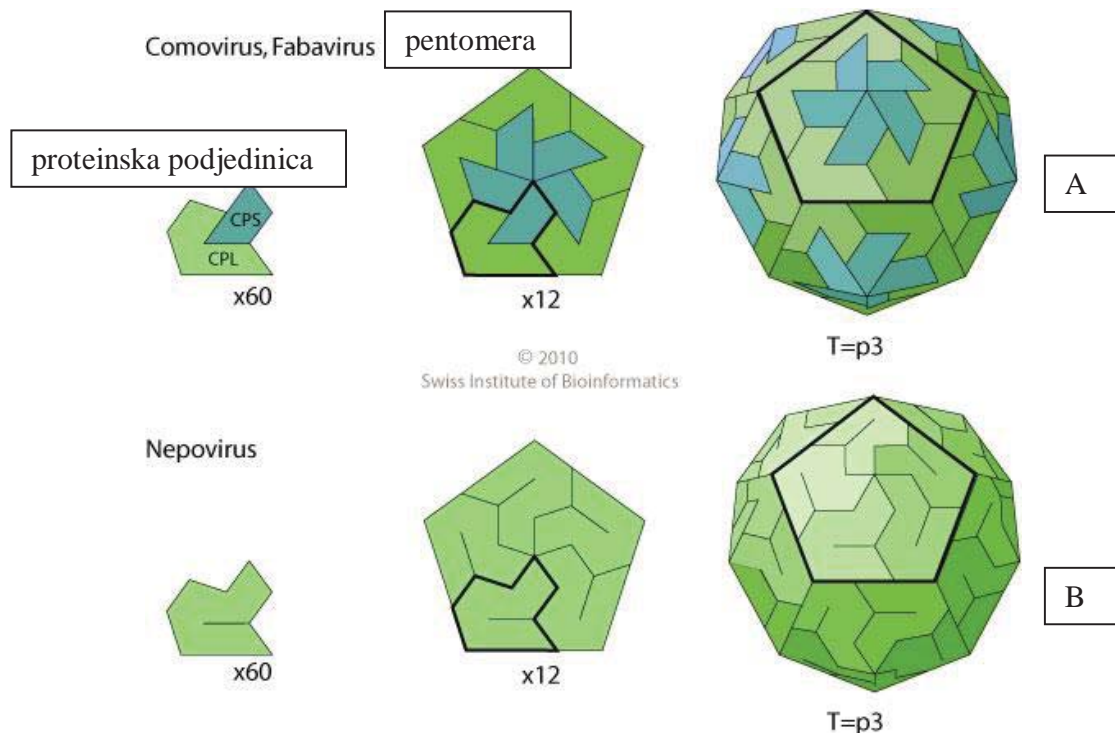
Virusi roda *Comovirus*, kao i slični virusi iz rodova *Nepovirus*, *Fabavirus* i *Sequivirus* su izometrijski virusi, čiji je proteinski omotač sagrađen na osnovu „pseudo“ T=3 simetrije (Slika V.29. i 30). Oni su slični virusima iz roda *Picornavirus*, animalnih parazita. Kapsid virusa, gore pomenutih rodova obrazuje se od jedne, dve ili tri vrste proteina, koji se razlikuju po hemijskom sastavu. Svaki protein, odnosno pojedinačni protein u sastavu kapsida, formira se u obliku poliedra sa T=1 simetrijom. Međutim, veliki molekuli polipeptida, koji obrazuju kapsid ovih virusa sačinjeni od jedne ili dve vrste proteina formiraju se tako da daju pseudomolekule, čija struktura može da se smatra da je sačinjena ustvari od tri vrste proteina, koji grade kapsid u vidu „pseudo“ T=3 simetrije.



Slika V.29. Građa kapsida virusa rodova *Comovirus*, *Nepovirus*, *Fabavirus* i *Sequivirus* sa pseudo T=3 simetrijom omotača (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Građa virusa iz roda *Comovirus*

Građa virusa mozaika stočnog graška (*Cowpea mosaic virus*, CPMV), predstavnika roda *Comovirus* je detaljno proučena i o strukturi ovog virusa izneće se više podataka. Virus je prečnika oko 28 nm.



Slika V.30. Građa kapsida virusa iz rodova *Comovirus*, *Fabavirus* i *Nepovirus* (A) i roda *Nepovirus* (B) sa pseudo T=3 simetrijom omotača (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

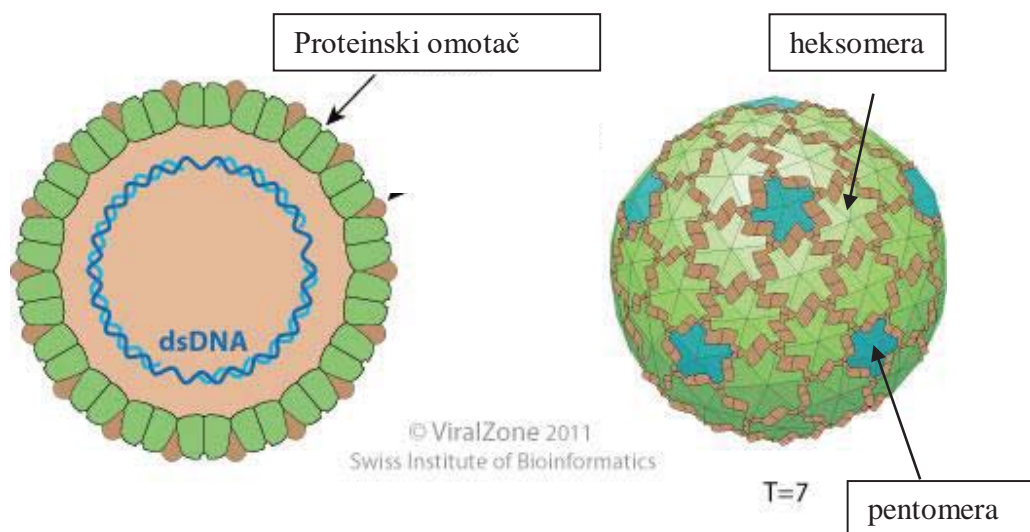


Kapsid je sastavljen od dve vrste proteina, velikog sa molekulskom težinom od 42 kD, i malog sa molekulskom težinom od 22 kD po proteinskoj podjedinici. Ovi proteini se razlikuju i po aminokiselinskom sastavu (Wu i Bruening, 1971). Centrifugiranjem prečišćenih preparata virusa mogu se izdvojiti tri vrste čestica virusa mozaika stočnog graška i to: B (donja) komponenta, koja sadrži čestice sa većim fragmentom virusne RNK (veća molekulska težina), M (srednja) komponenta sa česticama sa manjim fragmentom RNK i T (vršna) komponenta sa praznim česticama bez virusne RNK. Sve tri vrste čestica imaju identičan kapsid. Na osnovu veličine proteina i veličine kapsida izračunato je da svaki protein, koji gradi proteinski omotač je sačinjen od 60 proteinskih podjedinica, tj da je ceo kapsid, sastavljen od dva proteina, izgrađen od ukupno 120 proteinskih podjedinica (Geelen et al., 1972). Kasnije su Crowther et al. (1974) utvrdili model grupisanja proteinskih podjedinica u kapsidu. Oni smatraju da je 60 proteinskih podjedinica obrazovanih od većeg proteina sakupljeno na 12 mesta (položaja) na kapsidu u obliku pentomera, a 60 proteinskih podjedinica formiranih od malog proteina je agregirano u 20 grupa (mesta) na kapsidu u obliku trimera. Gledajući pojedinačno svaku grupu proteinskih podjedinica jasno je da one grade deo kapsida u T=1 ikosoedarnoj strukturi. Međutim, činjenica da postoje dve vrste proteina, koji sačinjavaju proteinski omotač virusa u uslovima različitog grupisanja (agregiranja) proteinskih podjedinica formira se kapsid sličan T=3 simetriji sa tzv. „pseudo“ T=3 simetrijom. Proteinske podjedinice, bez obzira na vrstu proteina (veliki ili mali), koje formiraju kapsid imaju sličnu gradivnu strukturu. Naime, one su izgrađene od tri posebne  $\beta$  buretaste strukture, odnosno sfere, koje su kovalentno vezane (Lin et al., 1999).

### **Virusne čestice sa proteinskim omotačem, izgrađenim na bazi triangulacionog broja T=7**

Grada virusa iz roda *Caulimovirus*

Virus mozaika karfiola (*Cauliflower mosaic virus*-CaMV) iz roda *Caulimovirus* je izometrijski virus sa proteinskim omotačem sagrađenim u obliku poliedra sa T=7 simetrijom (Slika V.31.). Prečnik virusnih čestica je oko 50 nm. Virus mozaika karfiola je jedan od malog broja biljnih virusa, koji sadrži dvospiralnu dezoksiribonukleinsku kiselinu (ds DNK). Kružno obrazovana ds DNK je smeštena u prilično velikoj šupljini virusne čestice poluprečnika 25 nm (Chauvin et al., 1979; Kruse et al., 1987). Ona je okružena proteinskim omotačem, koji se sastoji od tri koncentrična sloja sastavljena od proteinskih podjedinica, različitog hemijskog sastava i molekulske težine od 58, 37 i 42 kD. Proteinske podjedinice molekulske težine od 58 kD sačinjavaju unutrašnji sloj kapsida. Spoljni sloj proteinskog omotača je gladak sa neizraženim strukturnim oblicima. Ovaj sloj izgrađen je od 12 pentomera i 60 heksomera, raspoređenih na osnovu T=7 simetrije. Izračunavanjem molekulske težine proteinskog omotača i količine proteina virusa mozaika karfiola utvrđeno je da kapsid virusa ima T=7 poliedarnu simetriju (Kruse et al., 1987). Ovaj tip strukturne građe kapsida sa T=7 simetrijom je prvi takav oblik kod virusa.



Slika V.31. Šematski prikaz građe čestice virusa roda *Caulimovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Građa kompleksnih virusnih čestica*

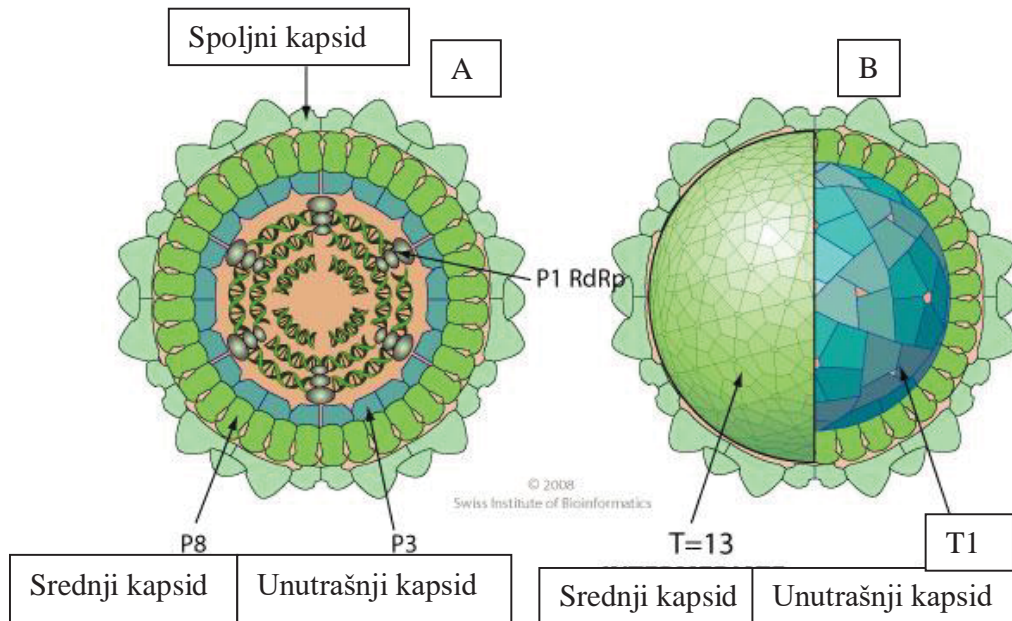
Grupa kompleksnih virusnih čestica obuhvata viruse iz rodova *Phytoreovirus*, *Fijivirus* i *Oryzavirus*. To su virusi, koji u svom sastavu sadrže dvospiralnu ribonukleinsku kiselinu (ds RNK) smeštenu u jednoj virusnoj čestici. Proteinski omotač virusa je složen i sastoji se iz dva dela: spoljnog dela kapsida i unutrašnjeg ili jezgra, kod virusa iz rodova *Phytoreovirus* i *Fijivirus*, a virusi iz roda *Oryzavirus* imaju kapsid sagrađen samo od jednog dela-jezgra. Kapsid je sačinjen od nekoliko vrsta proteina.

#### Građa virusa iz roda *Phytoreovirus*

Virusi iz roda *Phytoreovirus* imaju uglaste čestice prečnika oko 65-70 nm, koje sadrže 12 fragmenata dsRNK (Slika V.32.). Najpoznatiji virusi, pripadnici ovoga roda su virusi tumoralnih rana (*Wound tumor virus*, WTV). Ovi virusi imaju dvodelni proteinski omotač, kojeg sačinjava sedam vrsta proteina (Reddy i MacLeod, 1976).

Građa virusa kržljavosti pirinča iz ovoga roda je detaljno proučena, te će se o strukturi ovoga virusa izneti više podataka. Dvospiralna RNK je smeštena unutar šupljine virusne čestice sa poluprečnikom od 23nm. Šupljinu gradi unutrašnji kapsid, jezgro, čiji su zidovi udaljeni 23-26 nm od centra čestice (Inoue i Timmins, 1985). Dvospiralna RNK se sastoji od 12 fragmenata, koji su umotani i smešteni unutar jezgra u obliku dobro savijene strukture (Mizuno et al., 1986). Istraživanjima strukture ovoga virusa je otkriveno da postoje dva odvojena poliedarna kapsida i to: spoljni kapsid izgrađen u T=13 simetriji, prečnika oko 70 nm, sagrađen od 260 grupa morfoloških jedinica u obliku trimera i unutrašnji kapsid ili jezgro u obliku ikosoedra sa T=1 simetrijom, prečnika 56,7 nm sastavljen od 60 morfoloških jedinica, skupljenih u dimere. Spoljni kapsid sačinjava protein P2, molekulske težine 46 kD, a unutrašnji deo jezgro protein P3, molekulske težine 114 kD (Lu et al., 1998). Između spoljnog kapsida i unutrašnjeg kapsida nalazi se tzv. središnji kapsid ili međukapsid sačinjen od proteina P8. Za kapsid je vezan i protein RNK zavisna polimeraza RdRp-P1 (Slika V. 32). Spoljni kapsid je uvijen, odnosno zakrivljen u pravcu s leva u desno (zavijanje ulevo). Jezgro izgrađeno na bazi T=1 simetrije ima presudnu ulogu u organizaciji približno jednakog,

takozvanog kvazi-ekvivalentnog spoljnog omotača virusa sa T=13 simetrijom (Wu et al., 2000).

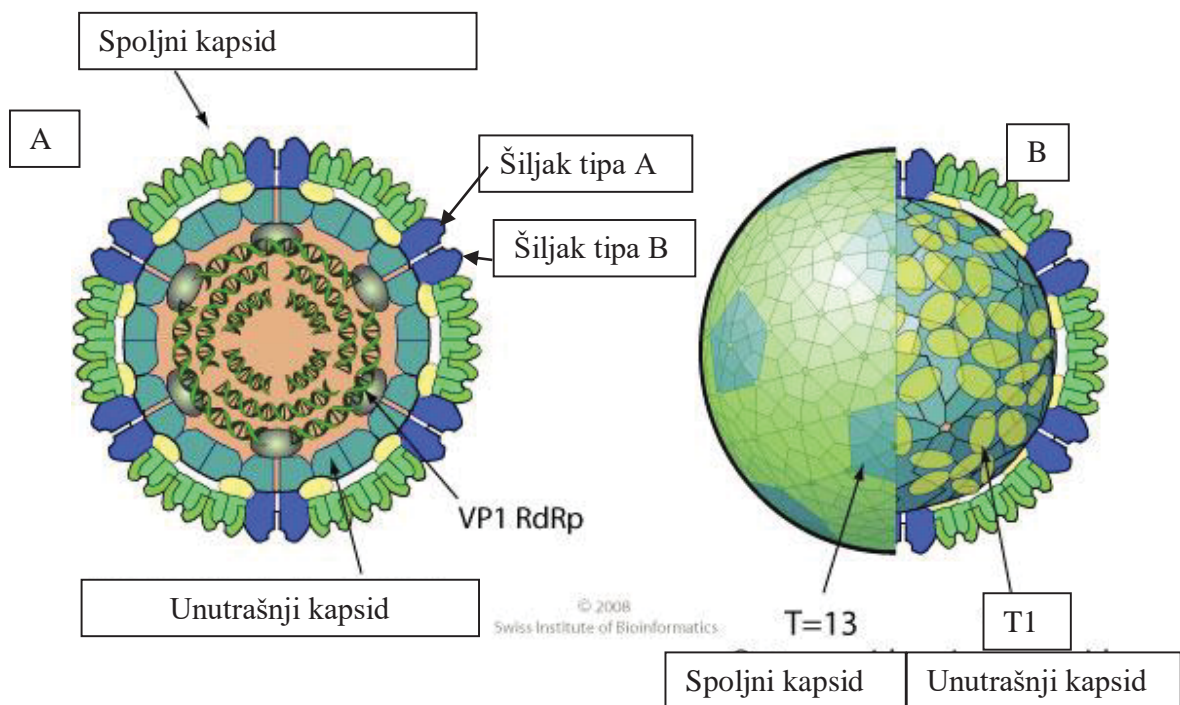


Slika V.32. Šematski prikaz građe čestice virusa roda *Phytoreovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### Građa virusa iz roda *Fijivirus*

U ovaj rod spadaju izometrijski virusi sa dvospiralnom ribonukleinskom kiselinom (ds RnK), sačinjenom od 10 fragmenata, koji su smešteni u jednoj virusnoj čestici (Slika V.33.). Prečnici virusa ovoga roda se kreću od 65-70 nm. Virusi iz roda *Fijivirus* imaju sličnu strukturnu građu, kao i virusi iz roda *Phytoreovirus*, pošto takođe formiraju dvostruke kapside. Razlika između virusa ova dva roda je pored broja fragmenata od kojih je sačinjena ds RnK i u tome što virusi iz roda *Fijivirus* imaju šiljke (bodlje), kako na površini spoljnog, tako i unutrašnjeg kapsida.

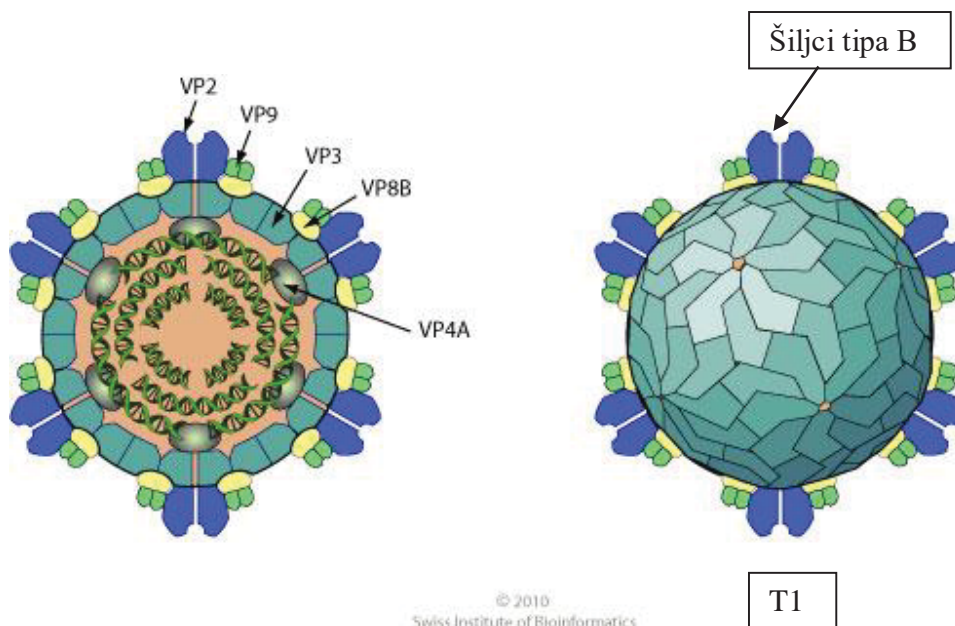
Virus hrapave patuljivosti kukuruza (*Maize rough dwarf virus*, MRDV) je jedan od virusa, pripadnika ovoga roda, gde je struktura detaljno proučena. Istraživanja strukturne građe virusa su pokazala da se na površini spoljnog kapsida nalazi 12 šiljkova, nazvanih A tip šiljka, čija je dužina 11 nm iznad površine. Ispod bodlji A tipa nalaze se izraštaji na površini unutrašnjeg kapsida, tzv. bodlje tipa B, koje su sagrađene od pet morfoloških jedinica. Bodlje ili šiljci tipa B su dugi 8 nm i okružuju centralni otvor virusne čestice (Milne i Lovisolo, 1977; Milne et al., 1973). Proteiski omotač virusa sastavljen je od različitih tipova proteina.



Slika V.33. Šematski prikaz građe čestica virusa roda *Fijivirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### Građa virusa iz roda *Oryzavirus*

Virusi pripadnici roda *Oryzavirus* imaju čestice prečnika između 57 i 65 nm (Slika V.34.). U šupljini virusne čestice smeštena je dsRNK, koja se sastoji od 10 fragmenata. Struktura virusnih čestica iz ovoga roda značajno se razlikuje od čestica predhodna dva roda, pošto virusi iz roda *Oryzavirus* nemaju spoljašnji omotač, već formiraju samo unutrašnji kapsid ili jezgro. Na površini jezgra nalazi se 12 bodlji, odnosno šiljkova tipa B. Oni su pri osnovi široki 23-26 nm, a pri vrhu šiljka 14-17 nm.



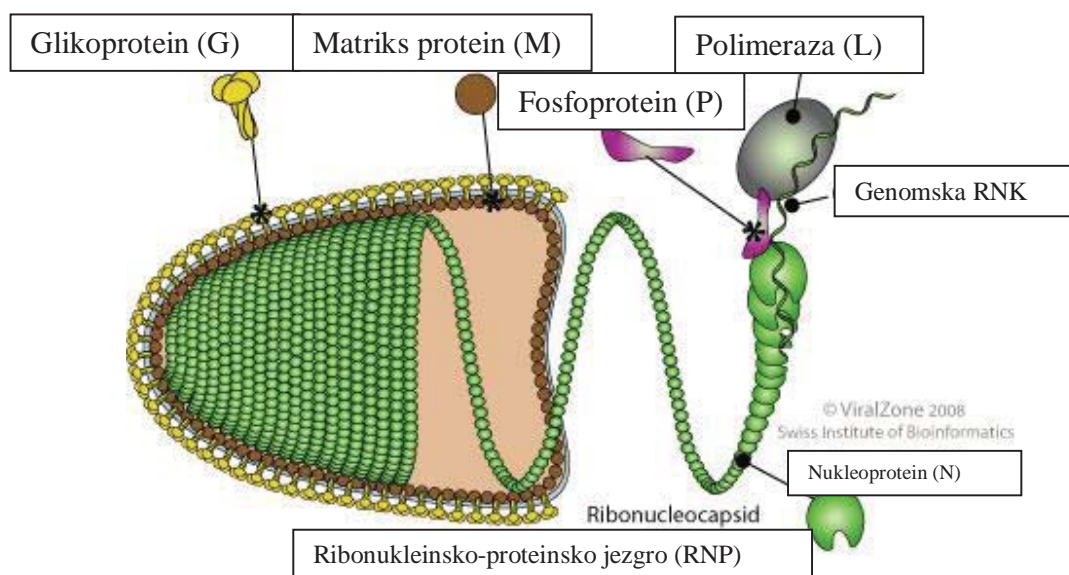
Slika V.34. Šematski prikaz građe čestica virusa roda *Oryzavirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Građa virusnih čestica sa ovojnicom (membranom) oko proteinskog omotača

Virusi iz porodica *Rhabdoviridae* i *Bunyaviridae* imaju veoma kompleksnu strukturu, te njihova detaljna građa ostaje da se još tačno utvrdi.

Građa virusa iz porodice *Rhabdoviridae*

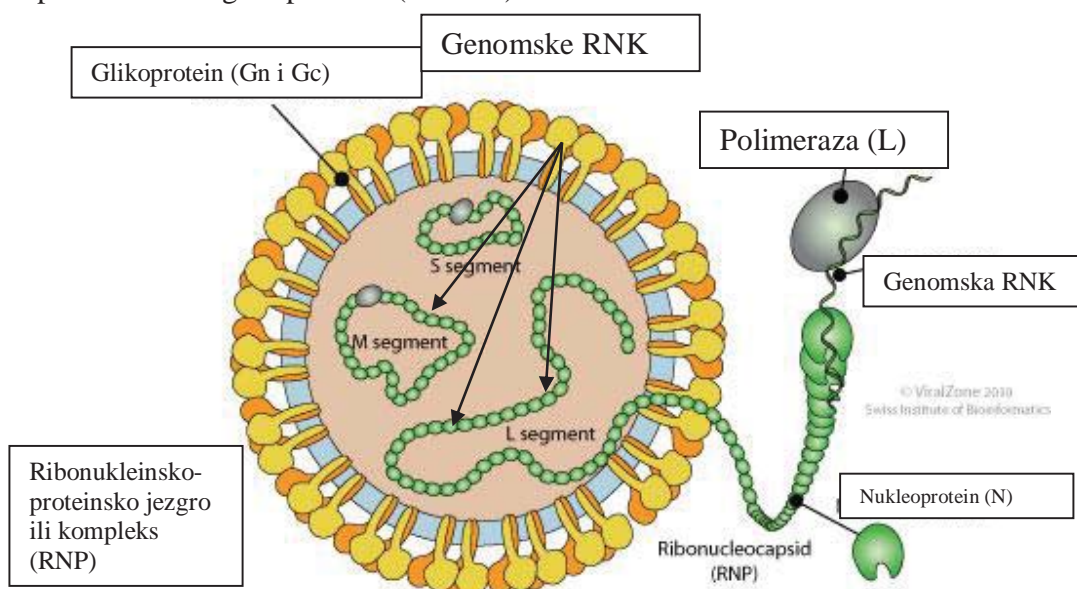
Virusi iz porodice *Rhabdoviridae* parazitiraju veoma različite organizme, kao što su kičmenjaci, beskičmenjaci i biljke. Neki virusi ove porodice, paraziti životinja mogu biti u obliku metka, dok najveći broj vrsta virusa ovoga roda, patogena biljaka ima čestice sa zaobljenim krajevima, odnosno baciloidni oblik (Slika V.35.). Jedan od virusa iz ovoga roda je i virus žute kržljivosti krompira (*Yellow dwarf potato virus*, YDPV), čija je građa detaljnije proučena. Proteinski omotač virusnih čestica iz familije *Rhabdoviridae* sastavljen je od tri vrste proteina, različitog hemijskog sastava, koji grade tri membrane ili lamele. Prvi N-protein je čvrsto povezan sa ribonukleinskom kiselinom, koja se nalazi u centralnoj šupljini virusa, formirajući, tzv. ribonukleinskoproteinsko jezgro (RNP). Ribonukleinsko-proteinsko jezgro je u obliku izbrazdane trake, koja je uređena na spiralan način, tj. zauzima spiralan oblik (Hull, 1976). Susedna membrana sadrži dve vrste proteina „matrix“ ili M-protein, koji je agregiran heksagonalno i G-protein (glukoprotein), koji na površini omotača, obrazuje izbočine, odnosno izraštaje (Ziemiecki i Peters, 1976). Smatra se da je raspored proteina M i G zasnovan po obliku poluikosoedra na bazi T=1 simetrije na zaobljenim krajevima čestica, kao što je opisano i kod drugih baciloidnih virusnih čestica. Oko spoljne površine kapsida virusa nalazi se lipidna ovojnica ili membrana.



Slika V.35. Šematski prikaz građe čestica virusa porodice *Rhabdoviridae* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Građa virusa iz porodice *Bunyaviridae* i roda *Tospovirus*

Porodica *Bunyaviridae* obuhvata veliki broj vrsta virusa, od kojih najveći broj parazitira kičmenjake. Virusi iz roda *Tospovirus* ove porodice su paraziti biljaka. Virus bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), pripadnik ovoga roda je izometrijski virus prečnika između 80 i 110 nm. Virus je veoma nestabilan, teško se prečišćava, a u preparatima se nalazi veliki broj deformisanih i oštećenih čestica. U centralnoj šupljini čestica smeštene su tri genomske RNK virusa (L, M i S), koje su povezane sa proteinom N, formirajući ribonukleoproteinski kompleks (RNP; Slika V.36.). Virusna čestica je obmotana lipoproteinskom membranom ili ovojnicom, u kojoj su pored lipida prisutna i dva glikoproteina (Gn i Gc).



Slika V.36. Šematski prikaz građe čestica virusa roda *Tospovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

## *Višedelni ili multikomponentni virusi*

Tokom razmatranja građe virusa izneto je da je kod nekih vrsta virusa genomski nukleinska kiselina podeljena u dva ili više fragmenata, koji mogu biti smešteni u jednu virusnu česticu ili pak u više čestica. Ove virusne čestice mogu biti identične ili se mogu razlikovati po veličini i obliku. Takvi virusi predstavljaju višedelne ili multikomponentne viruse i o njihovim karakteristikama će se izneti u ovom delu više podataka.

Česta je pojava kod biljnih virusa, kao što napred rečeno, da je njihova genomski RNK-genom podeljen na više fragmenata, odnosno molekula različitih veličina. Takvi virusi se nazivaju virusi sa podeljenim genomom ili višedelni, odnosno multikomponentni virusi. Podeljenost genoma se sreće kako kod virusa sa jednospiralnom RNK (ssRNK) (napr. virusi iz porodice *Bunyviridae*), tako i kod virusa sa dvospiralnom RNK (dsRNK) (napr. virusi iz porodice *Reoviridae*). Skoro 30% virusa sa RNK ima podeljen genom. Zanimljivo je da je većina ovih virusa izometrijskog oblika. Virusne čestice sa podeljenim genomom mogu se razlikovati po tipu podeljenosti, odnosno kako je smeštena fragmentirana RNK u česticama. Kod manjeg broja virusa sa podeljenim genomom svi fragmenti RNK smešteni su u jednoj čestici, kao što je to slučaj kod virusa iz rodova *Phytoreovirus* i *Fijivirus*, koji u jednoj čestici mogu imati 12, odnosno 10 različitih fragmenata dsRNK. Kod većeg broja biljnih virusa sa ssRNK fragmenti njihovog podeljenog genoma smešteni su u različitim virusnim česticama, tj u više čestica. U pojedinoj virusnoj čestici može se nalaziti jedan do tri takva dela ili fragmenta, odnosno 1-3 manjih molekula RNK. Prema tome, kod takvih virusa čestice sadrže različiti broj različito velikih (različita molekulska težina) molekula RNK. Iz ovoga proizilazi da sve virusne čestice jedne iste vrste biljnih virusa nisu identične ni po hemijskom sastavu (imaju različitu količinu i sastav RNK) ni u funkcionalnom obliku (nose različite gene), a ni po masi (različita molekulska težina). Kod nekih od tih virusa virusne čestice se razlikuju čak i po obliku i veličini. To znači da jedna vrsta virusa sa podeljenim genomom ima identične virusne čestice po obliku i veličini, odnosno dimenzijama, ali različite po masi, tj. molekulskoj težini, pošto se u njima nalaze različiti molekuli genomske RNK. S druge strane virusne čestice, drugih vrsta virusa sa podeljenim genomom ne razlikuju se samo po masi, odnosno molekulskoj težini i sastavu RNK, nego i po obliku i veličini virusnih čestica. Pošto se virusne čestice razlikuju po težini, odnosno masi, čestice različitih težina mogu lako razdvojiti jedne od drugih, metodom centrifugiranja u šećernom gradijentu gustine u više zasebnih komponenta ili slojeva. Upravo zbog postojanja više tipova virusnih čestica, odnosno više komponenti, takvi virusi sa podeljenim genomom su nazvani višedelni ili multikomponentni virusi. Kod višedelnih virusa došlo je, prema tome, do raspodele virusnih genetičkih osobina između različitih tipova virusnih čestica, pošto se u svakom tipu čestice nalazi određeni fragment genoma, koji nosi određene gene.

Kao jedan od primera višedelnih virusa može se istaći virus mozaika lucerke. Kod ovog virusa prilikom centrifugiranja suspenzije prečišćenih preparata virusa u šećernom gradijentu gustine razdvaja se pet zona, odnosno slojeva sa pet tipova čestica virusa mozaika lucerke. Ove čestice se razdvajaju u zavisnosti od mase (težine), s tim što najteže dospevaju na dno, a lakše obrazuju zone bliže vrhu u virusnoj suspenziji u epruveti za centrifugiranje. U svakoj zoni je drugi tip virusnih čestica. Gledajući suspenziju virusnih čestica u šećernom gradijentu gustine u epruveti od dna prema vrhu mogu se uočiti pet zona ili slojeva sa česticama označenim na sledeći način: B (zona sa česticama formirana na dnu epruvete; B od

engleske reči bottom=dno), M (zona sa česticama formirana u sredini epruvete; M od engleske reči middle=sredina) i Tb, Ta i To tipovi čestica (zone sa česticama formirane pri vrhu epruvete; T od engleske reči top=vrh). Ove čestice su različite dužine, od 56, 43, 35 i 30 nm. Najmanji tip čestica To=18 nm razlikuje se od ostalih čestica po tome, jer nema baciloidni oblik nego izometrijski. Hemijski sastav proteinskog omotača svih čestica virusa mozaika lucerke je identičan bez obzira na tip, odnosno veličinu čestice. Međutim, u zavisnosti od tipa, odnosno veličine virusnih čestica, broj proteinskih podjedinica iz kojih je izgrađen omotač zavisi od dužine čestice i može biti sledeći kod četiri glavne grupe čestica: 60+ N x 18, gde je N= 10, 7, 5 ili 4 u zavisnosti od veličine, odnosno dužine (56, 43, 35 ili 30 nm) virusne čestice. Detaljan raspored podjedinica u kapsidu ovoga virusa opisan prilikom razmatranja strukturne građe virusa mozaika lucerke. Četiri veća tipa virusnih čestica sadrže po jednu molekulu virusne RNK, a najmanja (tipa To) ne sadrži ribonukleinsku kiselinu, tj ove virusne čestice su prazne, bez RNK. Kod virusa mozaika lucerke genomska RNK je podeljena u tri fragmenta (RNK<sub>1</sub>, RNK<sub>2</sub> i RNK<sub>3</sub>). Četvrta, odnosno RNK<sub>4</sub> je smeštena u Ta česticama ne predstavlja genomsku RNK, nego tzv. subgenomsku, veoma male molekulske mase, koja služi za sintezu proteinskog omotača.

U višedelne viruse mogu se svrstati i oni sa dvodelnim i trodelnim genomom. Dakle, multikomponentne viruse možemo podeliti na one koji imaju dva i one koji imaju tri tipa ili vrste genomske RNK, odnosno dva ili tri tipa nukleoproteinskih čestica. Multikomponentni virusi često osim nukleoproteinskih čestica sadrže i „prazne“ proteinske čestice, koje kako se ranije mislilo, ne sadrže virusnu RNK. Danas se zna da te tzv. „prazne“ čestice zapravo nisu prazne, jer većina ovih čestica sadrži male molekule ribonukleinske kiseline. To je RNK, koja nije genomska, već predstavlja tzv. subgenomsku RNK. Na subgenomskoj RNK nalazi se gen, koji kodira protein omotača virusa.

Odvojene virusne čestice višedelnih virusa su uzajamno međuzavisne i zajedno učestvuju u osnovnim aktivnostima virusa kao što je reprodukcija i parazitizam. Kao primer međuzavisnosti u aktivnostima višedelnih virusa može se navesti virus šuštavosti duvana (*Tobacco rattle virus*) ili virus rane mrke nekroze graška (*Pea early browning virus*, PEBV), koji spadaju u izdužene višedelne viruse. Virus šuštavosti duvana je višedelni virus, koji se sastoji od dva tipa čestica: dugih (180-214 x 22 nm) i kratkih čestica (46-114 x 22 nm) i dva fragmenta virusne RNK (RNK<sub>1</sub> i RNK<sub>2</sub>). Duge virusne čestice sadrže dugačku RNK<sub>1</sub>, koja je infektivna i upravlja svojim umnožavanjem, što znači da su ove čestice infektivne i autoreplikativne. Kratke virusne čestice sadrže kratki genom RNK<sub>2</sub>. Kratka RNK<sub>2</sub> nije infektivna i autoreplikativna, ali upravlja sintezom proteinskog omotača kod oba tipa čestica, kako kod dugih, tako i kratkih čestica virusa. Ovaj primer jasno pokazuje funkcionalnu povezanost višedelnih virusa, jer bez prisustva oba tipa čestica u zaraženoj ćeliji ne može doći do obrazovanja potpune čestice virusa šuštavosti duvana, odnosno njegovog viriona. Ovde je interesantno pomenuti i satelitni virus uz virus nekroze duvana. Ovaj virus je opisan kao posebna vrsta, međutim njegova reprodukcija u potpunosti zavisi od virusa nekroze duvana, čiji je satelitni virus pratilac. Naime utvrđeno je da virusna RNK satelitnog virusa ne može samostalno da se reprodukuje, već se umnožavanje RNK ovog virusa vrši pomoću genoma virusa nekroze duvana. Genomska RNK satelitnog virusa jedino može na bazi informacije svoje RNK da sintetiše sopstveni proteinski omotač. Ovo je još jedan primer funkcionalne zavisnosti, ali samo jedne vrste virusnih čestica (satelitni virus) u odnosu na virus nekroze duvana, dok ovaj drugi nije funkcionalno zavistan od satelitnog virusa. Ovakav tip funkcionalne zavisnosti je tipičan za tzv. „satelitne viruse“, pratiocne nekih drugih virusa.



Interesantno je napomenuti da među virusima, koji u svom sastavu sadrže DNK, podeljeni genom imaju samo neki virusi iz grupe „gemini“ ili tzv. dvojnih virusa. Isto tako je zanimljivo da virusi, koji sadrže RNK sa podeljenim genomom se javljaju samo među biljnim i animalnim virusima, a ne i među fagama, koje imaju u svom sastavu RNK.

Postavlja se pitanje zbog čega dolazi do fragmetiranja genoma i da li je podeljeni genom kod višedelnih virusa korisna osobina za viruse? Smatra se da su virusi sa podeljenim genomom u određenoj prednosti u odnosu na viruse sa nepodeljenim genomom. Ova prednost bi se mogla svesti na sledeće činjenice. Kod virusa sa podeljenim genomom virusne čestice su srazmerno manje u odnosu na one sa nepodeljenim genomom, jer sadrže manji deo virusne RNK. Njihov kapsid je usled toga manji i kompaktniji i kao takav predstavlja dobru zaštitu virusne RNK od dejstva fermenta nukleaze. Kad bi svi delovi (fragmenti) genoma iz tih čestica bili u jednoj virusnoj čestici ta čestica bi naravno morala biti mnogo krupnija, odnosno veća, sa većim proteinskim omotačem. Istraživanja su pokazala da je kapsid jedne takve čestice manje kompaktan i slabije štiti virusnu RNK od razornog delovanja ćelijske ribonukleaze. Druga prednost višedelnih virusa je ta da pošto je genom ovih virusa podeljen na više manjih fragmenata virusne RNK, tada moguće pogreške prilikom replikacije jednog fragmenta virusne RNK, koje neki put mogu da budu i letalne, nemaju uticaja na ceo virusni genom, pa zbog nastale greške može biti eliminisan samo onaj fragment RNK u kojem je greška nastala, a ostali fragmenti ostaju nepromenjeni i sposobni za replikaciju virusnih čestica.

## VI FIZIČKE I BIOFIZIČKE OSOBINE VIRUSA (BUDAKOV, D.)

### *Fizičke osobine virusa*

S obzirom na karakteristike virusne čestice, njihov oblik, građu i sastav, virusi ispoljavaju određene fizičke i biofizičke osobine koje omogućavaju njihovo bliže poznavanje i definisanje. Fizičke osobine se odnose na ponašanje čestica virusa u tečnoj sredini, a za njihovo određivanje primenjuju se metode koje se za odgovarajuća ispitivanja koriste u oblasti fizike.

### *Hidrodinamičke osobine*

Hidrodinamičke osobine se zasnivaju se na sposobnosti virusnih čestica da se kreću u tečnoj sredini u kojoj grade suspenziju (biljni sok ili drugi rastvor). Dinamičke osobine u takvoj sredini zavise od vrste virusa (sastava i arhitekture čestice), dispergenta i uslova spoljašnje sredine.

Od hidrodinamičkih osobina virusa najznačajnija je sedimentacija (taloženje) virusnih čestica u dispergentu. Sedimentacija se karakteriše određenom brzinom i sedimentacionom konstantom. Brzina sedimentacije virusnih čestica zavisi od njihovog broja i oblika, zatim od sastava dispergenta i zemljine teže-gravitacije. Čestice biljnih virusa su, međutim, lake (molekulska težina od  $10^6$  do  $10^8$  daltona), pa se njihovo taloženje ne može obaviti dovoljno brzo pod dejstvom zemljine teže. Zato se virusne čestice u suspenziji izlažu centrifugiranju, pri čemu se dejstvo zemljine teže uvećava za oko  $10^3$  do  $3 \times 10^5$  (1.000 do 300.000 puta). U toku centrifugiranja virusne čestice se pasivno kreću centrifugalno. Kretnje čestica se izvodi konstantnom brzinom, dok se kretanju virusa tokom centrifugiranja suprotstavljaju difuzna kretanja u dispergentu koja teže da povrate neravnomeran raspored virusnih čestica.

Tokom centrifugiranja, kada je savladan otpor difuznog kretanja, u suspenziji se obrazuju tri zone: 1. zona bez virusa (u centripetalnom delu), 2. prelazna zona i 3. zona sa jakom koncentracijom virusa (u centrifugalnom delu). Prelazna zona, u kojoj su virusi u promenljivoj koncentraciji se menja centrifugiranjem, a brzina tog pomeranja se koristi za izračunavanje sedimentacione konstante virusa.

Brzina pomeranja se izračunava na jedinicu centrifugalnog polja i izražava koeficijentom sedimentacije. Pošto koeficijent zavisi od vrste dispergenta, okolne temperature i koncentracije virusa mora se korigovati na sedimentaciju u vodi temperature  $20^\circ\text{C}$  ili  $25^\circ\text{C}$ . Ovako korigovan koeficijent predstavlja sedimentacionu konstantu ( $S_{20w}$ ) virusa, koja predstavlja ultracentrifugijsku jedinicu i izražava se kao jedinica po Svedbergu ( $1S=10^{-13}$  sec). Dobila je ime prema švedskom naučniku Teodoru Svedbergu (1884-1971), koji je 1926. godine dobio Nobelovu nagradu za hemiju i izumeo ultracentrifugu koja se koristi za ispitivanje hidrodinamičkih karakteristika virusa, kao i kod tehnika prečišćavanja virusa.

Sedimentaciona konstanta je specifična za vrstu virusa i koristi se kao jedna od odlika za njegovu determinaciju. Merenjima brzine sedimentacije mogu se ocenjivati i druge osobine virusa kao što su molekulska građa i molekulska težina.

Ako se, na primer, u jednoj virusnoj suspenziji nađu čestice koje se razlikuju samo u količini nukleinske kiseline, one će prema ovoj količini imati različite sedimentacione konstante. Sedimentaciona konstanta, prema tome, pokazuje razliku u njihovoj molekulskoj građi. Sedimentacionom konstantom su kod nekih izometrijskih virusa izdvojene infektivne

od neinfektivnih čestica, koje su inače po morfološkim, serološkim i proteinskim osobinama slične.

### *Elektroforetske osobine*

Elektroforeza je pokretljivost dispergovanih čestica koja se dešava pod uticajem prostorno ravnomernog raspoređenog dejstva električnog polja. Naelektrisanost virusnih čestica izazivaju jonizovane karboksilne COOH i amino NH<sub>2</sub> grupe aminokiselina koje učestvuju u građi kapsida. Elektroforetski su aktivne samo one jonizovane grupe koje se nalaze na površini kapsida. Naelektrisanost delova virusnih čestica, koji se nalaze u njihovom unutrašnjem delu, ne utiče na elektroforetsku pokretljivost. Zbog toga, na primer, između virusne čestice sa nukleinskom kiselinom i proteinskog omotača bez nukleinske kiseline ne postoji elektroforetska razlika. Jačina naelektrisanosti virusne čestice može biti različita i zavisi od stepena disocijacije kiselinskih i baznih grupa u električnom polju. Kako elektroforetska pokretljivost zavisi od veličine virusne čestice, kao i od površinskog naelektrisanja, ova metoda se može koristiti za determinaciju virusa jer različite vrste virusa imaju različitu pokretljivost (Hull, 2004).

Virusne čestice, kao i belančevine mogu biti naelektrisane. One se u kiseloj sredini ponašaju kao baze (+ naelektrisanje), a u baznoj (alkalnoj) sredini kao kiseline (- naelektrisanje). U kiselom rastvoru belančevine su pozitivno naelektrisane, a u baznom rastvoru negativno. Da li će belančevine biti naelektrisane pozitivno ili negativno zavisi od pH vrednosti rastvora (medija) u kojem se one nalaze. Kod određene pH vrednosti rastvora, pozitivno i negativno naelektrisane grupe se mogu poništavati i u takvom rastvoru nije moguće detektovati naelektrisanje, odnosno, nije moguće da se virusne čestice kreću. Ta pH vrednost je univerzalna za pojedine vrste virusa i naziva se izoelektrična pH vrednost ili izoelektrična tačka virusa.

Pri svim drugim pH vrednostima virusne čestice su naelektrisane pozitivno ili negativno i zbog toga se kreću u električnom polju. Pozitivno naelektrisane čestice se kreću ka negativnom polu (anodi), a negativno naelektrisane prema pozitivnom polu (katodi). Na osnovu elektroforeze razvile su se različite tehnike. U početku se naročita pažnja posvećivala tehnicima elektroforetskog razdvajanja proteinskih komponenata. Da bi se komponente razdvojile moraju se razlikovati ili po vrsti naelektrisanja (tada se kreću prema različitim elektrodama) ili po ukupnom iznosu istog naelektrisanja (tada se kreću ka istoj elektrodi, ali različitim brzinom).

Sve elektroforetske metode baziraju se na kretanju naelektrisanih čestica u električnom polju sa jednosmernom strujom prema jednoj od elektroda. Ono po čemu se ove metode razlikuju jeste vrsta medija kroz koji se čestice kreću. Čestice se za vreme elektroforeze mogu kretati kroz papir, kroz pufer (slobodna elektroforeza), kroz razne gelove – danas se najčešće koristi poliakrilamid gel.

Elektroforetska pokretljivost čestica omogućuje različita proučavanja virusa. Tako na primer može da se koristi za izdvajanje i determinaciju vrste virusa kod mešovite zaraze. Po elektroforetskoj aktivnosti mogu se razlikovati i pojedini sojevi virusa kao što je to slučaj kod virusa mozaika duvana. Veliki značaj elektroforeze u virusologiji je u tome što omogućuje pripremanje homogenih prečišćenih virusnih suspenzija.

## Optičke osobine

Od optičkih osobina virusa najznačajnije su: rasipanje i prelamanje svetlosti i apsorpcija UV svetlosti. Posmatranje optičkih osobina biljnih virusa omogućava njihovo razlikovanje u tečnosti u kojoj grade suspenziju.

*Rasipanje svetlosti.* Virusne čestice, slično drugim česticama, izazivaju u suspenziji rasipanje (rasejavanje) obične svetlosti. Rasipanje se ispoljava mućenjem ili opaloscencijom virusne suspenzije. Na stepen rasipanja svetlosti utiče koncentracija virusa, veličina njegovih čestica i talasna dužine svetlosti. Rasipanje svetlosti je naročito izraženo kada su virusne čestice za 10% duže od talasne dužine svetlosti. Merenjem rasipanja svetlosti pri različitim uslovima njenog prodiranja može se oceniti molekulska težina virusnih čestica nezavisno od njihovog oblika, veličine i konfiguracije.

*Prelamanje svetlosti.* Virusne čestice prelamaju svetlost jače od tečnosti u kojoj su dispergovane (sa kojom čine suspenziju). Specifično povećanje u prelamanju svetlosti predstavlja razliku u prelamanju čiste tečnosti i 1% suspenzije virusa. Merenjem prelamanja svetlosti pomoću osetljivih refraktometara može se odrediti masa virusnih čestica. Ako se u građi virusne čestice nalaze lipidi onda je potrebno korigovati podatke o njihovoj masi.

*Apsorpcija ultraljubičaste (UV) svetlosti.* Apsorpcija (upijanje) UV svetlosti je jedna od optičkih osobina virusa koja se redovno primenjuje u ispitivanju biljnih virusa. Spektar apsorpcije ultraljubičaste svetlosti predstavlja kombinaciju apsorpcionog spektra za komponente biljnih virusa: nukleinske kiseline sa purinskim i pirimidinskim bazama i proteine.

Apsorpcija UV svetlosti kod nukleinskih kiselina započinje na 230 nm, dok je maksimum na 260 nm, dok su kod proteina te vrednosti 250 nm (najniža vrednost na kojoj počinje apsorpcija) i maksimum na 280 nm. Stepem apsorpcije UV svetlosti kod virusnih čestica u suspenziji uslovljen je, prvenstveno, sadržajem njihovih nukleinskih kiselina, jer je njihova apsorpciona moć veća za 20 i više puta od proteina. Tako se kombinacijom apsorpcija ove dve komponente dobija maksimum virusne apsorpcije na 260 nm. Merenjem optičke gustine virusne suspenzije na pomenutim talasnim dužinama može se odrediti koncentracija virusa, čistoća virusne suspenzije, a takođe i količina i građa nukleinske kiseline, iako virusi sa sličnom hemijskom građom imaju sličan spektar apsorpcije. Apsorpcija UV svetla se uglavnom izražava kao koeficijent apsorpcije (A) ili koeficijent ekstinkcije (E) i predstavlja optičku gustinu sloja virusne suspenzije od 1 cm, koncentracije 1 mg/ml na talasnoj dužini od 260 nm. Apsorpcija UV zračenja virusne suspenzije se meri na spektrofotometru, u kojem UV zraci bivaju emitovani kroz kivetu u kojoj se nalaze virusi suspendovani u puferu (I) i poredi se sa vrednostima dobijenim emitovanjem UV zraka kroz pufer bez virusnih čestica (I<sub>0</sub>). Logaritam odnosa ove dve vrednosti [ $\log(I_0/I)$ ] je vrednost apsorpcije virusne suspenzije (Dijkstra i de Jager, 1998). Ukoliko se zna koeficijent apsorpcije nekog virusa može se izračunati apsolutna koncentracija virusa u rastvoru. Pošto je količina apsorpcije uslovljena pojedinim delovima virusa, ovaj koeficijent govori o hemijskom sastavu virusa. Apsorpcija UV svetlosti omogućuje značajna proučavanja virusa zbog čega se ona vrlo često koristi u virusološkim proučavanjima.

## Elektronska mikroskopija virusa

Elektronska mikroskopija je jedno od najznačajnijih dostignuća koje je doprinelo razvoju virusologije tj. poznavanju virusa, jer je omogućilo vidljivost njegovih čestica.

Elektronski mikroskop je konstruisan u periodu od 1920 do 1930. godine; prvi virus koji je na njemu posmatran 1939. godine bio je virus mozaika duvana. Osnovne odlike elektronskog mikroskopa, po kojima se razlikuje od običnog svetlosnog, jeste vrsta zračenja i sistem sočiva za dobijanje slike, kao i razdvojna moć (diferenciranje) čestica koje se posmatraju. Kod svetlosnog mikroskopa se upotrebljava vidljiva svetlost talasne dužine 400-800 nm i sistem staklenih sočiva koja omogućuju razdvajanje čestica sa prečnikom od 200 nm (dve tačke vide se odvojeno ako je razmak između njih 200 nm). U elektronskoj mikroskopiji se umesto obične vidljive svetlosti koristi snop elektrona, a umesto staklenih upotrebljavaju se magnetna sočiva. Snop elektrona se oslobađa iz užarene tanke žice i kreće se ubrzanjem naponske razlike od 50-100 kilovata. Snop se šalje u žižu sistemom magnetnih sočiva projektujući posmatrani uzorak na fluorescentski ekran ili fotografsku ploču. Elektroni koji se kreću imaju veoma kratku talasnu dužinu od oko 0,004 nm, što praktično omogućava razdvajanje bioloških predmeta na međusobnom rastojanju od 1,5 nm.

Elektronska mikroskopija, iako vrlo moćno oružje u rukama istraživača, ima svojih nedostataka. Najveći nedostatak je što se na elektronskom mikroskopu ne mogu posmatrati uzorci u živom stanju. Drugi nedostatak je nedovoljno postizanje kontrasta na slici između različitih delova u posmatranom biološkom materijalu. Dok je prvi nedostatak ostao neotklonjen, drugi se sve uspešnije rešava primenom novih, podesnijih metoda za snimanje.

Na elektronskom mikroskopu se ne mogu posmatrati živi uzorci, pošto se koristi vakuum u kojoj voda ispari. Osim toga ovi uzorci moraju biti tanki, jer obično elektroni ne mogu da prolaze kroz biološke predmete koji su deblji od 200 nm. Uzorak koji se posmatra na elektronskom mikroskopu stavlja se na nosač koji obično ima oblik male metalne mrežice prečnika 3 mm; ta mrežica je prekrivena slojem ugljenika ili ugljenikom presvučene nitroceluloze. Nakon stavljanja preparata mrežica se stavlja u vakuumsku cev mikroskopa. Pošto različite biološke komponente u preparatu približno jednako propuštaju elektrone, ne dobija se dovoljno velik kontrast pomoću kojeg bi se razlikovale određene komponente u uzorku.

Zbog toga je kontrast potrebno pojačati što se postiže na dva načina:

1. Senčenje preparata metalnim parama: osušeni uzorak na mrežici izlaže se parama teških metala kao što su zlato, iridijum, paladijum, platina i dr. Na taj način čestice metala se nanose samo sa jedne strane struktura koje žele da se posmatraju. Ako se kroz ovaj uzorak propuste snopovi elektrona, dobiće se kontrastna slika čestice virusa. Naime, tamo gde je na preparatu metal elektroni ne prolaze, a gde nema metala prolaze; tako se dobija slika čestica koje su osenčene a to bitno doprinosi kontrastu slike.
2. Negativno kontrastiranje (senčenje): taj način pripremanja uzorka je danas u širokoj upotrebi. Virusna suspenzija se meša sa rastvorom fosfor-volframske kiseline, uranil acetata ili amonijum molibdata, u zavisnosti od stabilnosti virusa prema ovim bojama. Ta sredstva sadrže teške metale i zato ne propuštaju elektrone. Oni se prenose tj. pokrivaju mrežicu (podlogu), ali ne i virus. Zahvaljujući tome elektroni ne prolaze kroz podlogu ali prolaze kroz viruse pa se dobija kontrastna slika virusne čestice (Slike V.1-6).

Elektronska mikroskopija je našla široku primenu u proučavanju morfologije, veličine i građe virusa. Elektronska mikroskopija je naročito korisna prilikom utvrđivanja raspona dužine štapićastih virusa, iako merenja mogu značajno varirati u zavisnosti od načina pripreme i bojenja uzorka, te je potrebno optimizovati metode ekstrakcije i bojenja u zavisnosti od vrste virusa i biljke domaćina. Ona je u mnogome omogućila da se prati širenje

i razvoj virusnih čestica u inficiranim ćelijama i tkivima i, na kraju, ona je pokazala kakve patološke promene izazivaju virusi u biljkama, svojim domaćinima. Elektronska mikroskopija se može koristiti za određivanje broja virusnih čestica po jedinici zapremine suspenzije.

### *Biofizičke osobine virusa (Bagi, F.)*

Biofizičke osobine virusa se odnose na promene virusnih čestica do kojih dolazi usled dejstva raznih fizičkih činilaca. U fizičke činioce koji su u ovom pogledu najviše proučavani spadaju: toplota, zračenje, pritisak, ultrazvuk, vlažnost, vremenski uslovi itd., a biološke osobine na koje deluju su infektivnost, umnožavanje, antigenost i održavanje vitalnosti van živih ćelija (Šutić, 1994). Promene u biološkim karakteristikama virusa usled fizičkih činilaca su stalne, predstavljaju karakteristiku virusa i nazivaju se biofizičkim konstantama. Biofizičke konstante koje su se najviše izučavale i koristile u preliminarnoj identifikaciji virusa su termalna tačka inaktivacije, krajnja tačka razređenja i trajanje infektivnosti (dugovečnost) virusa *in vitro* (Šutić, 1994). Prema novijim ispitivanjima ove vrednosti imaju ograničen značaj u karakterizaciji, identifikaciji i klasifikaciji biljnih virusa (Francki, 1980). Ove osobine virusa imaju međutim praktičan značaj, pošto poznavanje biofizičkih konstanti utiče na izbor mera zaštite protiv virusnih oboljenja.

### *Termalna tačka inaktivacije*

Ukoliko se virusna suspenzija određene koncentracije izloži seriji rastućih temperatura, nakon određenog povišenja temperature nastupiće gubitak infektivne sposobnosti virusa. Temperaturna vrednost na kojoj nastupa gubitak infektivnosti naziva se termalna tačka inaktivacije. Šutić (1994) definiše termalnu tačku inaktivacije kao najnižu temperaturu na kojoj prestaje infektivna sposobnost virusa. Ovu karakteristiku virusa su istraživači proučavali u ranijim fazama razvoja biljne virusologije. Tako je Price (1940) ispitivao termalnu tačku inaktivacije virusa nekroze duvana (TNV), virusa mozaika duvana (TMV), virusa mozaika lucerke (AMV) i virusa prstenaste pegavosti duvana (TRSV). U zavisnosti od razblaženja suspenzija ove vrednosti su iznosile 70-95 °C za TNV, 68-95 °C za TMV, 50-62,5 za AMV, odnosno 56,5–65° C za TRSV. Da bi se virusi ili njihovi sojevi upoređivali na osnovu termalne tačke inaktivacije, potrebno je da su suspenzije istih koncentracija (standardna  $10^{-1}$ ), i da su i drugi uslovi izvođenja ogleda isti.

### *Krajnja tačka razređenja*

Koncentracija virusne suspenzije ima važnu ulogu u uspešnosti infekcije biljnog tkiva, pošto postepeno razređivanje može dovesti do gubitka infektivnosti suspenzije. Granično razređenje u kojem je infektivnost inokuluma tako oslabljena da se jedva može otkriti se naziva krajnja tačka razređenja (Šutić, 1994). Vrednost ove biofizičke konstante se kreće u granicama od  $10^{-1}$  do  $10^{-7}$ .

## *Trajanje infektivnosti virusa in vitro*

Ova biofizička konstanta se utvrđuje držanjem suspenzije biljnih virusa na temperaturi od 20 °C i periodičnim ispitivanjem infektivnosti iste. Nakon određenog perioda virusna suspenzija gubi svoju infektivnost. Najduže vreme trajanja, prilikom čuvanja, posle koga sok gubi infektivnost, predstavlja biofizičku konstantu koja se naziva dužinom infektivnosti (dugovečnosti) "*in vitro*" (Šutić, 1994). U zavisnosti od vrste virusa, suspenzija može izgubiti infektivnost posle nekoliko časova, ali je može sačuvati i više od godinu dana. Da bismo uporedili ovu biofizičku konstantu dva virusa, neophodno je da su njihove koncentracije iste. Na biofizičku konstantu takođe utiče biljka domaćin (iz koje se priprema suspenzija), način pripreme inokuluma, ogledna biljka za proveravanje infektivnosti, spoljni uslovi u toku rada itd. (Šutić, 1994).

Horváth i Gáborjányi (1999) kao veoma važne biofizičke konstante pored trajanja infektivnosti *in vitro* suspenzije biljnih virusa navode i infektivnost virusa u biljnim delovima koji se suše na sobnoj temperaturi, odnosno na temperaturama između 2 i 5 °C. U zaraženim listovima duvana koji su se sušili na sobnoj temperaturi virus mozaika krastavca (CMV) zadržava infektivnost oko 50 dana, a virus mozaika duvana i više godina. Virusi kao što su virus mozaika duvana i virus zelenog šarenila krastavca imaju visoku postojanost *in vitro*, te biljni ostaci često mogu predstavljati izvor zaraze.

Testiranje biofizičkih konstanti virusa se vrši veštačkom inokulacijom listova biljaka, koje reaguju lokalnim nekrotičnim pegama na ispitivani virus. Brojanjem pega utvđuju se smanjenje infektivnosti usled dejstva fizičkih faktora i utvrđuju se biofizičke konstante virusa.

## VII ANTIGENE OSOBINE VIRUSA (BAGI, F.)

Među najvažnija saznanja virusologije spada otkriće antigenih osobina virusa i implementacija serologije u cilju detekcije virusa. U ranijim poglavljima je već navedeno da je Beale (1928) prvi utvrdio antigena svojstva virusa mozaika duvana, dok je Gratia (1933) ustanovio da biljke zaražene različitim virusima sadrže različite antigene. Chester (1936) je nekoliko godina nakon toga prvi izradio serološku klasifikaciju virusa. Antigene osobine virusa i serologija koja se kao posebna naučna oblast razvila su postale važan deo detekcije i karakterizacije virusa. Serološke metode su u detekciji virusa ostale značajne i nakon razvoja molekularnih metoda koje se baziraju na identifikaciji karakteristične sekvence nukleinske kiseline virusa.

Biljni virusi kodiraju više proteina, ali se serološka dokazivanja biljnih virusa najčešće baziraju na antigenom svojstvu proteina koji čini omotač virusa. Proteini imaju sposobnost da uneseni u telo toplokrvnog organizma indukuju stvaranje specifičnih antitela (imunoglobulina), koja su specifična prema datom proteinu. Ova sposobnost proteina se naziva imunogenost (Šutić, 1994). Obrazovana antitela imaju sposobnost da se vezuju sa svojim antigenima (proteinima koji su indukovali njihovo stvaranje, što se označava kao antigenost.

### *Imuni odgovor*

Obrazovanje specifičnih antitela prema antigenu je rezultat složenih biohemijskih reakcija u toplokrvnom organizmu, odnosno u organima koji su deo odbambenog sistema, kao što su jetra, slezina, limfni čvorovi, koštana srž, itd. (Šutić, 1994). Antigeni su agensi nežive ili žive prirode koji uneseni u telo životinje izazivaju u njemu stvaranje posebnih, odbrambenih jedinjenja poznatih kao antitela. Belančevine su najaktivniji antigeni zbog specifične i velike građe njihovih molekula u kojima se nalaze mnogobrojne aktivne grupe atoma (Šutić, 1994). U antigene žive prirode spadaju i paraziti u čijoj građi učestvuju antigene supstance (belančevine i dr.), kao što su virusi i bakterije. Virusni su vrlo aktivni antigeni. Njihova antigena aktivnost je uslovljena proteinskom građom kapsida, odnosno omotača virusne čestice. Unošenje virusa u telo životinje ili čoveka dovodi do imunog odgovora organizma, i do stvaranja specifičnih antitela.

U cilju stvaranja specifičnih antitela u toplokrvnom organizmu nakon prodora antigena, neophodno je usaglašeno dejstvo tri vrste ćelija: ćelije koja se vezuje za antigen, označena kao APC ćelija (antigen-presenting cell=ćelija koja daje antigen), T ćelije i ćelije limfocita B (Horváth i Gáborjányi, 1999). Nakon ulaska antigena u organizam, za njih se vezuju APC ćelije i vrše transformaciju antigena vezujući se za molekulu koja je označena kao MHC (major histocompatibility molecule=glavna molekula kompatibilna sa MHC). Nakon toga dolazi do vezivanja i T ćelije i obrazovanja trojnog kompleksa APC-MHC-T ćelija. Ovaj kompleks postpešuje stvaranje rastvorljive supstance interleukina, koja aktivira T ćelije, koje nadalje stimulišu deljenje i diferenciranje ćelija limfocita B. Limfocit B ćelije prilikom deljenja stvaraju specifična antitela koja će reagovati sa antigenom (Horváth i Gáborjányi, 1999).



## *Antitela*

Antitela predstavljaju veliku grupu proteina, koje spadaju u globuline, odnosno imunoglobuline, za koje je karakterističan prostorni raspored molekula u obliku slova „Y“ i koja imaju osobinu da se vezuju za antigene pod čijim dejstvom su nastali. Y struktura je sačinjena od najmanje četiri polipeptida, pri čemu su dva velike molekulske mase (teška lanca) i dva manje molekulske mase (laka lanca). Poznato je pet klasa antitela: IgG, IgM, IgA, IgE i IgD, koji se razlikuju po broju Y jedinica koje ulaze u njegov sastav i tipu teškog lanca (Hull, 2004). Antitela IgG, IgA, IgE i IgD imaju po jedan par teških i lakih lanaca (ukupno četiri lanca), dok IgM sadrži po pet teških i lakih lanaca.

Antitela se mogu podeliti u dve grupe: poliklonska antitela koja reaguju sa više različitih spojnih mesta na antigenu (epitopa) i monoklonska antitela koja reaguju samo sa jednim spojnim mestom (epitopom) antigena. U serološkim detekcijama testiranje materijala sa monoklonskim antitelima je preciznije, jer reaguju samo sa jednim epitopom određene vrste i/ili soja virusa. Sa druge strane u određenim ispitivanjima nije potreban takav nivo preciznosti, te i rad sa poliklonim antitelima daje zadovoljavajuće rezultate.

Kod imuniziranih životinja prvo se stvaraju IgM antitela čija koncentracija dostiže maksimum 10 dana nakon imunizacije, a nakon toga opada. Tek oko dve nedelje nakon toga dolazi do stvaranja maksimuma koncentracije IgG antitela u krvi (Horváth i Gáborjányi, 1999). Antitela se nalaze u serumu krvi životinja i čoveka. Posle zgrušavanja krvi serum se izdvaja kao supernatant u kome se nalaze antitela, zbog čega se naziva antiserumom ili imunoserumom (Šutić, 1994). Spoljno mesto na antitelu koje stupa u reakciju sa antigenom se naziva paratop. Tako napr. IgG antitela imaju dva spoljna (vezivna) mesta, pa se označavaju kao bivalentna, IgM pet spoljnih mesta na antitelu, te su ona petovalentna.

## *Epitopi*

Deo proteina omotača virusa od oko 5-7 aminokiselina koji služi kao spoljno mesto za vezivanje sa antitelom nazivamo epitop. Epitop ima trodimenzionalnu građu, koja je komplementarna spoljnom (veznom) mestu-paratopu antitela. Na jednom proteinu se može nalaziti više epitopa. Obično jedna proteinska podjedinica na kapsidu predstavlja jedno spoljno mesto odnosno epitop. Međutim, nisu sve proteinske podjedinice proteinskog omotača aktivne kao vezna mesta. Kriptotopi su »skrivena« spoljna mesta koja su okrenuta prema unutrašnjosti virusne čestice, te dolaze do izražaja samo u slučaju denaturacije omotača. Metatopi su spoljna mesta koja ostaju aktivna i nakon disocijacije i polimerizacije proteinskog omotača. Neutralizirajući epitopi su oni koji nakon reakcije sa antitelom dovode do prestanka infektivnosti čestica (Horváth i Gáborjányi, 1999).

## *Proizvodnja poliklonskih antitela*

Proizvodnja poliklonskih antitela je jednostavnija u odnosu na monoklonska. Poliklonska antitela sadrže heterogena antitela koja imaju različite paratope, te pri serološkim reakcijama često reaguje samo onaj deo antitela koji ima paratope specifične za epitope datog antigena. Zbog toga u serološkim reakcijama, u kojima se koriste poliklonska antitela

može se odrediti samo okvirno srodstvo između dva antigena, ali se ne mogu utvrditi manje serološke razlike među antigenima (Šutić, 1994).

Za razliku od poliklonskih, monoklonska antitela su homologna i sadrže samo jedan tip paratopa. Poliklonska antitela su manje specifična u odnosu na monoklonska, što je pri nekim testovima i prednost. Naime promene u populaciji nekog virusa mogu uticati na blagu promenu epitopa čestica virusa, sa kojima će poliklonska antitela i dalje reagovati, a monoklonska ne (Horváth i Gáborjányi, 1999).

Poliklonska antitela se mogu dobiti imunizacijom bilo koje toplokrvne životinje (kunić, morsko prase, miš, pernate životinje). Imunizacijom krupnijih životinja (konj, ovca, koza) može se proizvesti značajnija količina antitela, ali je potrebno proizvesti i veću količinu antigena- prečišćenog virusa. Proces imunizacije najčešće traje 5-7 nedelja, pri čemu se kombinuje intravenozno i intramuskularno injektiranje antigena uz primenu adjuvanta za stabilizaciju antigena, kao što je Freund-adjuvant (Hampton et al., 1990). U slučaju kunića primenjuje se i subkutano injektiranje antigena. Uzimanje krvi se može izvesti iz srca, vene ili arterije životinje. Preporučuje se gladovanje životinja 12-18 sati pre uzimanja krvi, radi smanjenja sadržaja lipida u krvi (Horváth i Gáborjányi, 1999). Krv se nakon vađenja ostavi radi zgrušavanja na sobnoj temperaturi, a nakon toga inkubira pola sata na 37 °C i čuva u frižideru preko noći. Nakon odvajanja tečnog bistrog dela sledi centrifugiranje, ceđenje i dodavanje konzervansa. Iz antiseruma se propisanim protokolima dalje može prečistiti IgG antitela (Hampton et al., 1990).

### *Proizvodnja monoklonskih antitela*

Za razliku od poliklonskih antitela, koja su proizvod više različitih limfocita-B, monoklonska antitela proizvod su samo jedne vrste limfocita-B. Monoklonsko antitelo poseduje paratop samo za jedan epitop na antigenu, pa se iz tih razloga monoklonski antiserumi koriste za preciznije utvrđivanje seroloških razlika između antigena i u velikoj meri u dijagnostici biljnih i animalnih virusa prouzrokovaca bolesti (Juretić, 2002). Metodu proizvodnje monoklonskih antitela su razvili Köhler i Milstein (1975) koji su izvršili fuziju B limfocita iz imuniziranog miša sa mijelomskim ćelijama raka, obrazujući tzv. hibridome. Izborom odgovarajućeg hibridoma obezbeđuje se stvaranje uniformnih, monoklonskih antitela.

U drugoj metodi dobijanja monoklonskih antitela se limfociti B transformišu Epstein-Barrovim virusom (EBV) zbog čega se broj limfocita neograničeno povećava (Juretić, 2002). Nastali limfociti stvaraju uniformna monoklonska antitela.

## VIII METODE DETEKCIJE BILJNIH VIRUSA (BAGI, F.)

U poglavlju „Istorijski razvoj istraživanja biljnih virusa“ objašnjeno je da su promene izazvane biljnim virusima opisane još u XVI veku, ali da su usled nedostatka eksperimentalnih tehnika obimnija eksperimentalna istraživanja u pravcu detekcije biljnih virusa započeta tek sredinom XX veka. Prvi i osnovni korak u zdravstvenoj kontroli biljaka i biljnog materijala svakako predstavlja vizuelni pregled, koji je u slučaju biljnih virusa veoma nepouzdan. Usled nespecifičnih simptoma prouzrokovanim raznim biotičkim i abiotičkim faktorima prisustvo promena na biljkama koje ukazuju na virusnu zarazu ne znače da se zaista radi o virusnoj zarazi, a izostanak-odsustvo simptome ne znači da biljka nije zaražena virusom. Mogućnost mešanih zaraza sa dva ili više virusa ili drugim prouzrokovateljima oboljenja, specifična reakcija na nivou genotip biljke-soj virusa, uticaj ekoloških faktora na ispoljavanje simptoma, kao i druge okolnosti dodatno onemogućavaju detekciju na bazi simptoma. Zbog svega navedenog u detekciji biljnih virusa su uvek neophodna dodatna testiranja pre donošenja zaključka. Ukoliko želimo da grupišemo metode za detekciju biljnih virusa, najpogodnija podela je: primena biotestova, elektronska mikroskopija, metode detekcije na osnovu proteinskog omotača virusa, kao i metode detekcije na osnovu nukleinske kiseline virusa. Za potpunu karakterizaciju virusa nije dovoljno primeniti jednu od navedenih metoda, nego se one nadopunjuju, a postoje savremene tehnike koje uporedo uključuju principe iz više grupa. O osnovama elektronske mikroskopije je već bilo reči u poglavlju „Fizičke i biofizičke osobine virusa“.

Usled sve značajnijih ekonomskih šteta od biljnih virusa, nastojanja da se proizvodi zdravstveno kontrolisan sadni materijal, kao i usled sve intenzivnije trgovine biljkama i biljnim materijalom na svetskom nivou, potreba za brzim, efikasnim, osetljivim, specifičnim i što jeftinijim metodama testiranja na prisustvo virusa su sve veća. Usled toga ispitivanja i naučna produkcija o metodama testiranja biljnog materijala, detekcije i dijagnostike biljnih virusa je svakim danom sve veća, pri čemu se opisuju nove tehnike ili modifikuju već postojeće.

Izbor tehnike testiranja koja će se u pojedinoj laboratoriji primeniti svakako zavisi od raspoložive opreme i resursa, obučenosti osoblja, ali i od broja uzoraka, potrebe za brzim rezultatima, potrebe za nivoom osetljivosti testa, raspoloživim informacijama o virusu/virusima na koje se vrši testiranja (Naidu i Hughes, 2001). Takođe važno pitanje u primeni tehnike je i da li se testiranje vrši odmah na polju (brzi testovi identifikacije) ili u laboratoriji.

### *Primena biotestova u detekciji biljnih virusa*

Iako istraživanja o ispitivanju sposobnosti izazivanja simptoma na biljkama od strane biljnih virusa spadaju među najstarije tehnike proučavanja virusa, ove metode detekcije se i danas preporučuju u savremenim sertifikovanim šemama za prizvodnju zdravog sadnog materijala. Pojedine vrste virusa, odnosno njihovi sojevi na svojim domaćinima prouzrokuju specifične simptome, po čemu se mogu razlikovati od drugih virusa odnosno sojeva. Pored prirodnih domaćina, svaki virus ima i svoj eksperimentalni krug domaćina, odnosno biljke koje nisu u prirodi opisane kao domaćini, ali su u laboratorijskim uslovima osteljive prema datom virusu i soju i ispoljavaju tipične simptome. Prirodni ili eksperimentalni domaćini

koji reaguju u toj meri specifičnim simptomima da se po tome mogu razlikovati od drugih virusa se nazivaju indikator biljkama, koji se koriste za detekciju datih virusa. EPPO sertifikacione šeme navode koje zeljaste, odnosno drvenaste indikator biljke treba koristiti za detekciju određenih vrsta virusa. Indikator biljke se veštački inokulišu koristeći biljni materijal koji se testira. Tehnika inokulacije zavisi kako od virusa, tako i od indikator biljke, pri čemu se najčešće koristi mehaničko prenošenje virusa ili tehnike kalemljenja. Nakon inokulacije indikator biljke se inkubiraju u propisanim uslovima sredine i nakon perioda od nekoliko dana do nekoliko nedelja (u slučaju drvenastih indikatora i meseci) vrši se ocena ispoljenih simptoma. Iako primena biotestova ne zahteva sofisticiranu opremu, ona je zahtevna u pogledu vremena, uzgoja test biljaka i obezbeđivanja zaštićenog prostora koji je izolovan od mogućnosti virusnih infekcija.

### *Metode detekcije na osnovu specifičnosti proteinskog omotača virusa*

U poglavlju „Istorijski razvoj istraživanja biljnih virusa“ je navedeno da su Beale (1928), Gratia (1933) i Chester (1936) načinili prve korake ka razvoju naučne discipline *serologije* u biljnoj virologiji, koja se bazira na antigenim osobinama proteinskog omotača biljnih virusa. Ove karakteristike virusa su detaljno obrađene u okviru poglavlja „Antigene osobine virusa“. Razrađen je veliki broj seroloških testova, pri čemu je za sve zajedničko da se baziraju na reakciji antigena i za njega specifičnog antitela. Reakcija se može odvijati u tačnoj sredini ili na čvrstoj osnovi, kao što su mikrotitarske ploče ili nitrocelulozna membrana.

### *Test precipitacije i aglutinacije*

Metode ne zahtevaju složenu opremu i mogu se izvoditi u laboratorijama sa skromnijim kapacitetima, ali je njihov nedostatak što zahtevaju značajnije količine raspoloživih antitela u odnosu na druge serološke metode. Testovi precipitacije se izvode u tačnoj sredini ili na agaroznoj podlozi i baziraju se na vidljivom formiranju kompleksa antigen-antitelo (u obliku taloga odnosno precipitata ili zamućenja suspenzije) na mestu njihovog kontakta u slučaju primene odgovarajućih koncentracija reaktanata, odnosno antigena i antitela. Tokom difuzije u gelu (Ouchterlony, 1962) aplicirani antigen i antitelo migriraju kroz rešetkastu strukturu gela (najčešće agara) i u slučaju pozitivnih reakcija formiraju precipitacione linije na mestu spajanja antitelo-antigen.

U slučaju testa aglutinacije antitelo je vezano za neutralni nosač (crvena krvna zrnca, lateks, ćelije *Staphylococcus aureus*), a pozitivna reakcija antigen-antitelo se uočava formiranjem taloga (aglutinata) vidljivog golim okom ili preko mikroskopa (Naidu i Hughes, 2001). Test aglutinacije je osetljiviji od testa precipitacije i može se koristiti i u slučaju nižih koncentracija virusa (Walkey et al., 1992).

### *Enzimski imunoabsorbcioni test – ELISA test na ploči (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)*

Metoda Clark-a i Adams-a (1977) poznata kao enzimsko imunoabsorbcioni test, koja je po početnim slovima engleskog naziva testa dobila akronim ELISA je predstavljalo

revolucionarni iskorak u rutinskom testiranju velikog broja uzoraka. Originalna metoda, kao i modifikacije ELISA testa se i danas koriste u velikom broju laboratorija širom sveta za testiranje semena i sadnog materijala, ili predstavljaju prvi korak u detekciji virusa radi kasnije detaljnije karakterizacije virusa. ELISA test se izvodi na čvrstim polistirenskim pločama, u čije otvore (bunarčice) kod tzv. direktnog (DAS) ELISA testa se redosledom IgG antitelo-antigen (sok biljnog tkiva zaraženog virusom)-konjugovano antitelo sa enzimom - supstrat dodaju reaktanti, uz odgovarajuće periode inkubacije i pranja ploče. Antitelo je u proceduri konjugovano (spojeno) sa enzimom koji nakon dodatka supstrata daje bojenu reakciju. Intenzitet promene boje je upravo proporcionalan koncentraciji antigena u biljnom tkivu. U slučaju izostanka antigena, konjugovana antitela se ne vezuju u bunarčicama, te se pranjem ispiraju, zbog čega naknadno dodati supstrat ne reaguje sa enzimom, pa izostaje i bojena reakcija (Krstić i Tošić, 1994). Modifikacije DAS ELISA testa su TAS ELISA test (triple antibody sandwich), PAS ELISA test (protein A-sandwich) i druge. Prednost DAS ELISA testa u odnosu na do tada primenjivane serološke testove je u povećanju osetljivosti seroloških reakcija od 10 do 1000 puta i mogućnosti otkrivanja virusa u niskim koncentracijama u biljci.

### *Imunoenzimska metoda na papiru (Dot immunoblotting assay, DIBA)*

Metoda se može koristiti za detekciju virusa kako u biljci, tako i u vektoru (Naidu i Hughes, 2001). U slučaju ove metode biljni sok koji se testira na prisustvo virusa se prenosi na nitrocelulozni papir. Dalji koraci su nanošenje specifičnih antitela i antitela kože koja su specifična za antitela kunića, a koja su konjugovana enzimom (Krstić i Tošić, 1994). Radi vizualizacije reakcije nitrocelulozni papir se razvija kombinacijom hemikalija među kojima je i supstrat na koji enzim deluje, dajući bojenu reakciju. Druga mogućnost vizualizacije je korišćenje supstrata koji zrače, te se pozitivna reakcija registruje na filmu (Leong et al. 1986). Dalje modifikacije uključuju kombinacije elektroforeze i imunoenzimske metode, odnosno elektroforetsko-adsorpciono-imunoenzimska tehnika (electro-blot immunoassay, Western blot).

### *Metode detekcije na osnovu nukleinske kiseline virusa*

Prema Alemu (2015) primena seroloških metoda ima određenih nedostataka, pri čemu ističe da na sastav proteinskog omotača utiče svega 10% genoma virusa, te da je identifikacija na osnovu samog genoma pouzdanija. Pri identifikaciji na bazi nukleinske kiseline ciljna sekvenca može biti bilo koja karakteristična sekvenca genoma virusa, a ne samo deo koji kodira proteinski omotač (Naidu i Hughes, 2001).

### *Hibridizacija nukleinske kiseline*

U međunarodnim gen-bankama su deponovani podaci o redosledu nukleotida u celom genomu brojnih prouzrokovaca oboljenja, pa i biljnih virusa. Dati redosledi nukleotida karakteristični su za svaku vrstu virusa pojedinačno. Karakteristika nukleinskih kiselina (kako DNK, tako i RNK) je da sa komplementarnim spiralama u povoljnim uslovima

sredine stvaraju dvostruke lance, pri čemu se obrazovanje dvostrukog heliksa može instrumentalno utvrditi.

Ukoliko se genom koji je dobijen iz ispitivanog uzorka tokom detekcije dovede u smešu sa jednostrukom spiralom poznate sekvence, a za koju se smatra da je komplementarna genomu ispitivanog uzorka, stvaranje dvostrukog lanca označavaće pozitivnu reakciju, odnosno identifikaciju prouzrokovaca oboljenja, a izostanak obrazovanje dvostrukog lanca negativnu reakciju. U slučaju virusa čiji je genom DNK, pre procesa hibridizacije pristupa se razdvajanju dvostrukog lanca u jednostruku spiralu.

### *Lančana reakcija polimerizacije (Polymerase chain reaction, PCR)*

U svakom genomu koji karakteriše određenu taksonomsku jedinicu, pa i vrstu virusa postoje regioni koji su stabilni (konzervativni) i koji su tipični, jedinstveni samo za datu vrstu virusa. Ukoliko se tokom detekcije pomoću dva oligonukletida (tzv. prajmera) koji su komplementarni početku i kraju datog karakterističnog regiona, uspe inicirati stvaranje komplementarne replike datog regiona i umnožiti ga u velikom broju, tada smo dokazali da je ispitivani organizam isti kao organizam na osnovu kojih su sintetizovani prajmeri, odnosno izvršili smo pozitivnu identifikaciju. Rezultat PCR reakcije se vizualizuje putem elektroforeze, kada se umnožena sekvenca na gelu pojavljuje kao jasna traka sa istom molekularnom masom kao ciljna sekvenca virusa. U slučaju većine biljnih virusa pre navedenog procesa neophodno je prevesti RNK genom u DNK i tek nakon toga raditi PCR (tzv. reverzna transkripcija), te se metoda u ovom slučaju naziva RT-PCR. Modifikacijom originalne PCR reakcije omogućeno je da se u odjednom vrši reakcija prema više ciljnih sekvenci (multipleks PCR reakcija) čime se omogućava istovremena detekcija na prisustvo više fitopatogenih virusa. Osetljivost reakcije pri detekciji i do 20 fitopatogenih virusa je dalje povećana u metodi „multiplex nested PCR reakciji“. Primenom modifikacije metode nazvanom „Real time PCR“ pored identifikacije vrši se i kvantifikacija ciljnog organizma. Ova metoda je takođe našla široku primenu u dijagnostici fitopatogenih virusa (Alemu, 2015).

### *RFLP*

RFLP je skraćenica od engleskog izraza „restriction fragment length polymorphism“. Podrazumeva primenu restrikcioničkih enzima, koji prekidaju lanac nukleinske kiseline na specifičnim mestima, stvarajući fragmente nukleinskih kiselina karakterističnih dužina i broja za ciljani organizam. Posle PCR umnožavanja produkata vrši se vizualizacija putem elektroforeze.

### *Druge metode identifikacije*

Pored navedenih metoda u cilju detekcije i identifikacije virusa koriste se i DNK/RNK mikrobe (DNA/RNA microarrays), sekvenciranje RNK (NGS-next generation sequencing; RNA-Seq (Nagano et al., 2015), varijante PCR reakcije koje ne uključuju ponavljanje ciklusa reakcije kao što su HDA (Helicase Dependent Amplification; Vincent et

al., 2004), RPS (Recombinase Polymerase Amplification; Piepenburg et al., 2006), LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) i druge (Boonhan et al., 2014). U kojoj meri se svakodnevno istražuju nove metode u virusologije pokazuje i potreba za časopisima kao što je Journal of Virological Methods koja objavljuje samo radove iz te oblasti.

## IX UMNOŽAVANJE VIRUSA (JASNIĆ, S.)

Umnožavanje virusa predstavlja jednu od najinteresantnijih oblasti savremene virusologije, koja je bila znatno manje proučena od ostalih delova nauke o virusima. Međutim, izvanredan napredak istraživanja u pojedinim naukama, a pre svega molekularne biologije tokom poslednjih decenija doprineo je boljem i skoro potpunom saznanju o načinu umnožavanja virusa. Razvoj novih tehnika omogućio je upoznavanje i saznanje o organizaciji genoma i njegovoj funkciji u ovom procesu. Metode sekvencioniranja omogućile su da se utvrde kompletne nukleotidne sekvence genoma kod većine biljnih virusa kao i broj, veličina i funkcija aminokiselina - produkta ovih sekvenci, odnosno gena virusa. Prvi virusni genom, koji je bio sekvencioniran je DNK genom virusa mozaika karfiola (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV) (Franck et al., 1980), a sledeći je bio RNK genom virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) (Goellet et al., 1982). Tako su već u 2000. godini sekvencionirani genomi oko 250 vrsta biljnih virusa, uključujući predstavnike najznačajnijih rodova (Hull, 2004). Danas je sekvencioniran veliki broj genoma biljnih virusa i utvrđena uloga i funkcija najvećeg broja sekvenci, odnosno gena na genomu biljnih virusa.

### *Opšte osobine genoma biljnih virusa*

Genom se sastoji od niza nukleotida u molekulu DNK koji obezbeđuje neophodnu informaciju za izgradnju i funkcionisanje organizma, sadrži kompletan set nasledne informacije organizma i definiše se kao ukupna DNK. Genom biljnih virusa razlikuju se po svojoj strukturi, hemijskom sastavu, organizaciji i građi. Prema vrsti nukleinske kiseline u genomu biljni virusi su podeljeni u više grupa.

1. Virus čiji genom sadrži jednospiralnu (jednolančanu) ribonukleinsku kiselinu sa pozitivnim znakom označen je kao ss(+) RNK (od engleskih reči single-strain=jednolančan=ss)
2. Virus čiji genom sadrži jednospiralnu RNK sa negativnim znakom ss (-)RNK. Detaljniji podaci o polaritetu jednospiralnih RNK izneti su u poglavlju hemijske osobine virusa. Kao što je poznato ribonukleinske kiseline su plus (+) ili minus (-) pola (polariteta), pa su označene kao + pozitivne spirale ili - minus negativne spirale RNK. Međutim polarnost (+ ili -) ne označava u ovom slučaju naelektrisanost molekula RNK, već se ove oznake određuju u odnosu RNK genoma prema informacionoj RNK (mRNK). Prema dogovoru virusologa svaka molekula mRNA se označuje kao (+)RNK jer se direktno (neposredno) prevodi u protein. Sve druge molekule RNK, koje su komplementne mRNA ali se ne mogu direktno prepisati u protein označuju kao minus (-) RNK.
3. Virus čiji genom sadrži dvospiralnu RNK označeni su kao dsRNK (double-strain=dvolančana RNK= ds). U dvospiralnoj ds RNK jedna spirala je uvek + (pozitivna), a druga - (negativna).
4. Virus čiji genom sadrži dvospiralnu DNK označen je kao dsDNK i
5. Virus čiji genom sadrži jednospiralnu DNK označen je kao ssDNK

Genom biljnih virusa ispoljava dve osnovne osobine a to su:

- Da je nosilac infektivnosti virusnih čestica, koja omogućava zaražavanje i parazitizam virusa biljaka domaćina.
- Da je nosilac genetske informacije neophodne za replikaciju kompletnih virusnih čestica „*in vivo*“. Kao što je poznato nosilac genetske informacije kod virusa može biti kako RNK, tako i DNK, po ovoj karakteristici virusi se bitno razlikuju od svih ostalih



živih organizama, kod kojih nosilac genetske informacije može biti samo DNK. Nukleinske kiseline ostvaruju ulogu genetske informacije pomoću gena koji su raspoređeni duž lanca nukleinske kiseline. Prenošenjem informacije nukleinske kiseline omogućuju nasleđivanje osobina od roditelja i prenošenje ovih osobina na potomstvo. Nasleđivanje osobina od roditelja se ostvaruje udvajanjem tj. replikacijom roditeljske nukleinske kiseline tokom umnožavanja, pri čemu novonastale replikovane nukleinske kiseline sadrže istu genetsku informaciju kao i roditeljska nukleinska kiselina.

### *Infektivnost virusnih nukleinskih kiselina*

Infektivnost virusnih nukleinskih kiselina tj. da li one mogu biti infektivne ili ne zavisi od fizičke celovitosti odnosno kompletnosti virusne čestice i od vrste nukleinske kiseline.

Da bi genomska nukleinska kiselina bila infektivna ona mora biti fizički potpuna tj. celovita sa nepokidanim fosfordiastarskim vezama usled delovanja fizičkih, hemijskih ili enzimskih činilaca.

Vrsta nukleinske kiseline koja sačinjava genom ima presudan uticaj na infektivnost virusne čestice. Jednospiralna RNK sa pozitivnim znakom (ss(+) RNK) koja ujedno funkcioniše i kao informaciona RNK (mRNK- engleski messenger RNK tj. RNK prenosilac informacija) po ulasku u ćeliju biljke domaćina je obično infektivna. Međutim infektivnost ovih genoma je značajno niža u odnosu na infektivnost kompletne (cele) virusne čestice (RNK+ kapsid). Smatra se da je smanjena infektivnost nekompletnih virusnih čestica bez kapsida posledica dejstva enzima nukleaza, koje mogu brzo da razgrade RNK smanjujući stepen infektivnosti. Kod manjeg broja virusa koji imaju mali protein (VPg) kovalentno vezan za 5' kraj ss(+) RNK genoma, ovaj protein je neophodan za ispoljavanje infektivnosti RNK. Neki virusi, kao na primer virus mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*, AMV) zahtevaju prisustvo proteinskog omotača ili mRNK za ispoljavanje infektivnosti.

Virusi sa ss(-)RNK genomom se transkribuju tj. prepisuju u informacionu RNK (mRNK). Prepisivanje se vrši pomoću virusno kodiranog enzima u virusnoj čestici. Ako je ovaj enzim odsutan, genomska RNK sa negativnim znakom nije infektivna, što znači da je prisustvo ovog enzima potrebno za infektivnost ovih virusa.

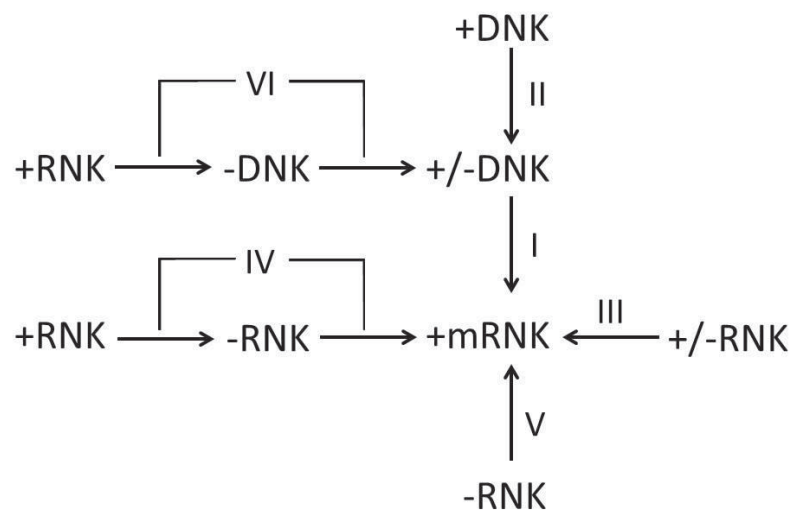
Virusi sa dvospiralnim RNK (dsRNK) genomom takođe sadrže virusno kodiran enzim koji prepisuje genomske RNK u informacione. U odsustvu ovog enzima dsRNK genom ne može da ispolji infektivnost

Virusi sa dvospiralnim DNK (dsDNK) i jednospiralnim DNK (ssDNK) genomima koriste biljne enzime za stvaranje informacione RNK (mRNK) u početku replikacije, zbog toga su ove DNK infektivne i u odsustvu virusno kodiranih enzima.

### *Informacioni sadržaj virusnih nukleinskih kiselina*

Virusni genom obuhvata regione, odnosno sekvence za šifrovanje ili kodiranje tzv. kodirajuće regione, koji se prepisuju (transkribuju) odnosno ispoljavaju u potrebne proteine za ciklus infekcije i replikacije u domaćinu, kretanje virusa kroz biljku, prenošenje virusa između domaćina i druge osobine, kao i regije koji se ne prepisuju tzv. nekodirajuće regione koji kontrolišu odnosno upravljaju ispoljavanjem i replikacijom genoma virusa. U regionima za kodiranje nalazi se informacioni sadržaj genoma. Međutim, virusni genomi svoj informacioni sadržaj, mogu da ispolje samo preko informacionih ribonukleinskih kiselina

(Baltimore, 1971), koje su označene kao mRNK (od engleske reči messenger= glasnik, nosilac poruke ili informacije). S obzirom na različite genomske nukleinske kiseline virusi različitim putevima odnosno mehanizmima ostvaraju svoje informacione RNK (mRNK), koje su neophodne u realizaciji njihovih genetičkih informacija odnosno ispoljavanja genoma i prenošenja naslednih poruka. Na osnovu stvaranja informacionih RNK (mRNK) Baltimore (1971) je svrstao sve viruse u šest grupa (Slika IX.1.). Informacionu RNK označio je kao pozitivnu (+) molekulu, a sve molekule (spirale) virusnih nukleinskih kiselina koje su komplementarne molekuli mRNK označio kao minus (-) molekule. Biljni virusi su po načinu sinteze mRNK svrstani u pet grupa po Baltimore-u.



Slika IX.1. Šematski prikaz ispoljavanja virusnog genoma preko informacione RNK (mRNK)

Na slici 1 je prikazana šema ispoljavanja različitih tipova genoma preko mRNK, odnosno sinteza mRNK kod različitih tipova genoma.

Tako oznaka I predstavlja šematski prikaz prepisivanja dsDNK u mRNK pomoću enzima DNK zavisne RNK polimeraze domaćina. Dvospiralna (+/-) DNK se prvo razdvaja na dve spirale + i - koje se mogu prepisati u jednospiralnu mRNK pomoću DNK zavisne RNK polimeraze. Dvospiralnu DNK imaju biljni virusi iz porodice *Caulimoviridae*.

Oznaka II na slici br. 1. predstavlja način prepisivanja jednospiralne (ss)+DNK u mRNK. Jednospiralna DNK (ss(+))DNK služi kao matrica za stvaranje ds (+/-)DNK koja se prepisuje u mRNK. Ovaj tip genoma sadrže virusi iz porodice *Geminiviridae*.

Oznaka III prikazuje proces prepisivanja dvospiralne +/- RNK pomoću virusno kodiranog enzima RdRp (RNK zavisna RNK polimeraza) ili transkriptaze u mRNK. Dvospiralna +/- RNK se razdvaja na dve spirale + i -. Na osnovu + spirale, koja služi kao model, nastaju nove + spirale, koje mogu funkcionisati kao mRNK. U prvoj fazi dolazi do sinteze samo ss (+)RNK a kasnije se sintetišu lanci sa - predznakom ss(-)RNK. Ovaj tip genoma imaju virusi iz porodice *Reoviridae*.

Oznaka IV predstavlja šemu procesa prepisivanja jednospiralnih ss(+))RNK pomoću virusno kodirane RdRp u mRNK. Jednospiralne ss (+)RNK služe kao kalup za prepisavanje u jednospiralnu -RNK a ova se prepisuje u + spiralu RNK, koja predstavlja ujedno i

genomsku i mRNK. Najveći broj biljnih virusa ima ovaj tip genoma. Prema Baltimore-u (1971) jednospiralne RNK sa pozitivnim znakom ss(+)RNK kod mnogih rodova biljnih virusa mogu vršiti ulogu mRNK direktno po ulasku u ćeliju domaćina bez procesa prepisivanja.

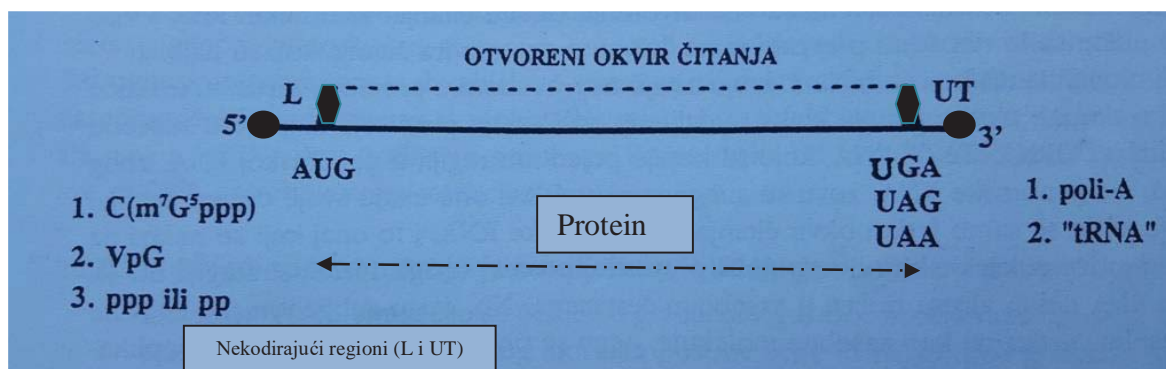
Oznaka V predstavlja prepisivanje minus (-) jednospiralne ss (-)RNK pomoću RdRp u mRNK. Ovaj tip genoma imaju biljni virusi iz porodice *Rhabdoviridae*, kao i virusi iz roda *Tospovirus*. Prepisivanje ss(-)RNK teče tako, što se na osnovu ss(-)RNK koja služi kao kalup, stvara najpre komplementarna ss(+)RNK koja predstavlja mRNK ili se na bazi ove ss(+)RNK, kao kalupa sintetizuje genomski ss(-)RNK.

U VI grupu prema Baltimoru ne spadaju biljni virusi, jer ona obuhvata viruse kičmenjaka sa ss(+)RNK koji se odlikuje rezervnom transkripcijom koja dovodi do stvaranja dsDNK. Dvospiralna DNK služi kao kalup za transkripciju u mRNK.

Kada potpuna virusna čestica tj. virusna čestica sa proteinskim omotačem dospe u osetljivu biljnu ćeliju, genom se prvo mora osloboditi od relativno stabilnog proteinskog omotača. Ovaj proces se najčešće dešava pomoću ribozoma 80s ćelije domaćina koji se kače za genom i vrše skidanje kapsida. Kad genom postane pristupačan tj. bez proteinskog omotača, tada počinje direktno prevođenje, ako je u pitanju ss(+)RNK u mRNK ili se prevodi na druge indirektno načine u mRNK kod ostalih nukleinskih kiselina (Slika IX.1).

## *Prepisivanje preko mRNK*

Teorijski, jedna nukleinska sekvenca, odnosno region za kopiranje u virusnom genomu mogla bi da kopira odnosno prepíše preko mRNK do 12 polipeptida-proteina. Da bi se ovo ostvarilo trebalo bi da postoji po jedan otvoreni okvir čitanja u svakom od tri otvorena okvira čitanja na genomu odnosno šest otvorenih okvira čitanja po tri na pozitivnom i negativnom lancu nukleinskih kiselina, što ukupno daje šest polipeptida. Za kodiranje više od šest polipeptida virusni genom koristi više strategija o kojima će dalje biti reči u tekstu. Definicija otvorenog okvira čitanja koji se obeležava sa ORF (od engleskih reči: open reading frame= otvoreni okvir čitanja) je da jedan ORF sačinjava nukleotidni niz na genomu koji počinje tripletom baza AUG (adenin, uracil i guanin) koji se naziva inicijalni kodon, a završava jednim od tri završna ili stop kodona, koji sačinjavaju sledeći tripleti baza: UGA (uracil, guanin, adenin), UAG (uracil, adenin i guanin) ili UAA (uracil, adenin i adenin). Ti tripleti baza (kodoni) na navedenim mestima karakteristični su za informacione RNK (mRNK). Prema tome nukleotidni niz omeđen inicijalnim i stop kodonom predstavlja otvoreni okvir čitanja, koji se prepisuje u određeni protein (Slika IX.2.). Kod malog broja virusa neki otvoreni okviri čitanja izgleda da polaze od početnog inicijalnog kodona koji nije konvencionalan inicijalni kodon sastavljen od AUG tripleta baza. Prepisivanje ovih ORF u proteine je znatno manje efikasno u odnosu na uobičajene ORF gde je inicijalni kodon AUG. Tako na primer kod genoma baciliformnog tungro virusa pirinča (*Rice tungro bacilliform virus*, RTBV) postoje tri ORF koji započinju sa konvencionalnim inicijalnim kodonom AUG a završavaju se sa stop kodonom. Međutim Fütterer et al. (1996) su utvrdili da se kod ovog virusa nalazi region nazvan ORF I koji prevođenje u protein započinje kod startnog kodona sastavljenog od tripletnih baza AUU (adenin-uracil-uracil). Međutim efikasnost translacije u protein bila je oko 10% u odnosu na ORF koji je imao konvencionalni AUG inicijalni kodon.



Slika IX.2. Šematski prikaz otvorenog okvira čitanja (ORF)

Takođe je kod virusa mozaika pšenice prenošljivog zemljištem, tzv američkog mozaika pšenice (*Soil-borne wheat mosaic virus*- SBWMV) utvrđeno je da prevođenje proteina od 28 kDa započinje od inicijalnog kodona CUG (citozin-uracil-guanin) (Shirako i Wilson, 1993; Shirako, 1998). Ovakvi otvoreni okviri čitanja na genomu virusa koji ne polaze od konvencionalnog inicijalnog kodona AUG su veoma retki i obično neefikasni u prevođenju ovih ORF u odgovarajući protein.

Genomske ss (+)RNK imaju više otvorenih okvira čitanja koji su raspoređeni duž genoma. Praktično svaki ORF može se smatrati kao jedan gen na virusnom genomu. Broj gena kod biljnih virusa kreće se od jedan kod satelitnog virusa vezanog za virus nekroze duvana (*Satellite virus of Tobacco necrosis virus*-STNV) do 12 gena kod nekih virusa iz porodice *Reoviridae*. Najveći broj virusa sa ss(+)RNK genomima ima između 4 i 7 gena, kao što je napred rečeno. Osim kodirajućih regiona nukleinske kiseline sadrže i nekodirajuće regione tzv. CIS- delujuće nukleotidne sekvence sa funkcijama za raspoznavanje, odnosno prepoznavanje pojedinih produkata virusa i funkcijama za kontrolu procesa značajnih za replikaciju virusa. Ovi regioni obično se nalaze kod 5' i 3' krajeva ss(+)RNK genoma virusa, ali mogu takođe da se javljaju i u unutrašnjosti genoma između otvorenih okvira čitanja (ORF) pa čak i unutar sekvenci za kodiranje.

U eukariotskom sistemu sinteze proteina tj. kod organizama sa diferenciranim jedrom koje parazitiraju biljni virusi, ribozomi (80S) biljke domaćina mogu najčešće da prevedu, tj. prepisu samo jedan ORF u protein. Ovakve RNK su monocistranske tj. one prepisuju pomoću 80S ribozoma samo jedan ORF koji je obično neposredno kod 5' kraja genoma. Ovo prepisivanje se vrši od 5' kraja u pravcu 3' kraja mRNK. Ostali ORF bliži 3' kraju genoma ostaju neprevedeni u proteine. Opšte je prihvaćeno da se pomoću ćelijskog sistema eukariotske sinteze proteina prevode i informacije iz virusnih informacionih ribonukleinskih kiselina (mRNK) u proteine virusa. Ovaj sistem ima različite karakteristike u upravljanju i kontroli sinteze proteina (Gallie, 1996). Ćelijske informacione RNK (mRNK) kao i virusne imaju kapu od 7 metil gvanozina vezanog pomoću 5'-5' trifosfatne veze na 5' kraju i poliadenilni rep na 3' kraju genoma. U najvećem broju slučajeva mRNK sadrže jedan otvoreni okvir čitanja (ORF). Prevođenje (translacija) u početku započinje kod AUG inicijalnog- startnog kodona na genomu koji upravlja efikasnošću započinjanja prevođenja (Kozak, 1989,1992). Kapa kod 5' kraja i region kod 3' kraja, kao i poliadenilni rep na 3' kraju su neprevodivi delovi mRNK, koji imaju znatan uticaj na efikasnost prevođenja i stabilnost mRNK. Prema istraživanjima Kozaka (1989, 1992) proces eukariotske sinteze se dešava tako što dolazi do vezivanja ribozoma za 5' kapu i njihovog kretanja od kape preko

neprevodivog dela oko kape i njihovog premeštanja do početnog inicijalnog AUG kodona od koga nastaje prevođenje u protein samo onog ORF koji se nalazi neposredno kod regiona 5' kraja u pravcu od 5' ka 3' kraju mRNK. Kod stop kodona ovog ORF ribozomi se odvajaju od genoma. Otvoreni okviri čitanja (ORF) s druge strane stop kodona u pravcu 3' kraja ostaju neprevodivi. Kao što je poznato virusni genomi osim onih kod satelitskih virusa, kodiraju dva ili više proteina i zbog toga postoji problem kako će se ovi proteini ispoljiti i prepisati u proteine iz ostalih ORF koji se nalaze u pravcu 5' ka 3' kraju genoma iza prvog ORF u eukariotskom sistemu sinteze proteina. Virusi ove probleme savlađuju korišćenjem više strategija, a prema sadašnjem saznanju postoji pet osnovnih strategija pomoću kojih virusne mRNK ostvaruju da svi njihovi ORF budu prevedeni u odgovarajuće proteine u eukariotskom sistemu sinteze proteina. To su sledeće strategije:

### *Strategija subgenomske RNK (SgRNK)*

Subgenomske RNK (SgRNK) se sintetizuju tokom virusne replikacije iz genomske RNK koja sadrži više nego jedan otvoreni okvir čitanja (ORF) stvarajući u pravcu 5' → 3' genoma skraćene nepotpune verzije genomske RNK. Sinteza jedne ili više informacionih subgenomskih RNK (Sg RNK) omogućava da svaki ORF udaljen od 5' kraja u pravcu 3' kraja, tj. u regionima blizu 3' kraja bude preveden u odgovarajuće proteine. Virusi prvo prepisuju delove genoma u (-) RNK a zatim u (+)RNK koje ustvari predstavljaju kopije pojedinih regija u otvorenim okvirima čitanja (ORF) na genomu. Ovi delovi su kraći od genoma i nazivaju se subgenomske RNK (SgRNK). One imaju takođe svoje ORF. Karakteristično je da se samo jedan ORF kod SgRNK, i to onaj koji se nalazi na samom 5' kraju SgRNK može pomoću eukariotskih ribozoma da se prevede u protein. SgRNK nekih virusa nalaze se u posebnim česticama, ali često SgRNK ne postoje (ne nalazi) u virusnim česticama kao posebni molekuli, nego se one stvaraju u fazi replikacije virusa. Korišćenje subgenomskih RNK je široko rasprostranjeno kod virusa biljaka, kao strategija koja omogućava otklanjanje ograničenja u prevođenju genoma sa više ORF u eukariotskom sistemu sinteze proteina. Sinteza SgRNK vrši se pomoću dva mehanizma od kojih su oba usko povezana sa replikacijom virusa. Oba ova mehanizma sinteze SgRNK su kontrolisana sistemom subgenomskih promotera (pokretača), pomoću kojih bivaju prepoznata mesta gde započinje sinteza SgRNK. Na genomu virusa elementni subgenomskih promotera se nalaze kako u intergenskim tako i u regionima za kodiranje. Regioni promotera SgRNK formiraju izražene sekundarne strukture u obliku omče na genomu kao na primer kod virusa kovrdžavosti postrne repe (*Turnip crinkle virus*, TCV) (Wang i Simon, 1997; Wang et al., 1999). Subgenetski promoteri su takođe bili utvrđeni i kod genoma virusa nekroze krastavca (*Cucumber necrosis virus*, CNV), virusa mozaika Bromusa (*Brome mosaic virus*, BMV) (Johnson i Rochon, 1995) kao i kod X-virusa krompira (*Potato virus X*, PVX) (Kim i Hemenway, 1996).

### *Strategija poliproteina*

Kod ove strategije virusna genomska RNK služi kao monocistronska mRNK tj. njenim prevođenjem nastaje jedan polipeptid, odnosno protein gde se čitav genom iz pojedinačnog (jednog) ORF prevodi u samo jedan protein. Protein se tada cepa kod specifičnih mesta pomoću enzima proteaza, kodiranih od virusa, dajući više proteina kao

finalne produkte gena. Četiri vrste virusno kodiranih proteaza su do sada poznate i to serinske, cisteinske i asparaginske proteaze koje kodiraju biljni virusi i metalo proteaze kodirane od ostalih virusa (Ryan i Flint, 1997). Ove proteaze nazvane obično po njihovim katalitičkom mestu su visoko specifične za supstrate istog porekla. Specifičnost je uslovljena i zavisi od trodimenzionalnih struktura, kako proteaza tako i odgovarajućih supstrata. Ova strategija zastupljena je kod virusa iz roda *Potyvirus* i nekih drugih biljnih virusa.

### *Strategija višedelnih (multikomponentalnih) genoma*

Kod virusa sa višedelnim genomima svaki gen kod 5' kraja u svakom segmentu genoma može biti preveden u odgovarajući protein.

### *Strategija u kojoj proteini nastaju čitanjem preko stop kodona ili tzv. strategija preklapajuće translacije*

Ova strategija se zasniva na tome da završni, odnosno stop kodon na ORF kod 5' kraja genoma može biti propustljiv. Ova osobina propustljivosti dozvoljava izvesnom broju ribozoma da nastave prevođenje (translaciju) preko stop kodona ORF u pravcu 3' kraja do sledećeg stop kodona prouzrokujući stvaranje drugog dužeg polipeptida koji se jednim svojim delom u potpunosti preklapa sa kraćim nastalim u okviru prvog ORF. Stop kodoni imaju različitu efikasnost zaustavljanja ribozoma. Najefikasniji stop kodon u zaustavljanju ribozoma je kodon sastavljen od tripleta baza UAA, manje je efikasan kodon UAG a najmanje efikasan UGA (UAA>UAG>UGA) (Stansfield et al., 1995). Poznato je da preko kodona UAG i UGA ribozomi mogu preći bez zaustavljanja dok nema primera o propustljivosti UAA stop kodona. Sinteza proteina preko stop kodona zavisi prvenstveno od prisustva odgovarajućih supresornih transportnih RNK (tRNK), koje prigušuju dejstvo stop kodona i omogućuju njihovu propustljivost za ribozome. Tako na primer dve tRNK<sup>tyr</sup> (transportna RNK vezana za tirozin) iz biljaka duvana su se pokazale da potpomažu i omogućuju propustljivost stop UAG kodona odnosno očitavanje preko ovog kodona prilikom translacije mRNK kod virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus-TMV*) (Beier et al., 1984). Strategija čitanja preko stop kodona utvrđena je kod najmanje 17 rodova biljnih virusa a karakteristična je kod sva tri roda porodice *Luteoviridae* i kod najvećeg broja rodova porodice *Tombusviridae*. Proteini koji se proizvode pomoću ove strategije su ili replikaze (*Tombusviridae*) ili proteini za koje se misli da su uključeni u interakcije prenošenja virusa vektorima (*Luteoviridae*).

### *Strategija u kojoj proteini nastaju prenošenem (transvertovanem) otvorenog okvira čitanja (ORF)*

Mehanizam ove strategije se zasniva na tome da dva proteina mogu započeti proces translacije (prevođenja) kod istog start kodona AUG jednog ORF kod 5' kraja genoma. Jedan protein, pomoću ribozoma, završava prevođenje kod stop kodona prvog ORF, a drugi duži protein nastaje pomoću pomeranja odnosno premeštanja (transvertovanja) otvorenog okvira čitanja (ORF) u drugi ORF preko terminalnog stop kodona. Pri 5' kraju proteini formirani pomeranjem okvira čitanja tzv. transokvirni proteini su oni koji nastaju tako što ribozom

izbegava tj. poništava stop kodon pomoću prebacivanja u drugi ORF. Ovaj protein nastaje slično kao kod strategije propustljivog stop kodona odnosno čitanja preko stop kodona. Ova strategija pomeranja (translacije) okvira čitanja nastala je premeštanjem odnosno menjanjem ORF koji dozvoljava ribozomu da premosti stop kodon i kod 3' kraja genoma u jednom ORF i da se premesti u drugi ORF tako da se translokacija nastavlja do sledećeg stop kodona u drugom ORF. Ova strategija je utvrđena kod najmanje devet rodova biljnih virusa a tipična je za viruse iz porodica *Closteroviridae*. Na ovaj način nastaje drugi duži protein tzv. protein nastao premeštanjem, odnosno transvertovanjem ORF.

Samo manji broj biljnih virusa sa ss(+)RNK genomima koristi jednu strategiju za stvaranje proteina. Većina biljnih virusa koriste dve ili tri različite strategije ili kombinaciju strategija (Tabela IX.1.).

Tabela IX.1. Strategije genoma različitih rodova virusa sa ss(+)RNK u translaciji proteina

Broj	Strategija	Rod virusa	Broj otvorenih okvira čitanja na genomu	Broj virusno kodiranih proteina
I	Jedna strategija-poliprotein	<i>Potyvirus</i>	1	8
II	Jedna strategija-subgenomske RNK (SgRNK)	<i>Potexvirus</i> <i>Tombusvirus</i>	5 ≥3	4-5 ≥3
III	Dve strategije-SgRNK+očitavanje preko kodona	<i>Tobamovirus</i>	5	4-5
		<i>Luteovirus</i>	6	6
		<i>Carmovirus</i>	5	7
IV	Dve strategije-SgRNK+ poliprotein	<i>Tymovirus</i>	3	3-4
		<i>Sobemovirus</i>	4	4-5
V	Dve strategije-višedelni genom+ poliprotein	<i>Comovirus</i>	2	9
		<i>Nepovirus</i>	2	5
VI	Dve strategije: SgRNK+ višedelni genom	<i>Bromovirus</i>	4	4
		<i>Cucumovirus</i>	4	4
		<i>Alfalfa mosaic virus</i>	4	4
		<i>Ilarvirus</i>	4	4
		<i>Hordeivirus</i>	7	7
VII	Tri strategije: SgRNK+ višedelni gen+ očitavanje preko kodona ili pomeranje otvorenog okvira čitanja	<i>Tobravirus</i>	5	5-6
		<i>Furovirus</i>	9	6-9
		<i>Dianthovirus</i>	-	4

Ove strategije omogućavaju da se kod nekih virusnih čestica sa malim i kratkim mRNK povećava stvaranje proteina, a posebno proteina kapsida.

Kod nekih virusa parazita prokariota virusni RNK genom može da služi i kao policitronska mRNK tj. njenom translacijom nastaje nekoliko manjih virusnih proteina. Takvo očitavanje gena sreće se kod prokariota (organizmi bez diferenciranog jedra, kao što su bakterije i dr.) Ovaj tip očitavanja gena opisan je i kod faga-virusa parazita bakterija. Do ove pojave dolazi zato što se ribozomi vezuju na više mesta na lancu u RNK genoma a ne samo kod 5' kraja, kao što je slučaj kod eukariotskih organizama. Takvo ispoljavanje genoma javlja se i kod virusa nekroze duvana (*Tobacco necrosis virus*- TNV) i još veoma malog broja biljnih virusa.

### *Sinteza proteina*

Među najznačajnije produkte virusnih gena spadaju proteini, koji ulaze u sastav proteinskog omotača i vrše niz drugih funkcija kod virusa. Sinteza proteina vrši se pomoću ćelijskih ribozoma 80s posredstvom dve vrste ribonukleinskih kiselina, informacione RNK (mRNK) i transportne RNK (tRNK). Informaciona RNK (mRNK) svojom genomskom šifrom određuje redosled aminokiselina koje se međusobno vezuju i na taj način sintetišu određeni protein. Transportna ribonukleinska kiselina dešifruje ovu poruku i donosi po određenom redosledu aminokiseline neophodne za sintezu proteina. Po istom mehanizmu ćelija domaćina sintetiše proteine, koji su potrebni za građu virusa. Za usmeravanje ove funkcije neke RNK virusa se preobraćaju u informacionu RNK (mRNK) koje svojom porukom opredeljuju sintezu proteina specifičnih za vrstu virusa. Prepisivanje RNK virusa u mRNK za sintezu proteina naziva se transkripcija. Dopremanje potrebnih aminokiselina za ovu sintezu obavlja ćelijska transportna RNK (tRNK) i ovaj proces se zove translacija. Poznato je da mRNK u svojim bazama A (adenin), U (uracil), G (guanin) i C (citozin) sadrži informacije (poruke) koje određuju proteosintezu. U izboru jedne aminokiseline učestvuje uvek kombinacija tri baze (tripleti baza-kodoni). Različitom kombinacijom baza vrši se izbor različitih aminokiselina koje se po određenom redosledu slažu pomoću transportne RNK u niz i tako sintetišu određene proteine virusa.

### *Funkcije produkata virusnih gena*

Danas su poznate funkcije najvećeg broja produkata virusnih gena odnosno proteina, nastalih prepisivanjem informacija pomoću mRNK koje se nalaze unutar otvorenih okvira čitanja (ORF). Poznate funkcije proteina kod biljnih virusa mogu biti svrstane u strukturne i funkcionalne proteini.

### *Strukturni proteini*

U ove proteine spadaju proteini omotača (kapsida) malih virusa, matriksa, jezgra ili nukleoproteini virusa rodova *Reovirus*, *Tenuivirus* i onih virusa sa lipoproteinskom membranom ili ovojnicom, kao i proteini nađeni unutar takvih membrana.

### *Funkcionalni proteini*

U ovu kategoriju spadaju proteini koji vrše određene funkcije u procesu replikacije virusa, kao što je umnožanje nukleinskih kiselina i kontolisanje procesa umnožavanja virusa.



Oni takodje obavljaju i druge funkcije u životnom ciklusu virusa kao što je kretanje virusa u biljkama, prenošenje virusa vektorima i učestvovanje u drugim funkcijama virusa.

Funkcionalni proteini obuhvataju sledeće grupe: enzimi; proteini za kretanje i premeštanje virusa; proteini sa neenzimskom ulogom; proteini prepoznatljivi od strane ćelija domaćina.

## *Enzimi*

### *Proteaze*

Proteaze su proteini kodirani od onih grupa virusa kod kojih se čitav genom ili segment genoma prvo prevodi u samo jedan poliprotein, koji tada biva cepan na specifičnim mestima pomoću proteaza na manje proteine (Wellink i van Kammen, 1988). Kod biljnih virusa utvrđene su serinske, cisteinske i asparaginske proteaze, nazvane po njihovim katalitičkim mestima.

### *Polimeraze- enzimi uključeni u sintezu nukleinskih kiselina virusa*

Danas postoji velika verovatnoća da svi virusi biljaka, izuzev satelitskih virusa, kodiraju jedan ili više proteina koji imaju enzimske funkcije u sintezi nukleinskih kiselina ili genomskih ili informacionih ili obe vrste. Opšti naziv za ove enzime je polimeraza. Međutim u literaturi postoje određena neslaganja u odnosu na nazive koji se koriste za različite polimeraze. U ovoj knjizi korišćiće se sledeći nazivi za određene polimeraze, koje učestvuju u katalizaciji prepisivanja određenih nukleinskih kiselina: polimeraze koje učestvuju u procesu prepisivanja RNK genoma od RNK kalupa (template) nazivaju se opštim imenom RNK zavisne RNK polimeraze i obeležavaju skraćeno RdRp (od engleskih reči: RNA dependent RNA polymerase-RdRp). U sastavu RdRp enzima postoje karakteristične aminokiselinske sekvence, među kojima je najtipičnija sekvenca gly (glicin)-asp(asparagin)-asp(asparagin) (gDD)(Kamer i Agros, 1984). Ovaj tip sekvenci ukazuje da je struktura ovih enzima u obliku dva antiparalelna  $\beta$  lanca, koja su povezana pomoću kratke omče (ili petlje). Proučavanjem daljeg redosleda sekvenci kod RdRp enzima je utvrđen niz zajedničkih karakterističnih sekvenci (Poch et al., 1989; Koonin, 1991; Koonin i Dolja, 1993). Na bazi ovih tipičnih sekvenci ovi enzimi su klasifikovani ili svrstani u tri grupe, koje se javljaju kako kod virusa kičmenjaka tako i kod virusa biljaka. Članove supergrupe 1 RdRp karakteriše osobina da obično RNK genom iz kojeg se oni transkribuju ima segment na 5' kraju koji predstavlja VPg (protein vezan za genom virusa) i ispoljava njegovu genetsku informaciju kao poliprotein. Članovi super grupe 2 i 3 karakterišu se da imaju jedan do nekoliko segmenata na RNK genomu koji se često na 5' kraju završava kapom (5'-kapa), a individualni geni se prevode u proteine. Kompleks enzima, koji vrše kopiranje čitavog genoma RNK i subgenetskih ribonukleinskih kiselina (SgRNK) nazivaju se replikaze. Replikaze vrše tri ili više enzimskih virusno kodiranih aktivnosti povezanih sa replikacijom pozitivnog (+) lanca RNK virusa i obuhvataju aktivnosti RdRp (RNK zavisne RNK polimeraze) helikaze i metiltransferaze (Ishihama i Barbier, 1994; Buck, 1996). Ovi zbirni enzimi poznati su kao virusne replikaze. Ako se RdRp nalazi kao funkcionalni deo unutar virusne čestice, kao kod virusa iz porodica *Rhabdoviridae* i *Reoviridae*, ovaj kompleks se tada naziva transkriptaze. Enzim kodiran od vrsta virusa iz porodice *Caulimoviridae* koji kopira (prevodi) punu dužinu virusne RNK u genomsku DNK se naziva RNK zavisna DNK polimeraza ili reverzna transkriptaza. Kod virusa iz porodice *Geminiviridae* enzim se naziva DNK zavisna DNK polimeraza i produkt je više povezanih gena sa enzimom DNK zavisnom DNK polimerazom biljke domaćina.

### *Helikaze*

Utvrđena je i druga velika grupa proteina koja je nazvana nukleokiselinske helikaze (Kadarec i Haenni, 1997; Bird et al., 1998). Smatra se da je ovaj kompleks enzima-helikaza uključen u odmotavanje spirala nukleinskih kiselina i učestvovanje u replikaciji, rekombinaciji, montiranju i ispoljavanju DNK i RNK genoma. Helikaze predstavljaju poliproteine zavisne od trifosfatnih (NTP) fosfataza koje poseduju aktivnost premeštanja jednospiralne (ss)DNK ili (ss)RNK. Njihova uloga je od presudnog značaja u replikaciji genoma kao i u njegovoj rekombinaciji tj. ponovnom spajanju u dvostruke (dvolančane) nukleinske kiseline, pomoću premeštanja komplementarnih lanaca i prenošenja sekundarne strukture nukleinskih kiselina, koje služe kao kalupi (template). Helikaze sa dvodelnim proteinom vrše odmotavanje, odnosno razdvajanje dvolančanih RNK (dsRNK). Za svoje aktivnosti neke helikaze zahtevaju jednospiralne RNK (ssRNK) sa bočnim 3' krajem, a druge ssRNK sa bočnim 5' krajem. Na osnovu toga ove helikaze su poznate kao 3'→5', odnosno 5'→3' helikaze. Na bazi sastava aminokiselinskih sekvenci helikaze su podeljene u pet super familija (Gorbalenya i Koonin, 1993) od kojih tri deluju na viruse sa + (pozitivnim) lancem RNK. Neki virusi mogu da koriste helikaze svojih domaćina. Međutim, najveći broj biljnih virusa kodira svoje sopstvene helikaze.

### *Metiltransferaze*

Metiltransferaze predstavljaju enzime čija aktivnost dovodi do stvaranja „kape“ na 5' krajevima ribonukleinskih kiselina (Schuman i Schwer, 1995). Prema tome samo kod onih virusa koji imaju kapu od metilgvanozina tzv m<sup>7</sup>G5' kapu potrebna je aktivnost ovog enzima.

### *Proteini za kretanje i premeštanje virusa*

Kod mnogih biljnih virusa utvrđeni su od virusa kodirani proteini kao neophodni za kretanje virusa iz ćelije u ćeliju i za njihovo sistemično kretanje unutar biljke domaćina. Druga vrsta proteina sa tzv. akvizicionim faktorima odnosno faktorima za usvajanje je veoma bitna i neophodna za uspešno prenošenje virusa pomoću vektora u koje spadaju beskičmenjaci (kao što su insekti i dr.) i gljive.

### *Proteini sa neenzimskom ulogom*

U ovu grupu proteina spada:

1) mali protein vezan za genomsku RNK na 5' kraju tzv. VPg protein (virus protein genome linked = VPg) koji je utvrđen kod nekih rodova biljnih virusa. VPg protein ima funkciju prajmera tj. mesta započinjanja sinteze RNK genoma.

2) proteinski omotač (kapsid) virusa mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus-AMV*) kao i kod nekih virusa iz roda *Ilarvirus* ima glavnu ulogu u započinjanju infekcije virusnom RNK i služi kao prajmer za započinjanje sinteze negativnog (-) lanca RNK na mRNK.

### *Proteini prepoznatljivi od strane ćelija domaćina*

Za raspoznavanje signala (markera) na površini odgovarajućih ćelija domaćina većina virusa parazita bakterija i životinja kodira virusne proteine za prepoznavanje površine ćelija domaćina. Međutim, takve proteine ne kodiraju biljni virusi. Zato postoje sledeći razlozi koji su povezani sa odnosom između biljaka domaćina i virusa. Pošto, kao što je poznato, virusi

ne mogu da prodru kroz površinske slojeve ćelija domaćina već samo preko povreda na površini tkiva ili preko ubacivanja vektorom, ne postoji potreba kod biljnih virusa za kodiranje proteina za raspoznavanje proteina na površini biljaka domaćina. Pored toga kad biljni virus zarazi ćeliju domaćina tada virusi mogu da se kreću od ćelije do ćelije kroz plazmodezme i kroz sudovno tkivo po celoj unutrašnjosti biljke. Iz tog razloga nema potrebe za specijalnim proteinom za raspoznavanje površine ćelije unutar domaćina. Međutim biljni virusi cirkulišu unutar njihovih vektora- insekata gde moraju da pređu različite barijere kao što su crevni trakt, pljuvačne žlezde i dr. Ove barijere virusi prelaze pomoću receptornih posebnih mehanizama. Mogući izuzeci među biljnim virusima su oni virusi sa lipoproteinskim omotačem koji mogu da se umnožavaju u insektima, njihovim vektorima i koji mogu da stvaraju površinske proteine, koji prepoznaju odgovarajuće proteine njihovih domaćina insekata-vektora.

### *Nekodirajući regioni na genomu virusa*

#### *Strukture 5' i 3' krajeva ribonukleinske kiseline (RNK) sa ss(+) RNK genomom*

U nekodirajuće (introni) regione genomske ss (+) RNK spadaju specifične terminalne strukture na 5' i 3' krajevima virusnih nukleinskih kiselina, koje imaju različite osobine (izgled, oblik, sastav i dr.), kao i nekodirajući intergenski regioni, koji ne vrše prepisivanje u proteine, a nalaze se unutar genoma između otvorenih okvira čitanja. Ove terminalne strukture na genomu su:

#### *Kapa na 5' kraju*

Mnoge ćelijske informacione RNK (mRNK) kod sisara i mRNK kod virusa parazita životinja imaju na 5' kraju terminalnu metilisanu (zasićenu metil alkoholom) grupu u obliku metilgvanozina ( $m^5G5'ppp^5x^{(m)}py^{(m)}$ ), gde su  $x^{(m)}$  i  $y^{(m)}$  metilisane baze. Kod biljnih virusa ovaj tip 5' kraja poznat je kao kapa, koja je sastavljena od metilgvanozina skraćeno označena kao Gpp. Biljni virusi sa kapom na 5' kraju genoma su iz rodova *Tobamovirus*, *Tobravirus*, *Tymovirus*, *Bromovirus*, *Cucumovirus*, *Alfamovirus*, *Carmovirus*, *Furovirus*, *Potexvirus* i *Hordeivirus*. Struktura kape na 5' kraju utiče na sledeće osobine biljnih virusa: infektivnost, stabilnost i efikasnost u prevođenju u proteine. Kod nekih virusa kapa je neophodna za ispoljavanje njihove infektivnosti, dok kod drugih njeno uklanjanje samo smanjuje infektivnost ovih virusa. Kapa na 5' kraju štiti ove nukleinske kiseline od dejstva egzonukleaza u ćeliji i doprinosi stabilnosti ovih virusnih čestica. Uticaj kape na efikasnost prevođenja u proteine je relativno mala kod većine virusnih mRNK, osim kod nekih virusa sa višedelnim genomima.

#### *Virusni protein vezan za genom (VPg) na 5' kraju*

Biljni virusi iz nekoliko rodova imaju na 5' kraju RNK virusno kodiran protein relativno male molekulske težine (~3500-24000 Da). Ovaj protein poznat kao VPg protein (od engleskih reči virus protein genome linked= virusni protein vezan za genom) je kovalentno vezan za 5' kraj genoma. Kod višedelnih virusa svi fragmenti virusnih čestica imaće vezan za 5' kraj isti VPg protein. Biljni virusi sa VPg proteinom na 5' kraju pripadaju rodovima *Potyvirus*, *Comovirus*, *Nepovirus*, *Sobemovirus* i *Luteovirus*. Utvrđeno je da uklanjanje VPg proteina sa 5' kraja RNK genoma dovodi do gubljenja infektivnosti kod nekih virusa, ali ne i

kod svih. Smatra se da VPg protein može takođe da ima ulogu u započinjanju sinteze RNK genoma.

### *Poliadenilni rep na 3' kraju*

Poliadenilne sekvence su utvrđene na 3' krajevima kod informacionih RNK (mRNK) različitih eukariotskih organizama. Iste takve sekvence nađene su i na 3' kraju virusa kod genomskih RNK virusa biljaka. Ove RNK mogu poslužiti i kao mRNK. Sekvence se razlikuju po dužini, koja iznosi od 25-400 ostataka baza adenina. Ove terminalne strukture označene skraćeno kao „poly A“ rep tj. poliadenilni rep prisutne su kod virusa iz rodova *Potyvirus*, *Potexvirus*, *Capillovirus*, *Comovirus*, *Nepovirus* i *Furovirus*. Izgleda da je „poly“ A sekvenca kodirana od genoma pomoću „poly“ U (uracil) sekvence na 5' kraju negativnog (-) RNK lanca. Međutim ova sekvenca može da nastane i na 3' kraju i posle sinteze RNK verovatno pomoću „poly“ A polimeraze domaćina. Neki virusi na svom genomu sadrže signal za poliadenilizaciju tj. stvaranje poly A repa. To je AUAAA sekvenca koja predhodi 3' kraju genoma. Smatra se da „poly“ A sekvenca ima ulogu u sintezi minus (-) lanca RNK.

### *Strukture slične transportnoj RNK (tRNK) na 3' kraju*

Terminalne sekvence na 3' kraju RNK genoma slične tRNK javljaju se kod virusa iz rodova *Tobamovirus*, *Tymovirus*, *Hordeivirus*, *Bromovirus* i *Caulimovirus*. Ove strukture slične tRNK mogu biti povezane sa specifičnim aminokiselinama, tako na primer kod virusa žutog mozaika postrne repe (TYMV) tRNK struktura na 3' kraju genoma je povezana za valinom a kod virusa mozaika duvana (TMV) sa histidinom. Uloga strukture slične tRNK na 3' kraju genoma kod nekih virusa može biti primanje i davanje aminokiselina u sintezi proteina, zatim u potpomaganju translacije, kao i mesta, koje prepoznaju virusne replikaze za koje se one mogu vezivati i tako započeti sintezu minus (-) lanca RNK. Prisustvo određenih aminokiselina na tRNK je neophodno za infektivnost nekih virusa.

Nekodirajući regioni, odnosno terminalne strukture na 5' i 3' krajevima kao i intergenski regioni kontrolišu jedan od procesa kao što je proces translacije ili proces replikacije ili oba procesa zajedno. Terminalne strukture deluju uzajamno na započinjanje (inicijaciju) translacije tj. prevođenja genomske poruke u određene proteine, a posebno od otvorenih okvira čitanja bližih 5' kraju. Terminalne strukture odnosno regioni na 3' kraju genoma su mesta gde započinje sinteza minus (-) lanca RNK a nekodirajući region na 5' kraju mesta, gde započinje sinteza plus (+) lanca RNK.

### *Intergenski regioni*

Sekvence u intergenskim regionima, odnosno delovi genoma između otvorenih okvira čitanja ili sekvence neposredno blizu pri terminalnim 5' i 3' krajevima genoma su takođe uključene u procese kako sinteze RNK, tako i kontrolisanje procesa translacije (prevođenja) otvorenih okvira čitanja bližih 3' kraju genoma u proteine. U ovim regionima započinje i sinteza subgenomskih ribonukleinskih kiselina (SgRNK), koje su istovremeno i informacione RNK (mRNK) i služe za prevođenje u proteine otvorenih okvira čitanja (ORF) udaljenih od 5' kraja genoma. Utvrđeno je da postoje interakcije između sekvenci terminalnih regiona kod 5' i 3' krajeva i sekvenci unutrašnjih (intergenskih) regiona na genomu u kontrolisanju ispoljavanja genomske informacije od strane plus (+) lanca RNK. Verovatno slične interakcije se javljaju u kontrolisanju ispoljavanja informacija i kod minus (-) lanca RNK

virusa sa dvospiralnim RNK (dsRNK) genomima i virusa sa jednospiralnim RNK (ssRNK), kao i dvospiralnim DNK (dsDNK) genomima.

Specifične nekodirajuće nukleotidne sekvence unutar genoma kao i sekvence na njegovim terminalnim delovima imaju regulatornu ulogu i ulogu prepoznavanja određenih virusnih i ćelijskih struktura u sintezi proteina i nukleinskih kiselina.

### *Sekvence za prepoznavanje ribozoma domaćina*

Ribonukleinske kiseline (RNK) biljnih virusa sa retkim izuzecima ponašaju se kao eukariotske mRNK na način da se one prevode samo od početnog (inicijalnog) AUG kodona blizu 5' kraja u proteine a ne i od unutrašnjih inicijalnih mesta (kodona), kao što je slučaj kod virusa prokariota. Ovi virusi prokariota započinju prevođenje na više mesta duž genoma. Poznato je da kod biljnih virusa jedna ili više nekodirajućih sekvenci između 5' kraja i prvog funkcionalnog AUG kodona na genomu služe za prepoznavanje ribozoma tj. to su mesta koja prepoznaju ribozomi i zakače se za njih, a kada dođu do AUG kodona kod prvog ORF, najbližeg 5' kraju genoma započinju prepisivanje u proteine. Ovi nekodirajući regioni kod 5' kraja obično sadrže malu količinu guanina i citozina (G+C) što ukazuje na nizak nivo formiranja sekundarnih struktura na ovom delu genoma. Za brojne biljne viruse je utvrđeno da duž ove sekvence genoma dolazi do vezivanja dva ili tri ribozoma, koji obrazuju komplekse dizoma ili trizoma. Uspešno vezivanje ribozoma za genom u regionu između 5' kraja i prvog AUG kodona omogućava i nizak nivo sekundarne strukture genoma u ovom regionu.

### *Odabiranje početnog inicijalnog AUG kodona*

Poznato je da na mRNK obično postoji više tripleta AUG baza. Međutim samo jedan određen tačan početni AUG triplet koristi ribozom za početak translacije (prevođenja) u protein. Postoji mehanizam pomoću koga je tačan određeni AUG triplet baza prepoznat od ribozoma biljne ćelije. Mesto za prepoznavanje tačnog AUG tripleta baza od strane ribozoma nalazi se u blizini ovog tripleta koji ima određeni položaj adenina (A) na mRNK. Naime neposredno u blizini tripleta AUG baza u pravcu 5' ka 3' kraju od AUG kodona može se nalaziti karakteristična sekvenca u koju su utisnuti signali za prepoznavanje ribozoma.

### *Sekvence koje povećavaju translaciju*

Sekvence u blizini 5' kraja mRNK kod nekoliko biljnih virusa vrše povećanje prevođenja u proteine. Do povećanja prevođenja kod takvih nekodirajućih sekvenci dolazi usled redukovanja sekundarne strukture unutar ovih sekvenci. Redukovana sekundarna struktura omogućava uspešnije i bolje vezivanje ribozoma i započinjanje prevođenja.

### *Prevođenje proteina preko stop kodona*

Utvrđeno je kod određenog broja biljnih virusa sa ss(+)RNK genomom da se prvi ORF kod 5' kraja završava sa stop kodonom koji zaustavlja ribozom i prevođenje u protein. Međutim kod nekih virusa stop kodon biva prigušen odnosno supresovan. Ovo prigušavanje ili smanjeno delovanje stop kodona dozvoljava ribozomima da nastave da očitavaju sekvencu do sledećeg stop kodona stvarajući protein veće dužine tzv. protein očitani preko stop kodona. Sintaza ovih preko stop kodona očitanih proteina zavisi prvenstveno od prisustva supresornih

tRNK, koje vrše prigušivanje stop kodona. Količina stvorenih na ovaj način proteina može da se menja i u zavisnosti od nukleotidnih sekvenci u blizini stop kodona. Tako na primer je utvrđeno da A (adenin) sekvenca, koja sadrži dva ili tri ostatka adenina neposredno kod UAG stop kodona značajno utiče na prigušivanje stop kodona i stvaranje proteina. Na primer jedna takva sekvenca kod UAG stop kodona je 5'CAAAUAG-----3'.

### *Sekvence koje kontrolišu sintezu proteina nastalih premeštanjem (transverotavnjem) otvorenog okvira čitanja*

Utvrđeno je da UU (uracil-uracil) sekvenca, koja se nalazi neposredno kod UAG stop kodona je uključena u premeštanje otvorenog okvira čitanja tj. spajanja dvaju ORF na RNK genomu nekih biljnih virusa.

### *Sekvence pokretači ili promoterske sekvence*

Termin sekvence pokretači, odnosno promoterske sekvence prvi put je korišćen da označi nukleotidne sekvence na ćelijskom DNK genomu. Promoteri predstavljaju sekvence kod određenih gena blizu 3' kraja u pravcu 5' kraja genoma koje prepoznaju enzime DNK zavisne RNK polimeraze pomoću kojih započinje tj. promoviše se inicijacija transkripcije informacione RNK (mRNK) za dati gen. Kod virusa sa RNK genomima promotere predstavljaju one nukleotidne sekvence koje su prepoznate od RNK zavisne RNK polimeraze (RdRp) koje vrše sintezu RNK genoma, mRNK, kao i subgenomskih mRNK. Međutim mora se istaći da su nekodirajući regioni kod 5' i 3' krajeva takođe veoma bitni za replikaciju ribonukleinskih kiselina virusa.

### *Promoteri (pokretači) sinteze minus (-) lanca RNK*

Promoteri koji započinju sintezu minus (-) lanca RNK su najčešće nukleotidne sekvence koje se nalaze blizu 3' kraja plus (+) lanca genomske RNK.

### *Promoteri blizu 5' kraja genoma*

Blizu 5' kraja genomske RNK nalaze se sekvence-promoteri koje prepoznaje replikaza virusa i gde započinje sinteza plus (+) i minus (-) lanaca RNK. Pošto se iste sekvence kod 5' kraja genomske RNK koriste od replikaze za sintezu oba lanca, kao i sekvence blizu 3' kraja za sintezu minus (-) lanca smatra se da su one homologne.

### *Unutrašnji promoteri za sintezu subgenomskih mRNK*

Informacione subgenomske RNK (mSgRNK) nastaju prepisivanjem iz delova genomske RNK. Zapocinjanie njihove sinteze se vrši pomoću unutrašnjih sekvenci-promotera na negativnom (-) lancu genoma. Subgenomske RNK daju informaciju za sintezu proteinskog omotača kod mnogih biljnih virusa sa RNK genomima.

### *Promoteri (pokretači) za sklapanje virusnih čestica*

Mehanizam pomoću kojeg dolazi do sklapanja proteinskog omotača tj. njegovog umotavanja sa nukleinskom kiselinom virusa u virusnu česticu vrši se pomoću nukleotidnih sekvenci-promotera, koje se nalaze na genomu virusa. Sklapanje virusa u virusnu česticu započinje pomoću specifičnog procesa prepoznavanja od proteina omotača tj. od proteinskih podjedinica omotača nukleotidne sekvence-promotera na virusnoj RNK. Ovaj proces

sklapanja virusnih čestica je poznat i funkcioniše kod mnogih virusa, a detaljno je proučen kod virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), gde je u proces započinjanja sklapanja virusne čestice u štapić uključena specifična nukleotidna sekvenca na virusnoj RNK.

U ovom delu opisana je opšta struktura virusnih genoma, koji mogu biti u obliku jendospiralnih ili dvospiralnih RNK ili DNK. Na virusnim genomima nalaze se kodirajući (egzoni) i nekodirajući (introni) regioni. Kodirajući regioni se nalaze duž pozitivnih (+) i negativnih (-) lanaca nukleinskih kiselina i predstavljaju nukleidne sekvence tzv. otvorene okvire čitanja (ORF) odnosno gene nosioce informacije, koji se preko mRNK prevode u određene proteine. Proteini mogu imati strukturnu i funkcionalnu ulogu. Strukturni proteini su proteini virusnog omotača, a funkcionalni proteini su enzimi uključeni u različite procese kod virusa a prvenstveno u sintezu nukleinskih kiselina, proteini za kretanje virusa unutar biljke, proteini za prenošenje virusa pomoću vektora i drugi. Nekodirajući regioni genoma su nukleotidne sekvence koje se nalaze najčešće na terminalnim delovima genoma pri 5' i 3' krajevima nukleinskih kiselina a ređe između gena na genomu tzv. intergenskim regionima odnosno sekvencama. Nekodirajuće sekvence se ne prevode u proteine. Ovi regioni kontrolišu tj. upravljaju procesima translacije (prepisivanja) i replikacije kod virusa. U ovim nekodirajućim regionima najčešće započinje translacija a takođe mogu biti uključeni u procese započinjanja sinteze kako ribonukleinskih kiselina (RNK) tako i subgenetskih RNK (SgRNK).

### *Upravljanje i kontrolisanje translacije (prevođenja) u proteine kod biljnih virusa*

Različiti mehanizmi za kontrolisanje i upravljanje ispoljavanjem virusnih genoma su opisani u prethodnom tekstu. Ovi mehanizmi su prvenstveno povezani sa načinima pomoću kojih virusi biljaka savlađuju probleme ograničenja u prevođenju u proteine preko informacionih RNK (mRNK) u eukariotskim sistemima otvorenog okvira čitanja (ORF) kod 5' kraja genoma. Poznato je da u ovom sistemu translacije može da se prevede samo jedan ORF koji se nalazi neposredno pri 5' kraju genoma, dok se ostali ne prevode u proteine. Pored drugih faktora, koji kontrolišu i regulišu translaciju eukariotskih mRNK su i različiti nekodirajući ili neprevodivi regioni označeni skraćeno kao UTR regioni (od engleskih reči untranslated region= neprevodivi region). Ovi „UTR“ regioni uključuju krajeve (terminuse) ribonukleinske kiseline i to: 5' kraj koji ima kapu i 3' kraj genoma mRNK, koji ima poliadenilni rep. U upravljanju i kontroli efikasnosti translacije mRNK je takođe uključena 5' vodeća sekvenca (sekvenca neposredno pri 5' kraju) i 3' nekodirajući region, neposredno pri 3' kraju genoma. Kod eukariotskih mRNK postoje usklađene interakcije između 5' i 3' UTR (nekodirajućih regiona) (Gallie, 1996; 1998). Kod biljnih virusa samo neke virusne mRNK poseduju i kapu na 5' kraju i poliadenilni rep na 3' kraju genoma. Većina biljnih virusa ima ili kapu na 5' kraju ili poliadenilni rep na 3' kraju ili pak nemaju ni kapu ni poliadenilni rep na krajevima mRNK genoma. Međutim i ovakvi biljni virusi se mogu uspešno prevoditi u proteine. U daljem tekstu razmotrićemo neke slučajeve gde virusne mRNK nisu potpune.

### *Ribonukleinske kiseline sa kapom pri 5' kraju i bez poliadenilnog repa na 3' kraju mRNK*

Genom virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*-TMV) ima kapu na 5' kraju ali mu nedostaje „poly A“ rep na 3' kraju genoma. Strukturna građa neprevodivog regiona (UTR) kod 3' kraja je kompleksna i sastavljena od pet pseudoomči u obliku čvorova. Ovaj UTR region sadrži 177 baza. Dve 3' terminalne pseudoomče formiraju strukturu sličnu transportnoj RNK (tRNK) koja je uključena u replikaciju virusa. Preostale tri pseudoomče sačinjavaju domen (region) u pravcu 3'→5' mRNK koji je tipičan kod virusa rodova *Tobamovirus* i *Hordeivirus*. Ovaj domen predstavlja funkcionalnu zamenu odnosno supstituciju za „poly“ A region i obavlja pokretanje interakcije između regiona kod 5' i 3' krajeva kao i potpomaganje započinjanja i povećanja procesa translacije (Leathers et al., 1993).

### *RNK sa poliadenilnim repom na 3' kraju, ali ne i sa kapom na 5' kraju mRNK*

Virusi roda *Polyvirus* imaju „poly“ A rep na svojim 3' krajevima ali se na 5' kraju nalazi protein VPg (mali protein kovalentno vezan za 5' kraj genoma). Neprevodivi region UTR kod 5' kraja virusa nazubljenosti duvana (*Tobacco etch virus*-TEV) omogućava započinjanje i povećanje translacije kod virusa bez kape pomoću interakcije između vodećih sekvenci kod 5' kraja i „poly“ A repa na 3' kraju genoma (Carrington i Freed, 1990; Gallie et al., 1995). Utvrđeno je da dva elementa kod vodeće sekvence kod 5' kraja TEV-a zajedno pokreću inicijaciju translacije. Protein vezan za genom (VPg) virusa iz roda *Potyvirus* deluje zajedno sa eukariotskim translacionim inicijalnim faktorom nazvanim eIF(ISO)4E kod nekih biljaka domaćina (Wittmann et al., 1997; Léonard et al., 2000). Ovaj translacioni inicijalni faktor eIF(ISO)4E vezuje se na 5'-kapu mRNK domaćina i igra značajnu ulogu u regulisanju započinjanja translacije (McKendrick et al., 1999).

### *RNK bez kape na 5' kraju i bez poliadenilnog repa na 3' kraju mRNK*

Mnogi biljni virusi nemaju ni kapu na 5' kraju ni „poly“ A rep na 3' kraju mRNK. Međutim, ove informacione RNK (mRNK) bez kape i „poly“ A repa se vrlo efikasno ispoljavaju pa se može zaključiti da imaju povećanu translaciju, odnosno uspešno prevođenje u proteine. Qu i Morris (2000) proučavali su kod virusa kovrdžavosti postrne repe (*Turnip crinkle virus*, TCV) ulogu neprevodivih odnosno nekodirajućih regiona (UTR) kod 5' kraja genomske i subgenomske RNK i njihove zajedničke nekodirajuće regione kod 3' krajeva. Na osnovu ovih ispitivanja oni su utvrdili optimalnu aktivnost translacije kada je mRNK, sadržavala neprevodive regione (UTR) i kod 5' i 3' kraja. Sinergistično dejstvo ovih regiona bilo je najmanje četiri puta veće nego udeo individualnih tj. pojedinačnih introna. Povećanje translacije je bilo nezavisno od postojanja kape.

Kod mnogih biljnih virusa region odnosno nukleotidna sekvenca na genomu u blizini kod 3' kraja uslovljava i utiče na efikasnost translacije. Tako na primer kod virusa žbunaste kržljivosti paradajza (*Tomato bushy stunt virus*, TBSV) utvrđena je sekvenca od 167 nukleotida nazvana 3' CITE za koju je utvrđeno da je uključena u ispoljavanje efikasnosti i povećanje translacije mRNK ovog virusa (Oster et al., 1998; Wu i White, 1999). Slična nukleotidna sekvenca odnosno region od 109 nukleotida kod 3' kraja nazvan 3' TE koji olakšava i povećava translaciju i zamenjuje kapu je utvrđen kod virusa žute kržljivosti ječma



(*Barley yellow dwarf virus*, BYDV) (Wang i Miller, 1995; Wang et al 1997b; Allen et al., 1999). Gore izneti primeri pokazuju veliku raznovrsnost mehanizama koje biljni virusi koriste za ispoljavanje informacija potrebnih za njihovo funkcionisanje a u cilju prevazilaženja ograničenja koji biljni virusi imaju korišćenjem eukariotskog sistema translacije njihovih domaćina. Poznato je da biljni virusi u potpunosti koriste sistem translacije domaćina u ćelijama biljaka. Regulacija i upravljanje translacijom kod virusa ne dešava se samo prepoznavanjem otvorenih okvira čitanja već i pomoću nekodirajućih sekvenci na terminalnim krajevima i intergenskim regionima mRNK. Tako na primer kod virusa bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) i virusa prugavosti kukuruza (*Maize stripe virus*, MSpV) sa negativnim lancima RNK koji nemaju kapu javlja se mehanizam nazvan oduzimanje ili skidanje kape. Naime da bi započela translacija njihovih mRNK ovi virusi vrše otcepljivanje tj. skidanje kape sa mRNK domaćina (Kormelink et al., 1992; van Poelwijk et al., 1996; Estabrook et al., 1998). Ovi virusi mogu oduzeti kapu i iz RNK virusa sa pozitivnim lancem (Duijsings et al., 1999).

Značajnu ulogu u translaciji, kako u njenom započinjanju tako i povećanju, kao što je već napred rečeno, imaju i neprevodivi regioni (UTR) kod 5' kraja mRNK. Tako na primer neprevodivi deo kod 5' kraja virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) sastoji se od 67 nukleotida nazvan  $\lambda$  (lambda) sekvenca značajno povećava translaciju u pravcu 5'→3' kraju mRNK u ćelijama biljaka (Gallie, 1996). Ovo povećanje iznosi 4-6 puta (Dowson Day, et al., 1993). Sekvenca lambda ima redukovanu sekundarnu strukturu, što omogućava lakše formiranje kompleksa sa ribozomima domaćina (Sleat et al., 1988).

### *Uopšten pregled umnožavanja biljnih virusa*

Pošto smo se u prethodnom delu detaljno upoznali sa osnovnim karakteristikama genoma biljnih virusa, načinom ispoljavanja genoma preko informacionih RNK (mRNK), kao i glavnim produktima ispoljavanja gena na genomu virusa u daljem tekstu izneće se uopštena šema replikacije biljnih virusa.

Jedna od glavnih osobina virusa je sposobnost da umnožavaju (replikuju) njihovu genomsku nukleinsku kiselinu, često u velikim količinama u ćelijama biljaka domaćina. Neki virusi stvaraju nukleinsku kiselinu pomoću prilagođavanja postojećem ćelijskom mehanizmu za sintezu nukleinskih kiselina, a drugi umnožavaju svoje nukleinske kiseline vrše pomoću mehanizma koji se koristi u biljnim ćelijama za sintezu nukleinskih kiselina domaćina.

Naše saznanje o načinu na koji se biljni virusi umnožavaju se značajno povećalo tokom proteklih godina, ali još uvek za neke biljne viruse se ne zna tačan i detaljan način umnožavanja.

Replikacija biljnih virusa nije u potpunosti samostalna, nego je koordinisana sa mnogim drugim funkcijama virusa kao i funkcijama biljaka domaćina.

### *Funkcije biljke domaćina korišćene od strane biljnih virusa za replikaciju*

Kao i drugi virusi i biljni virusi zavise od aktivnosti ćelija domaćina u procesu njihove replikacije.

#### **a. Komponente za sintezu virusa**

Virusi koriste aminokiseline i nukleotide koji se stvaraju u biljnim ćelijama, tokom metabolizma ćelije domaćina za izgradnju virusnih proteina i nukleinskih kiselina. Pojedine specifične komponente utvrđene u sastavu nekih virusa kao na primer poliamini takođe su sintetizovane od strane biljke domaćina.

#### **b. Energija**

Energija potrebna za polimerizaciju uključena u sintezu virusnih proteina i nukleinskih kiselina se obezbeđuje od strane ćelije domaćina i to uglavnom u obliku nukleozidtrifosfata.

#### **c. Sinteza virusnih proteina**

Sinteza virusnih proteina se vrši pomoću virusnih informacionih RNK (mRNK) i korišćenjem ribozoma domaćina, transportne RNK (tRNK) biljke, kao i udruženih enzima ćelija biljke domaćina koje domaćini upotrebljavaju u sistemu sinteze sopstvenih proteina. Svi biljni virusi za sintezu proteina koriste sistem 80S citoplazmatskih ribozoma ćelije domaćina. Nije utvrđeno da virusi za sintezu proteina mogu da koriste ribosome hloroplasta i mitohondrija. Najveći broj virusa zavisi od enzima domaćina za bilo koje naknadne modifikacije virusnih proteina. Jedna od takvih modifikacija je i glukozilacija tj. stvaranje virusnih glukozin proteina.

#### **d. Sinteza virusnih nukleinskih kiselina**

Skoro svi virusi kodiraju enzim ili enzime koji kataliziraju i učestvuju u sintezi virusnih nukleinskih kiselina. Međutim neki virusi ne moraju da sintetizuju sve polipeptide uključene u enzime za sintezu nukleinskih kiselina. Deo ovih proteina može da sintetizuje i biljka domaćin. Na primer u prvoj fazi umnožavanja kod virusa iz roda *Caulimovirus* virusna DNK se prepisuje u RNK formu pomoću enzima DNK zavisne RNK polimeraze biljke domaćina. Međutim kod najvećeg broja virusa replikacioni kompleks sadrži virusno kodirane enzime, najčešće virusnu RNK zavisnu RNK polimerazu (RdRp), nekoliko drugih virusno kodiranih aktivnosti i različite faktore biljke domaćina.

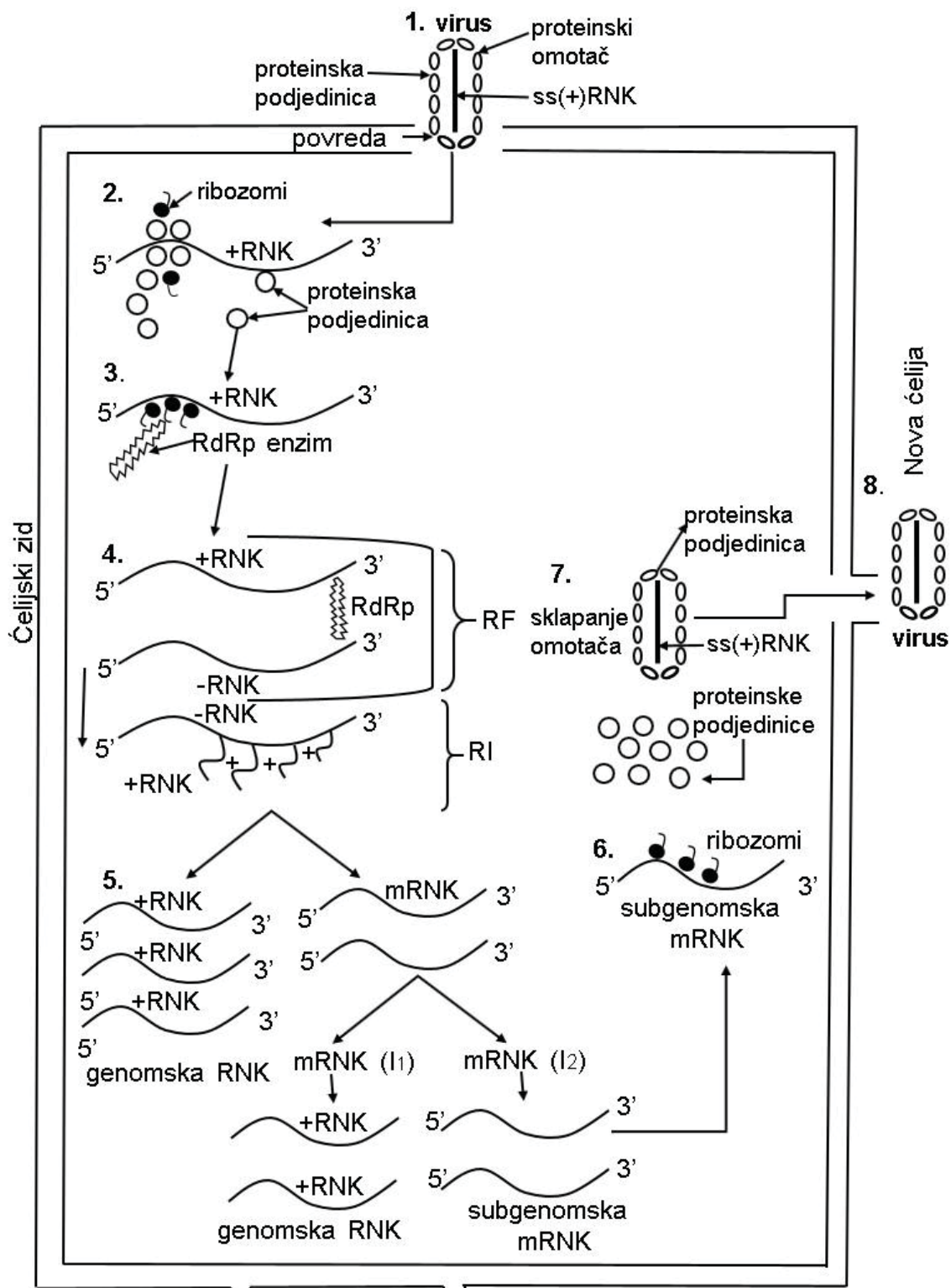
Virusi sa jednospiralnom DNK (ssDNK) iz porodice *Geminiviridae* menjaju ćelijski ciklus replikacije DNK ćelije i primoravaju ćelijski sistem replikacije DNK da sintetizuje virusne jednospiralne DNK.

#### **e. Strukturne komponente ćelije domaćina povezane sa replikacijom**

Neke ćelijske strukturne komponente su povezane sa replikacijom biljnih virusa. Tako na primer sinteza virusne nukleinske kiseline obično je povezana sa kompleksom vezanim za membranu ćelije domaćina. Kod nekih virusa takođe deo ciklusa replikacije može da se odvija u jedru ćelije biljke domaćina. Međutim kod najvećeg broja virusa replikacija se obavlja u citoplazmi ćelije u blizini membrane ćelije.

## **Replikacija biljnih virusa**

Replikacija biljnih virusa najdetaljnije je proučena kod malih biljnih virusa sa jednospiralnom pozitivnom RNK (ss(+))RNK, a posebno kod virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*). Blizu pedeset rodova biljnih virusa ima u sastavu virusnih čestica ss(+))RNK. Iako su informacije o replikaciji određenog broja virusa sa ss(+))RNK oskudne, smatra se da svi virusi sa ovim tipom genoma imaju isti osnovni mehanizam replikacije genoma, kao i dobro proučeni virusi sa ss(+))RNK a posebno kao virus mozaika duvana. Međutim moguće je da postoje neke razlike u umnožavanju između ovih virusa ali samo u pojedinim detaljima.



Slika IX.3. Šematski prikaz faza umnožavanja virusa mozaika duvana (TMV) u biljnoj ćeliji

Osnovni mehanizam umnožavanja genoma u obliku ss(+)RNK je da pomoću enzima replikaze (RdRp) kodiranog od virusa sintetizuje komplementarnu negativnu (-) spiralu ss(-) RNK genoma, koji služi kao kalup ili osnovni model (template). Potom se sintetizuju nove pozitivne spirale odnosno lanci RNK (ss(+)RNK) na osnovu negativne (-) spirale RNK kao po kalupu ili modelu. Stvaranje novih RNK genoma se vrši od 3' kraja prema 5' kraju kalupa negativne (-) spirale RNK. Umnožavanje genoma obuhvata replikacioni kompleks koji sadrži sledeće komponente: kalupe odnosno modele (template) po kojima se sintetizuje virusna RNK, novo sintetizovanu RNK (genomska RNK ili informaciona RNK), enzim replikazu i neke faktore domaćina. Ovaj način replikacije ćemo detaljnije razmatrati kod nekih rodova biljnih virusa. Napominjemo da će se prilikom razmatranja umnožavanja virusa u ovom opštem delu uzeti u obzir samo produkti, koji nastaju ispoljavanjem dva najznačajnija gena a to su polimeraza i proteinski omotač, dok ostali produkti, koji nastaju tokom replikacije se neće u ovom delu razmatrati. Šema umnožavanja virusa mozaika duvana (TMV) je prikazana na slici IX.3. Umnožavanje biljnih virusa se može podeliti u nekoliko faza.

#### ***Ulazak virusnih čestica u ćeliju domaćina***

Kao što je poznato mnogi virusi mogu da uđu u ćeliju biljaka domaćina samo kroz povrede tj. kroz oštećenja kutikule ćelijskog zida i preko vektora insekata koji svojim usnim aparatom mogu da viruse direktno unesu u ćelije (Slika IX.3-1).

Ne postoje podaci o specifičnom mehanizmu ulaska virusa u ćelije, kao što su mesta recepcije na plazmatičnoj membrani ili endocitolitičko prodiranje virusa. Opšti je zaključak da se ulazak virusa u ćeliju domaćina ostvaruje pomoću „grube sile“ (Shaw, 1999).

#### ***Gubljenje proteinskog omotača odnosno izvlačenje virusnih RNK iz proteinskog omotača***

Ovaj proces je detaljno proučio Shaw (1999) kod virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*). Proces gubljenja odnosno skidanja proteinskog omotača započinje od 5' kraja kod ispupčenog (konkavnog) dela štapića (Perhnam i Wilson, 1976). Destabilizacijom 5' kraja virusne RNK se omogućava ribozomima 80S da se zakače za vodeću sekvencu 5' kraja i krećući se prema 3' kraju duž RNK oni uklanjaju odnosno skidaju i odnose podjedinice proteinskog omotača. Kretanje ribozoma se vrši pomoću procesa nazvanog kontrancijaciona razgradnja odnosno procesa razgradnje nastalog odnošenjem proteinskih podjedinica pomoću „ribozoma skidača“, koji se još nazivaju stripozomi (Slika IX.3-2.).

U toku nekoliko minuta od inokulacije ćelije tj. ulaska virusa u nju utvrđeno da je oko 10% virusne RNK bilo oslobođeno od proteinskog omotača (Shaw, 1973; Hayashi, 1974).

Skidanje proteinskog omotača sa 3' kraja ka 5' kraju virusne RNK može da izvrši replikaza, predhodno kodirana od virusa koja sintetizuje odnosno stvara istovremeno intermedijalni minus (-) replikacioni lanac RNK (Wilson, 1985).

Gubljenje proteinskog omotača kod nekih izometrijskih virusa kao na primer virusa žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus*- TYMV) se ne vrši putem procesa kontrancijacione razgradnje. Proučavanja su pokazala da se virusne RNK iz čestica virusa žutog mozaika postrne repe mogu osloboditi bez dezintegracije proteinske školjke (omotača). Virusna RNK se brzo oslobađa odnosno izvlači iz proteinskog omotača virusa zajedno sa 5-8 proteinskih podjedinica (Keeling i Matthews, 1982). Utvrđeno je da je od ukupnog inokulima u biljnim ćelijama bilo oko 2% čestica virusa žutog mozaika postrne repe sa skinutim omotačem posle 20 minuta od inokulacije (Kurtz-Fritsch i Hirth, 1972). Proces

gubitka omotača kod ovog virusa prouzrokuje stvaranje praznih omotača (školjki) tj. pražnjenje omotača usled oslobodjenja virusne RNK. Omotač gubi tom prilikom 5-8 proteinskih podjedinica koje ostaju na RNK. U ovom procesu dolazi i do formiranja proteina male molekulske težine.

Kod izometrijskih čestica virusa iz roda *Bromovirus* do gubitka odnosno skidanja proteinskog omotača dolazi nakon bubrenja čestica virusa. Smatra se da ovako nabubrele čestice sa povećanim obimom omogućavaju proces kontranslacione razgradnje tj. razgradnju odnošenjem proteinskih podjedinica pomoću ribozoma 80S. Prema tome je potrebno bubrenje čestica za gubljenje tj. skidanje proteinskog omotača kod virusa roda *Bromovirus* i *Sobemovirus*. Utvrđeno je da virusno-ribozomski kompleks sadrži do 4 ribozoma po virusnoj čestici (Roenhorst et al., 1989).

### *Nastajanje infektivnosti kod virusne RNK, njeno povezivanje sa ribozomima domaćina i sinteze virusno specifične RNK zavisne RNK polimeraze (RdRp)*

Razgradnjom proteinskog omotača ili dela proteinskog omotača bar do prvog otvorenog okvira čitanja (ORF) kod 5' kraja genomska RNK ostaje bez proteinskog omotača „gola“ ili delimično bez omotača. Ovakva genomska RNK postaje infektivna i započinje zarazu biljne ćelije. Kretanjem odnosno translacijom ribozoma od 5' kraja ka 3' kraju duž genomske RNK i odnošenjem proteinskih podjedinica ribozomi dolaze do prvog inicijalnog kodona AUG i nastavljaju dalje kretanje duž prvog otvorenog okvira čitanja (ORF) prevodeći ovaj okvir kod 5' kraja u protein replikazu (Slika IX.3-3). Ovaj enzim učestvuje u replikaciji RNK virusa. Kada ribozomi stignu do stop kodona prvog ORF oni prestaju sa kretanjem i oslobadaju se veze sa RNK tj. razdvajaju se odnosno odvezuju od virusne RNK.

### *Sinteza negativnih (-) lanaca RNK pomoću virusno kodiranih polimeraza*

Nakon translacije duž prvog okvira čitanja kod 5' kraja i prepisivanja ovog okvira nastaje protein polimeraza tj. RNK zavisna RNK polimeraza (RdRp). Virusna RNK bez proteinskog omotača se tada vezuje svojim 3' krajem sa molekulom virusno kodirane RNK zavisne RNK polimeraze (RdRp), koja katalizuje sintezu komplementarnog minus (-) lanca RNK, gde je virusni RNK genom kalup ili model po kome se vrši ova sinteza (Slika IX.3-4.). Minus lanac ili spirala RNK (ss(-)RNK) se formira u pravcu 5' ka 3' kraju i predstavlja kopiju virusne RNK. U okviru ciklusa sinteze virusne RNK bile su izolovane dve strukture. Jedna struktura je poznata kao replikativna forma i obeležava se skraćeno RF a druga struktura je replikativni intermedijer obeležen sa RI.

Replikativna forma je potpuno bazno sparena dvospiralna struktura, koja se sastoji od plus (+) i minus (-) spirale sa punom dužinom genomske RNK (Slika IX.3-4 i Slika IX.4.A) Smatra se da je ovo prelazni oblik u replikaciji virusa tj. faza kopiranja komplementarne minus spirale RNK na osnovu kalupa plus virusne RNK spirale kada one u jednom trenutku obrazuju dvospiralnu +/- spiralu (Slika IX.3-4 i Slika IX.4.B i C). Uloga ove dvospiralne RNK strukture još nije objašnjena i prema nekim mišljenjima može da predstavlja molekule RNK koji obustavljaju replikaciju. Uvreženo je mišljenje da od RF, iako to nije dokazano, nastaje RI (replikativni intermedijer), kada se plus spirala odvaja od minus spirale RNK. Replikativni intermedijer (RI) predstavlja delimično bazno sparenu strukturu sa vezanim molekulima polimeraze, koja se sastoji od jednospiralnih plus lanaca ili repova različite

dužine koji se formiraju na minus (-) spirali (Slika IX.4. B,C). Smatra se da se na 3' kraju plus (+) virusne RNK, koja predstavlja kalup nalaze mnogi kontrolni signali koji upravljaju sintezom minus (-) lanca RNK. Na sintezu minus (-) lanca na osnovu kalupa (+) lanca virusne RNK veliki uticaj imaju strukture na 3' kraju kalupa plus (+) lanca virusne RNK (Hull, 2004). Utvrđeno je da 3' terminalni krajevi obezbeđuju odnosno stvaraju vezno mesto gde se vrši vezivanje kompleksa replikacionih enzima, koji upravljaju replikacijom nukleinske kiseline.

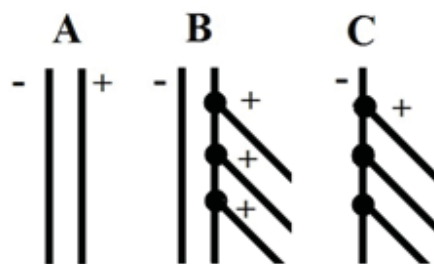
#### *Sinteza kopija virusne RNK- veličine genoma i informacione RNK (mRNK)*

Pozitivni lanci RNK kad dostignu punu dužinu genomske RNK se odvajaju od minus (-) spirale i od njih nastaju genomske jednospiralne ss(+) RNK ili informacione RNK (mRNK). Moguće je da pri tom procesu nastaju dve funkcionalne molekule I pri čemu je jedna uključena u produkciju genomskih (+) RNK tzv. I<sub>1</sub>, a druga u produkciju mRNK odnosno subgenomskih mRNK tzv. I<sub>2</sub> (Slika IX.3-5.).

Blizu 3' kraja minus lanca RNK nalaze se inicijalna mesta koja predstavljaju sekvence tzv. promotere gde započinje sinteza plus (+) RNK i mRNK odnosno subgenomskih mRNK.

#### *Sinteza molekula proteinskog omotača virusa korišćenjem subgenomskih informacionih RNK (Sg mRNK) pomoću ribozama ćelije domaćina*

Otvoreni okviri čitanja (ORF) koji se prepisuju u protein omotača virusa obično se nalaze na 3' kraju informacione RNK (mRNK). Kao što je poznato kod eukariotskih organizama ovi ORF se ne mogu očitati direktno, odnosno direktno prepisati u proteinske podjedinice omotača. Ovi ORF se prevode u proteinske omotače tek nakon što se prepisu u subgenomske mRNK (SgmRNK). Subgenomske mRNK (SgRNK) imaju isti nukleotidni sastav kakav imaju i neprovođivi delovi tj. ORF pri 3' kraju mRNK. Ove subgenomske RNK nastaju transkripcijom delova mRNK koji se nalazi blizu 3' kraja i kraći su od mRNK. Vezivanjem ribozoma za ove subgenomske RNK i njihovom translacijom u pravcu od 3' ka 5' kraju vrši se prepisivanje proteinskih podjedinica omotača virusa iz određenog ORF odnosno gena na mRNK pri 3' kraju (Slika IX.3-6.).



Slika IX.4. Faze sinteze virusne RNK

- A. Replikaciona forma (RF)-bazno sparena strukture punom dužinom + i-spirale RNK;
- B. Replikativni intermedijer(RI)-delimično bazno sparena struktura sa molekulama polimeraze(•) i jednospiralnim repovima od + lanca različite dužine;
- C. Verovatno pravi izgled stanja RI "in vivo" gde su + lanci i – kalup spirale na kojoj se ovi lanci formiraju

### *Skupljanje proteinskih podjedinica i sklapanje proteinskog omotača oko genomske RNK i stvaranje potomstva virusnih čestica koje se akumuliraju u ćeliji biljaka domaćina*

Stvorene proteinske podjedinice se agregiraju formirajući diskove, sastavljene od određenog broja podjedinica. Tako na primer kod virusa mozaika duvana jedan disk sadrži oko 17 proteinskih podjedinica odnosno tačno 16,3 podjedinica. Virusi obično stvaraju dvoslojne diskove sa otvorom u sredini diska u obliku kanala u koji se uvlači genomska RNK. Mehanizam pomoću kojeg dolazi do sklapanja proteinskog omotača sa nukleinskim kiselinama, vrši se pomoću nukleotidnih sekvenci- promotera koje nalaze na genomu virusa o čemu je već bilo reči u ovom tekstu. Sklapanje virusa u virusnu česticu započinje kod sekvenci promotera na virusnoj RNK, tako što ove sekvence promoteri prepoznaju protein omotača i na tom mestu započinje sklapanje virusa odnosno vezivanje proteinskih podjedinica za genom i umotavanje virusne RNK u proteinski omotač. Proteinski omotač se kompletira i cela RNK virusa se uvlači u središni otvor, kanal omotača (Slika IX.3-7). Proteinski omotač prema tome nastaje spajanjem dvoslojnih diskova sastavljenih od proteinskih podjedinica, koje započinje da se stvara na mestu kod sekvenci promotera na genomskoj RNK. Na taj način nastaju kompletne virusne čestice sa omotačem i RNK genomom koje se akumuliraju u ćelijama biljke domaćina.

### *Migracije (premeštanje) virusnih čestica u susedne ćelije*

Zbog velike akumulacije virusnih čestica u zaraženim ćelijama one počinju da migriraju kroz plazmodezme na ćelijskim membranama u susedne zdrave ćelije biljke domaćina (Slika IX.3-8.). Na taj način dolazi do sistemичne zaraze biljaka. Ovo premeštanje virusnih čestica iz zaraženih u zdrave ćelije se obično vrši pomoću virusno kodiranih proteina za kretanje virusa iz ćelije u ćeliju. Ova migracija virusa iz ćelije u ćeliju može obaviti i citoplazmatskim tokovima unutar ćelije biljke. U novozaraženim ćelijama domaćina uneti virusi započinju ponovo proces umnožavanja.

### *Umnožavanje nukleinskih kiselina biljnih virusa*

Kao što je napred napomenuto genomi biljnih virusa sadrže različite tipove nukleinskih kiselina. Najveći broj vrsta biljnih virusa u svom sastavu ima jednospiralnu RNK sa pozitivnim predznakom odnosno ss(+)RNK. Manji broj genoma biljnih virusa sadrži jednospiralne (jednolančane) RNK sa negativnim predznakom odnosno ss (-)RNK i dvospiralne (dvolančane) tj. dsRNK, a veoma mali broj biljnih virusa ima u svom sastavu genome, koji se sastoje od dvolančanih (dvospiralnih) DNK, označenih kao (ds)DNK i jednolančanih (jednospiralnih) DNK, odnosno (ss)DNK.

U predhodnom delu teksta iznet je detaljan proces umnožavanja genoma virusa sa ss(+)RNK koji je danas i najbolje proučen. U ovom delu iznećemo ukratko proces umnožavanja genoma biljnih virusa koji sadrže ostale navedene tipove nukleinskih kiselina.

## *Umnožavanje genoma virusa sa jednospiralnom RNK sa negativnim predznakom ss(-)RNK*

U biljne viruse sa ss(-)RNK genomom spadaju virusi iz porodice *Rhabdoviridae*. To su virusi sa velikim česticama i okružene lipidnom membranom tj. ovojnicom. Oni sadrže pojedinačne vrste ss(-)RNK koje su spojene sa nukleokapsidnim proteinom (N) koji obavija nukleinsku kiselinu. Za nukleokapsid je vezan i tzv. veliki protein (L), koji predstavlja replikazu-enzim neophodan za replikaciju genomske RNK virusa (Jackson et al., 1999). U viruse sa ss(-)RNK genomom spadaju i vrste iz porodice *Bunyaviridae*. Biljni virusi iz ove porodice su svrstani samo u jedan rod *Tospovirus*.

Virusi iz porodice *Rhabdoviridae* mogu biti paraziti životinja i biljaka. Smatra se da je opšta struktura i replikacija genoma virusa iz ove porodice kod biljnih virusa slična onoj kod životinja, ali da ipak postoje izvesne razlike. Na primer svi rabdovirusi kičmenjaka se umnožavaju isključivo u citoplazmi ćelije domaćina, kao što to čine i neki biljni virusi, dok se drugi biljni virusi iz ove porodice umnožavaju i u jedru ili neposredno pored jedra. Umnožavanje genomske ss(-)RNK se obavlja pomoću enzima RNK zavisne RNK polimeraze (RdRp) koji se nalazi u virusnoj čestici, vezan za nukleokapsid označen kao veliki protein L (L=Large protein). Minus (-) lanac genoma virusa ima dve funkcije, jedna je da kao kalup služi za transkripciju u plus (+) lanac koji predstavlja informacionu RNK (mRNK) za individualne gene koji kodiraju određene proteine, pa i RNK polimerazu, a druga funkcija je da preko cele dužine plus (+) lanca kao kalupa se umnožava u minus (-) lanac RNK genoma uz pomoć RNK polimeraze. Prema tome kompleks polimeraza preuzima obe funkcije. Kod ovog tipa replikacije još uvek se ne zna mehanizam koji određuje koja će se ss(-)RNK postati genomska RNK tj. genom, a koja će služiti kao kalup da se u procesu transkripcije sintetizuje informaciona RNK (mRNK). Umnožavanje ss(-)RNK genoma se obavlja zavisno od vrste virusa u jedru ili u blizini jedra. To su tzv. nukleorabdovirusi ili perinuklearni rabdovirusi. Druga vrsta virusa se umnožava u citoplazmi gde su povezani sa endoplazmatičnim retikulumom. To su tzv. citoplazmatski rabdovirusi.

## *Umnožavanje genoma virusa sa dvospiralnom RNK (dsRNK)*

Biljni virusi iz porodice *Reoviridae* imaju genom koji sadrži dvospiralnu (dvolančanu) RNK (dsRNK). U ovom dvolančanom genomu jedan lanac je sa predznakom plus (+) a drugi sa predznakom minus(-) te bi se ovaj genom mogao označiti i kao ds(+/-) RNK. Dvolančana (ds)RNK je višedelna, sastavljena je od 10-12 segmenata. Članovi ove porodice svrstani su u tri roda prema broju segmenata iz kojih se sastoji dsRNK genom. Virusi roda *Phytoreovirus* imaju dsRNK genom koji se sastoji od 12 segmenata, a rodovi *Fijivirus* i *Oryzavirus* genome sastavljene od po 10 segmenata. Dvospiralni segmenti ds(+/-) RNK se raspadaju na dve spirale odnosno lanca tj. na minus (-) spiralu i plus (+) spiralu ili lanac.

Umnožavanje virusnog genoma reovirusa se vrši za svaki segment posebno, gde se lanci sa plus (+) predznakom sintetišu pomoću virusne replikaze na osnovu izvornih tj. genomskih minus (-) lanaca, koji služe kao kalup. Nova nastala plus (+) spirala može funkcionisati i kao informaciona RNK (mRNK), a može poslužiti da se na osnovu novostvorene plus (+) spirale kao po kalupu uz pomoć replikaze stvaraju nove



komplementarne minus (-) spirale RNK. Smatra se da se dvolančana RNK (dsRNK) formira unutar jezgra, koje se stvara od virusnih čestica, koje se razvijaju, a dsRNK ostaje unutar ovih čestica. Biljni virusi iz porodice *Reoviridae* umnožavaju se u citoplazmi (Wood, 1973). Sinteza virusne RNK vrši se u viroplazmi gde se potpuno razdvojene čestice sklapaju. Postavlja se pitanje šta omogućava i dozvoljava da se samo jedan i to samo jedan određeni segment od 10 ili 12 segmenata genoma javlja u svakoj čestici nakon sklapanja. Proučavanja su pokazala da postoje signali za prepoznavanje segmenata. Ovi signali se nalaze na sekvencama na 5' i 3' krajevima segmenata, što uključuje 10-12 različitih specifičnih mesta interakcije RNK-protein i protein-protein (Anzola et al., 1987). U okviru specifičnih sekvenci na 5' i 3' krajevima nalaze bazno sparena invertna ponavljanja koja upravljaju odabiranjem određenog jednospiralnog plus (+) lanca RNK i vrše bazno sparivanje sa minus (-) lancima određenog segmenta.

### *Umnožavanje genoma virusa sa dvolančanom (dvospiralnom) DNK (dsDNK)*

Virusi iz porodice *Caulimoviridae* su jedini biljni virusi čiji genom se sastoji od dsDNK. Proces umnožavanja genoma virusa sa dsDNK je najdetaljnije proučen kod virusa mozaika karfiola (*Cauliflower mosaic virus*-CaMV) koji je svrstan u rod *Caulimovirus* i kod Tungro baciliformnog virusa pirinča (*Rice tungro bacilliform virus*-RTBV) (Hohn et al., 1985; Hull et al., 1987; Pfeiffer et al., 1987; Mason et al., 1987; Hull, 1996; Hohn i Fütterer, 1997). Dvospiralna DNK virusa mozaika karfiola može biti linearne ili prstenaste strukture. Najčešće je u obliku prstenaste savijene molekule. Prstenasta DNK virusa sastoji od plus (+) ili  $\beta$  prstena (spirale) i od minus (-) ili  $\alpha$  prstena (spirale). Od ova dva prstena samo se negativni (-) prsten tzv.  $\alpha$  spirala prepisuje-transkribuje tj. ovaj prsten je kodirajuća spirala. Prstenovi DNK nisu kontinuirani nego su na pojedinim mestima prekinuti. Kod virusa mozaika karfiola nalaze se tri prekida u prstenovima. Jedan prekid se nalazi u (-)  $\alpha$  prstenu, a dva prekida u (+)  $\beta$  prstenu.

Pre početka procesa replikacije genom virusa prelazi u potpuno zatvoreni dvospiralni prsten tzv. kovalentno zatvoreni prsten cccDNK (covalent closed circle DNA = cccDNK), pošto se prekidi u prstenovima kovalentno zatvaraju. Potom dolazi do raspadanja odnosno razdvajanja kovalentno zatvorenih prstenova na plus (+) ili  $\beta$  prsten i minus (-) ili  $\alpha$  prsten DNK. Nastali  $\alpha$  prsten DNK potom služi kao kalup za sintezu informacionih (m)RNK od 19 i 35S kao međuproizvoda. Sinteza ovih mRNK se vrši pomoću DNK zavisne RNK polimeraze II domaćina. Informaciona RNK od 35S služi kao kalup za sintezu  $\alpha$  i  $\beta$  lanaca genomske DNK virusa. Ova sinteza odnosno umnožavanje virusne DNK se odvija pomoću virusno kodiranog enzima transkriptaze (RNK zavisne DNK polimeraze) preko procesa reverzne transkripcije.

Replikacija genoma virusa sa dsDNK ima dve faze i to jedarnu fazu koja se odvija u jedru domaćina gde se  $\alpha$  prsten DNK prepisuje u mRNK od 35S pomoću DNK zavisne RNK polimeraze II domaćina i citoplazmatsku fazu, gde RNK proizvod transkripcije nastao procesom reverzne transkripcije pomoću virusno kodirane RNK zavisne DNK polimeraze tj. reverzne transkriptaze se sintetizuje u virusnu DNK. Prema tome DNK virusa mozaika karfiola (CaMV) umnožava se pomoću procesa reverzne transkripcije uključujući RNK koja

se javlja kao međuproizvod između dvaju procesa (Guilley et al., 1983; Hull i Covey, 1983; Pfeiffer i Hohn, 1983).

Kao što je napred napomenuto replikacija se vrši u dve faze: prvu koja predstavlja transkripciju (prepisivanje) RNK kalupa iz DNK virusa i drugu fazu koja je reverzna transkripcija RNK kalupa u dvolančanu DNK (dsDNK). RNK kalup predstavlja informacionu RNK (mRNK) prema kojoj nastaje reverznom transkripcijom dsDNK. Faza transkripcije dešava se u jedru ćelije domaćina a faza reverzne transkripcije u citoplazmi ćelije. U prvoj fazi replikacije infektivna dsDNK kreće se ka jedru i ulazi u jedro. Ona se u jedru kovalentno zatvara formirajući potpuno kovalentno zatvorene prstenove (cccDNK), dsDNK. Kovalentno zatvoreni DNK (minus (-)lanac ili  $\alpha$  prsten) spaja se sa histonima (mali proteini) domaćina u jedru i formira mini hromosome koji služe kao kalup da pomoću enzima DNK zavisne RNK polimeraze II domaćina izvrše transkripciju u dve informacione RNK (mRNK) od 19S i 35S po kalupu  $\alpha$  lanca DNK. Dve sintetizovane mRNK (19S i 35S) sele se odnosno odlaze u citoplazmu gde se obavlja druga faza replikacije koja se dešava u viroplazmi (Mazzolini et al., 1985). RNK od 19S je informaciona RNK (mRNK) koja se prevodi u velike količine proteina viroplazme.

Nakon toga počinje sinteza minus (-) lanca DNK pomoću virusno kodirane reverzne transkriptaze na osnovu mRNK od 35S koja služi kao kalup. Ovaj proces se dešava na 3' kraju RNK. Ostatak mRNK od 35S služi kao kalup za sintezu + lanca DNK koja se vrši na posebnim mestima mRNK pomoću reverzne transkriptaze. Potom dolazi do spajanja minus (-) lanca i plus (+) lanca u dvolančanu dsDNK. Preostali deo korišćenog kalupa mRNK od 35S se uklanja pomoću enzima RNaze H koji ulazi u sastav kompleksa enzima reverzne transkriptaze.

### *Umnožavanje genoma virusa sa jednolančanim DNK (ss DNK)*

Veoma mali broj biljnih virusa ima genom u obliku jednolančane DNK. To su virusi iz dve porodice *Geminiviridae* i *Circoviridae*. Porodica *Geminiviridae* sadrži četiri roda od kojih rodovi *Mastrevirus*, *Curtovirus* i *Turncurtovirus* imaju nepodeljene genome tj. genome iz jednog dela a virusi roda *Begomovirus* genom iz dva dela.

Umnožavanje jednolančane (ss) DNK kod obe porodice je slično, mada postoje izvesne razlike. Umnožavanje započinje od jednolančane (ssDNK) preko dvolančane (ds) DNK kao replikativne forme, a završava se sintezom jednolančane (ss) DNK.

Svi virusi sa ssDNK sadrže jednu zajedničku opštu sekvencu u genomu od približno 200 nukleotida koja se nalazi u intergenskom regionu DNK. Ovaj deo formira stabilnu omču u obliku šnale. U okviru omče nalazi se devetonukleotidna sekvenca (TAATATTAC) utvrđena kod svih virusa sa ovim tipom genoma. Struktura u obliku omče potrebna je za umnožavanje DNK i smatra se kao mesto vezivanja enzima biljke domaćina koji započinju sintezu komplementarnog lanca DNK. Replikacioni ciklus kod biljnih virusa je sličan normalnom ciklusu replikacije ćelijske DNK u ćeliji domaćina i zavisi od mnogih funkcija ćelije domaćina. Virusni iz ovih porodica se umnožavaju u različitim ćelijama domaćina i to u fazi kada prestaje aktivnost replikacije DNK ćelije a počinje replikacija DNK virusa. Virusni svojim proizvodima utiču na prestanak umnožavanja ćelijske DNK i usmeravanje procesa umnožavanja ćelijske DNK u proces umnožavanja virusne DNK korišćenjem ćelijskog mehanizma za replikaciju DNK.

Po ulasku virusa u ćeliju biljke domaćina dolazi do oslobađanja od proteinskog omotača i migracije jednolančane DNK u jedro ćelije. U jedru ssDNK služi kao kalup za sintezu više informacionih RNK virusa pomoću DNK zavisne RNK polimeraze odnosno transkriptaze domaćina. Na osnovu informacionih RNK (mRNK) vrši se sinteza različitih proteina virusa od kojih je protein Rep (protein replikaze) neophodan za replikaciju DNK virusa. Na osnovu virusne informacione RNK (mRNK) stvara se minus (-) lanac DNK koji služi kao kalup za sintezu plus (+) lanca DNK. U okviru minus (-) DNK lanca formira se omča sa tipičnom sekvencom od devet nukleotida (TAATATTAC). Ovu sekvencu prepoznaje protein Rep, koji se vezuje za ovo mesto i započinje sintezu plus (+) lanca. Zatim dolazi do spajanja minus (-) i plus (+) lanca i stvaranja dvolančane +/- DNK kao replikativne forme (RF). Na oba ova komplementarna lanca nalaze se geni virusa koji se ispoljavaju u obliku različitih proteina. Na kraju dolazi do cepanja dsDNK na plus (+) i minus (-) lanac. Plus (+) lanac predstavlja genomsku DNK a minus (-) lanac služi za sintezu novih plus (+) lanaca odnosno genomskih jednolančanih (ss)DNK.

## *Organizacija i ispoljavanje genoma biljnih virusa i njihovo umnožavanje*

U prethodnom delu data je uopštena organizacija i sastav genoma biljnih virusa, način ispoljavanja genoma i glavni proizvodi gena, kao i uopšten pregled umnožavanja informacionih RNK (mRNK) i načini umnožavanja različitih tipova genoma biljnih virusa. U ovom poglavlju prikazaće se detaljan pregled organizacije i ispoljavanja genoma, kao i produkti gena, koji imaju različite funkcije u životnom ciklusu biljnih virusa. Pored toga izneće se i način umnožavanja biljnih virusa. Umnožavanje biljnih virusa biće razmatrano po tipovima genoma koje sadrže virusi za najznačajnije i najbolje proučene rodove biljnih virusa.

### *Umnožavanje virusa sa pozitivnim jednolančanim RNK genomom (ss (+) RNK)*

Kao što je razmatrano u prethodnom tekstu utvrđeno je da biljni virusi sa pozitivnim jednolančanim RNK genomom (ss+RNK) mogu da koriste pet osnovnih strategija za uspešno prevođenje genoma u eukariotskom sistemu sinteze proteina radi stvaranja proteina-produkata neophodnih za umnožavanje i ostvarivanje drugih funkcija virusa. Biljni virusi koriste samo jednu, ali često i kombinacije dve ili tri strategije za sintezu proteina. Organizacija i ispoljavanje genoma sažeto je u obliku mape odnosno šeme strukture i organizacije genoma za svaki razmatrani virus.

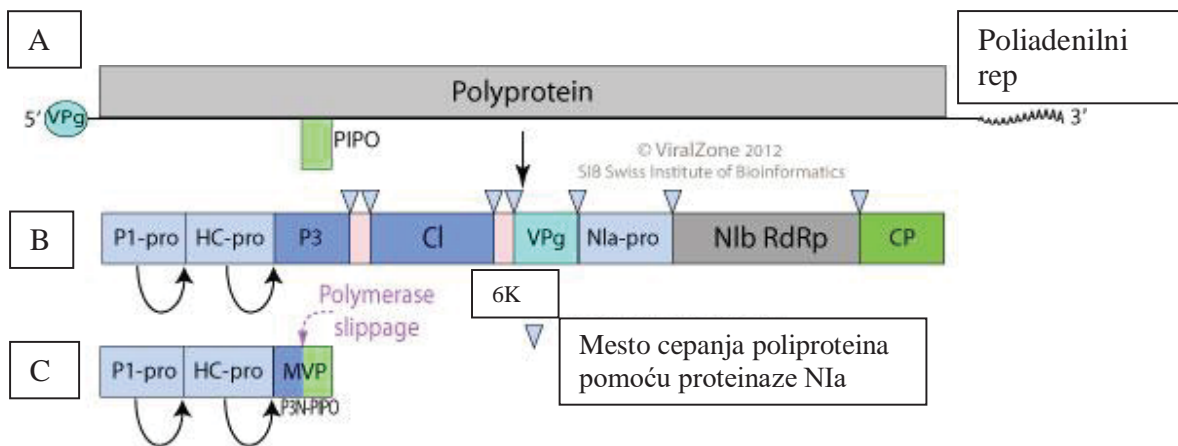
#### *Rod Potyvirus*

Rod *Potyvirus* pripada porodici *Potyviridae*. Ona se odlikuje fleksibilnim končastim česticama. Ovi virusi zaražavaju širok krug biljnih vrsta. Prenose se mehanički ili insektima od kojih su najznačajniji vektori lisne vaši. Genom ovih virusa je u obliku jedne ss(+)RNK i sastoji se od oko 8,5-10 kb. Kod pet rodova ove porodice genom se sastoji iz jednog dela a kod roda *Bymovirus* je podeljen na dva dela tj. genom je dvokomponentan. Genomi ovih rodova imaju na 5' krajevima VPg (mali protein vezan kovalentno za 5' kraj), a na 3' krajevima poliadenilni (poly A) rep (Slika IX.5.). Virus koji pripadaju ovoj porodici su

jedini biljni virusi koji koriste samo strategiju cepanja poliproteina u stvaranju produkata neophodnih za umnožavanje virusa. Organizacija genoma i način umnožavanja je najbolje proučen kod virusa roda *Potyvirus* čiji se genom sastoji iz jednog dela i to kod virusa nazubljenosti duvana (*Tobacco etch virus-TEV*) iz ovog roda. Proučavanja su međutim pokazala da svi virusi ove porodice imaju sličnu strukturnu organizaciju genoma sa nekim manjim razlikama.

### Struktura genoma

Genom virusa nazubljenosti duvana (TEV) ima na 5' kraju VPg (protein vezan za genom od 24 kDa) i nekodirajući region od 144 nukleotida kod 5' kraja. Na genomu se nalazi jedan veliki otvoreni okvir čitanja (ORF) od 9161 nukleotida, koji bi mogao da kodira poliprotein sa oko 3000 aminokiselina molekulske težine od 340 kDa. Kod 3' kraja se nalazi nekodirajući region od 190 nukleotida, a 3' kraj se završava poliadenilnim repom (od 20-160 adenina). Genom se prevodi u poliprotein koji se cepa na devet ili deset produkata pomoću proteaza kodiranih od strane virusa (Slika IX.5.A i B).



Slika IX.5. Struktura genoma virusa iz roda *Potyvirus* (virus nazubljenosti duvana, TEV) i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### Produkti gena

#### 1. Proteini u virusnoj čestici- strukturni proteini

Virusna čestica TEV- virusa je izgrađena od 2000 molekula proteinskog omotača tj. od 2000 proteinskih podjedinica omotača sa molekulskom težinom podjedinice od 30 kDa po jednoj podjedinici. Protein omotača (obežan CP), se stvara cepanjem dela poliproteina iz c-terminalnog proteina kod 3' kraja. Ovaj protein (CP) ima ulogu i u prenošenju ovog virusa pomoću lisnih vaši (Shaw et al., 1990). VPg mali protein vezan za genom za 5' kraj nastaje takođe cepanjem poliproteina (Slika IX.5.B).

#### 2. Citoplazmatske proteinske inkluzije u obliku vodeničnog vitla („pin wheel“ inkluzija)

Svi virusi roda *Potyvirus* formiraju karakteristične inkluzije u obliku vodeničnog vitla u citoplazmi ćelija zaraženih biljaka (Edwardson, 1974). Ove inkluzije sastoje se od agregiranog virusno kodiranog proteina nazvanog citoplazmatski inkluzijski protein (CI). Ovaj protein kod TEV-a iznosi oko 70 kDa. Smatra se da je CI protein uključen u kretanje virusa iz ćelije u ćeliju (Hull, 2004; Slika IX.5.B.).

#### 3. Citološke amorfne proteinske inkluzije i pomoćne proteinske komponente

Kod nekih virusa roda *Potyvirus* primećena su citoplazmatska amorfna tela i pomoćne

proteinske komponente. Pomoćne komponente proteina su kodirane od strane virusa u blizini 5' kraja molekulske težine od 52 kDa i neophodne su za omogućenje prenošenja virusa vašima.

#### **4. Proteinske inkluzije u jedru**

Jedarna inkluzijska tela označena kao NI (nuclear inclusions- NI) pronađena su kod TEV-a i nekih drugih virusa iz roda *Potyvirus*. Jedarne nuklearne inkluzije su sastavljene od dva proteina NIa od 48 kDa i Nib od 58 kDa. Ove proteine kodiraju svi virusi iz roda *Potyvirus*, ali samo neki od njih stvaraju jedarne inkluzije. Protein NIa kod TEV-a je virusno kodirani enzim proteinaza (Nia-pro), koja razlaže tj. cepa poliprotein pomoću autoproteolize (Carrington i Dougherty, 1987a i b). Ova proteinaza vrši cepanje i na još četiri mesta u blizini 3' kraja genoma. Protein Nib ima sekvencu koja odgovara sekvencama polimeraza tj. RNK zavisnoj RNK polimerazi (Nib RdRp), kao i kod drugih virusa i učestvuje u sintezi RNK (Allison et al., 1986; Slika IX.5.B).

#### **5. Proteinaze**

Virusi iz roda *Potyvirus* kodiraju tri proteinaze koje su uključene u razlaganje poliproteina i to su N-terminalni protein od 35kDa tzv. P1 protein, N-terminalni protein od 52 kDa tzv. HC-Pro protein i C-terminalni deo od NIa proteina od 27 kDa, obeležen sa MVP koji se spajaju (Slika IX.5.B i C).

#### **Umnožavanje virusa roda *Potyvirus***

Kao što je već bilo napomenuto genomi virusa roda *Potyvirus* ispoljavaju se kao poliproteini koji se potom razlažu tj. cepaju na 10 produkata tj. proteina. Mada je najveći broj proteina uključen u replikaciju virusa postoji grupa proteina koji imaju suštinsku odnosno odlučujuću ulogu u replikaciji virusa. To su proteini CI sa aktivnošću helikaze, protein 6 K, Nia protein, VPg-proteinaze i Nib protein, odnosno RNK zavisna RNK polimeraza (RdRp). Ovde će se izneti karakteristike ovih proteina i njihova uloga u umnožavanju virusa po redosledu kako se oni javljaju u poliproteinu od 5' ka 3' kraju genoma, kao i njihova uloga i interakcije između njih u umnožavanju virusa.

Proteini CI virusa roda *Potyvirus* imaju aminokiselinski sastav koji ukazuje da je to helikaza. Tako je na primer kod virusa šarke šljive (*Plum pox virus*, PPV) je utvrđeno njegovo vezivanje za RNK i aktivnost enzima helikaze. Protein 6 K<sub>2</sub> kod TEV-a je povezan sa membranom ćelije, koja je uključena u virusnu replikaciju (Restrepo-Hartwig i Carrington, 1994). Utvrđeno je povezivanje proteina 6 K<sub>2</sub> sa velikim vezikularnim (mehurastim) strukturama koje potiču iz endoplazmatičnog retikuluma (ER). Tako je kod TEV-a virusna RNK u replikacionom kompleksu povezana membranama sličnim endoplazmatičnom retikulumu.

Produkt NIa sadrži dva regiona i to N-terminalnu VPg i C-terminalnu proteinazu. Deo NIa proteina koji je proteinaza povezuje se sa virusnom RNK virusa nazubljenosti duvana (TEV) (Daros i Carrington, 1997). Protein Nib ima aminokiselinsku sekvencu enzima RdRp. Utvrđeno je i nukleokiselinsko povezivanje sa ovim proteinom (Merits et al., 1998).

Različita proučavanja otkrila su veliki broj interakcija između ovih proteina povezanih sa replikacijom virusa roda *Potyvirus*. Tako utvrđena interakcija Nib proteina sa NIa proteinom kod TEV-a (Li et al., 1997). Daros i saradnici (1999) su dokazali da je interakcija između proteina NIa i Nib je veoma bitna za replikaciju genoma virusa nazubljenosti duvana (TEV).

Na osnovu iznetih činjenica izgrađena je slika o sastavljanju i sklapanju virusa roda *Potyvirus* u replikacionom kompleksu. U ovaj replikacioni kompleks virusa uključene su

interakcije između produkata gena i upravljanja procesima kod poliproteina. Tri poliproteina koji sadrže protein 6 K su otkrivena u zaraženim ćelijama virusom nazubljenosti duvana (TEV) i to CI/6K, 6K/VPg i 6K/NlA (Restrepo-Hartwig i Carrington, 1994). Ovo ukazuje na činjenicu da se replikacioni kompleks dešava na membranama nalik endoplazmatičnom retikulumu (ER) i da replikacija započinje pomoću vezivanja proteina 6K za ove membrane. Tada 6K-NlA kompleks dopunjava i pojačava dejstvo proteina NlB preko NlA-NlB interakcije oslobađajući polimerazu za sintezu RNK. Kontrolisani procesi kod poliproteina virusa roda *Potyvirus* omogućavaju elementima ovog kompleksa da se sakupe odnosno združe i ostvare potpunu funkciju proteina. Protein NlA ojačava protein NlB što se ostvaruje iz kompleksa i ojačava njegovu jedarnu lokalizaciju upravljajući ga ka jedru.

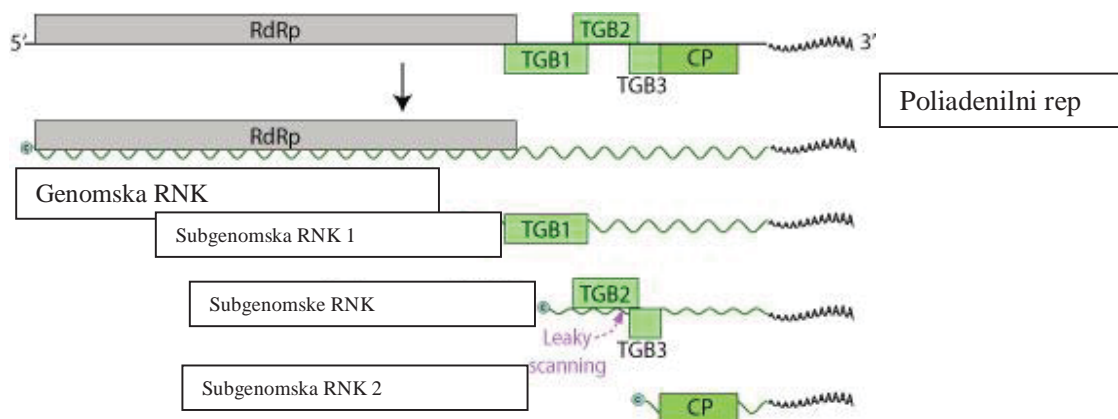
Smatra se da VPg protein takođe uključen u započinjanje sinteze RNK na način sličan kao kod picornavirus-a (Wimmer et al., 1993; Pfister et al., 1999). Verovatno da se protein domaćina i drugi proteini virusa roda *Potyvirus* takođe dopunjuju u kompleksu. Produkti gena, odnosno ispoljavanja genoma TEV-a su prikazani su na slici IX.5.A, B i C.

### Rod *Potexvirus*

Virusi roda *Potexvirus* svrstani su u porodicu *Alphaflexiviridae* koja ima četiri roda. Umnožavanje roda *Potexvirus* je najbolje proučeno. Pojedini virusi ovog roda imaju uzak krug domaćina, ali kao rod oni zaražavaju veliki broj biljnih vrsta. Virusi ovog roda su stabilni i prenose na mehanički način. Virusi roda *Potexvirus* su primer biljnih virusa koji koriste strategiju subgenomskih RNK (SgRNK) radi prevođenja njihovih genoma u proteine u eukariotskom sistemu sinteze proteina.

#### Struktura genoma

Virusi roda *Potexvirus* imaju genom sastavljen od pozitivne jednolačane RNK (ss(+)RNK) sa veličinom 5,9-7,0 kb u zavisnosti od vrste virusa. Genom na 5' kraju ima kapu od metilgvanozina ( $m^7G^5ppp$ ) a na 3' kraju poliadenilni rep (polyA). Genomi različitih virusa ovog reda su bili u potpunosti sekvencionirani i većina njih pokazuje istu organizaciju genoma koji se sastoji od pet otvorenih okvira čitanja (ORF). Jedan od najbolje proučenih virusa iz ovog roda je virus mozaika bele deteline (*White clover mosaic virus*- WCMV) (Hull, 2004). Struktura ovog genoma je prikazana na slici IX.6.



Slika IX.6. Struktura genoma virusa iz roda *Potexvirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Kod 5' kraja genoma 40 terminalnih nukleotida pokazuju veliku podudarnost kod svih virusa roda *Potexvirus*, a nekodirajući region kod 5' kraja obiluje sa mnogo adenin i citozin rezidua.

Otvoreni okvir čitanja 1 (ORF1) kodira protein od 147 kDa. Protein prepisan pomoću ORF1 ima delove sekvenci koji odgovaraju genima polimeraze, tj. enzimu RdRp (Hull, 2004). Otvoreni okviri čitanja 2, 3 i 4 (ORF 2,3 i 4, obeleženi kao TGB1, TGB2 i TGB3) kodiraju proteine od 25kDa, 12 kDa i 8kDa. Ovi otvoreni okviri čitanja se blago preklapaju čineći tzv. „trostruki genomski blok“ (Slika IX.6). Produkti ovih otvorenih okvira čitanja (ORF 2, 3 i 4) su proteini uključeni u kretanje virusa iz ćelije u ćeliju. Otvoreni okvir čitanja 5 (ORF 5), označen kao CP, kodira proteinski omotač čija se veličina kreće od 19 do 27 kDa u zavisnosti od vrste virusa. ORF 1 se prevodi direktno iz genomske RNK, a ORF 2, 3 i 4 iz subgenomske RNK 1 (1,9-2,1 kb), a ORF 5 se prevodi u proteinski omotač iz subgenomske RNK 2 (SgRNK 2; Slika IX.6).

### ***Umnožavanje virusa roda Potexvirus***

Sinteza genomskih i subgenomskih RNK virusa roda *Potexvirus* dešava u različitim delovima biljnih ćelija u zavisnosti od vrste virusa. Tako na primer X-virus krompira (*Potato virus X*) se umnožava u protoplastima ćelije i apsorbuje se za plazmatičnu membranu. Za virus žutog mozaika deteline (*Clover yellow mosaic virus*, CYMV) je utvrđeno da se rane faze umnožavanja javljaju u citoplazmi i vakuolama ćelije. Kod nekih virusa ovog roda, a posebno kod PVX virusa pronađene su amorfne inkluzije različite veličine u ćelijama. One se sastoje od virusnih čestica i normalnih delova ćelije biljke domaćina kao što su mitohondrije, endoplazmatski retikulum i vakuole. Amorfne inkluzije su raspoređene nepravilno u grupe. Utvrđeno je da one nisu mesta umnožavanja i sklapanja virusnih čestica.

Sinteza subgenomskih RNK koje kodiraju proteinski omotač, kao i genomskih RNK kod nekih virusa ovog roda vezana je za poliribozome kao što je to slučaj kod virusa mozaika bele deteline (*White clover mosaic virus*, WCMV). Kod nekih virusa roda *Potexvirus* deo genomske RNK kod 5' kraja, tj. ORF 1 služi kao model za prepisivanje najvećeg proteina (147-182 kDa) koji ima sekvence slične polimerazi. Takođe su utvrđene kod ovih virusa i prisustvo dvolančanih genoma RNK (dsRNK), koje verovatno predstavljaju replikativnu formu u procesu umnožavanja genomske RNK. Sklapanje proteinskog omotača sa genomskom RNK kod izduženih fleksibilnih virusa najbolje je proučeno kod virusa roda *Potexvirus* a posebno kod virusa mozaika papaje (*Papaya mosaic virus*, PapMV), koji pripada ovom rodu (AbouHaidar i Erickson, 1985). Ovaj proces je sličan sa sklapanjem kod čestica virusa mozaika duvana. Kod virusa roda *Potexvirus* proteinski omotač obrazuje različite vrste agregata u odsustvu virusne RNK. Međutim u prisustvu genomske RNK proteinski omotač formira duple diskove koji sadrže dva sloja od devet podjedinica. Ovi dupli diskovi verovatno započinju sklapanje virusnih čestica. Inicijalno mesto za početak sklapanja virusnih čestica se nalazi pri 5' kraju. To bi mogla da bude sekvenca GAAA koju sadrži kapa na 5' kraju svih virusa roda *Potexvirus*. Na ovom mestu moglo bi da se započne oblaganje RNK proteinskim omotačem tj. uvlačenje u kanal koji formiraju diskovi (Hull, 2004).

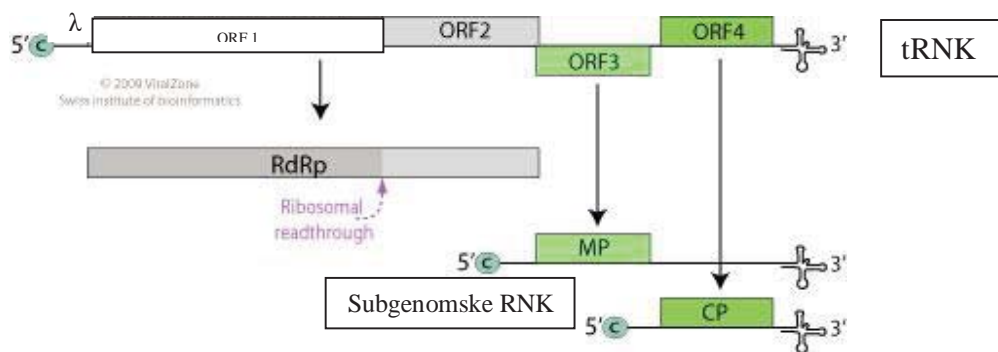
### ***Rod Tobamovirus***

Virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), predstavnik roda *Tobamovirus* je bio prvi izolovani virus i predstavlja jedan od najproučenijih. Genom virusa mozaika duvana (TMV) je bio među prvim sekvencioniran (Goel et al., 1982). Od tada genomi najvećeg

broja biljnih virusa sa jednospiralnom pozitivnom RNK (ss(+))RNK su sekvencionirani (van Regenmortel et al., 2000). Virus mozaika duvana je jedan od najrasprostranjenijih biljnih virusa, koji parazitira širok krug domaćina. O organizaciji genoma i njegovom umnožavanju govorićemo detaljnije u odnosu na druge viruse. Virusi iz roda *Tobamovirus* koriste dve strategije za prepisivanje genoma u proteine i to strategiju subgenomskih RNK (SgRNK) i strategiju očitavanja preko stop kodona.

### Struktura genoma

Struktura i organizacija genoma virusa mozaika duvana (TMV) je prikazana na slici IX.7.



Slika IX.7. Struktura genoma virusa iz roda *Tobamovirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Genom (ss(+))RNK virusa mozaika duvana (TMV) se sastoji iz nekoliko blisko sabijenih otvorenih okvira čitanja (ORF). Kapa od 7-metilgvanozina na 5' kraju je vezana za prvi nukleotid- gvanilinsku kiselinu genoma. Od kape se pruža sekvenca od 69 nukleotida koji ne učestvuju u prevođenju tzv. nekodirajući region nazvan λ (lambda) sekvenca do početnog AUG kodona. Na 3' kraju genoma nalazi se struktura slična transportnoj RNK (tRNK). Nakon nekodirajuće sekvence λ i AUG kodona nalazi se ORF 1 koji kodira protein od 126 kDa. Terminalni ili stop kodon UAG kod ORF 1 je propustljiv, tako da nastaje drugi veći protein očitavanjem preko stop kodona. Ovaj protein ima molekulsku težinu od 183 kDa i nastaje prepisivanjem ORF 1 i ORF 2. Proteini od 126 kDa i 183 kDa imaju isti početni kodon AUG, a deo proteina od 183 kDa je identičan sa proteinom od 126 kDa pošto se oni delom preklapaju. Treći ORF (ORF 3) kodira protein od 30 kDa. Ovaj ORF 3 se završava sa dva nukleotida pre početnog kodona. ORF 4 koji je najbliži 3' kraju kodira protein omotača virusa od 17,6 kDa (Knowland et al., 1975; Slika IX.7). Ova dva najmanja otvorena okvira čitanja (ORF 3 i ORF 4) najbliža 3' kraju ne prevode se direktno iz genomske RNK nego preko subgenomskih RNK (SgRNK). Subgenomske RNK (SgRNK) su označene kao MP (protein od 30 kDa) i CP SgRNK (proteinski omotač; Slika IX.7). Utvrđeno je da subgenomske RNK na 5' krajevima nemaju kapu (Joshi et al., 1983) i izgleda da se 5' krajevi završavaju sa dva ili tri fosfata, a na 3' krajevima formiraju strukture slične tRNK. Protein od 54 kDa produkt SgRNK I<sub>1</sub> nije još utvrđen „*in vivo*“. S toga genom virusa mozaika duvana kodira četiri proteina (ORF1, 2,3 i 4), a možda i peti (ORF5) koji još nije utvrđen u ogledima „*in vivo*“.



### ***Proteini sintetizovani „in vivo“***

Proteini koji odgovaraju približno po veličini proteinima od 126 kDa i 183 kDa su utvrđeni u zaraženim listovima duvana (Scalla et al., 1976) i u zaraženim protoplastima (Sakai i Takebe, 1974). Protein od 30 kDa je otkriven u zaraženim protoplastima (Beier et al., 1980) i u zaraženim listovima duvana (Joshi et al., 1983). Takođe je utvrđena sinteza proteinskog omotača *in vivo* i locirana nukleotidna sekvenca, odnosno gen za ovaj protein u regionu 3' kraja genoma (Anderer et al., 1960; Tsugita et al., 1960). Protein od 54 kDa kao što je već bilo napomenuto nije otkriven „*in vivo*“.

### ***Funkcija virusno kodiranih proteina***

**Proteini od 126 kDa i 183 kDa:** oba proteina (P126 i P183) su uključena u umnožavanje virusne RNK. Oni su nađeni u replikacionom kompleksu i izolovani iz zaraženih biljaka (Osman i Buck, 1996; Watanabe et al., 1999). To su kompleksni proteini koji u svom sastavu sadrže više enzima. Oba proteina (P126 i P183) imaju u svom sastavu metiltransferazu i helikazu a protein od 183 kDa (P183) pored ova dva enzima sadrži i RNK zavisnu RNK polimerazu (RdRp). Prema tome oba proteina (P126 i P183) su potrebna za normalno umnožavanje virusa mozaika duvana (TMV).

**Proteinski omotač:** glavna funkcija proteinskog omotača (CP protein) je zaštitna uloga virusne RNK od spoljnih uticaja u ćeliji. Međutim pojedina proučavanja su pokazala da je ovaj protein od 17,6 kDa multifunkcionalan. Na primer biljne vrste iz roda *Nicotiana* koje imaju N-gen reaguju prema tipskom soju virusa mozaika duvana sistemčnim simptomima u vidu mozaika a prema soju ovog virusa nazvanom virus mozaika paradajza (*Tomato mosaic virus-ToMV*) nekrotičnim pegama bez simptoma mozaika. Utvrđeno je da virusni faktor koji prouzrokuje nekrotične pege se nalazi u genu proteinskog omotača (Saito et al., 1987). Zamena aminokiseline fenilalanina serinom u položaju 148 proteina omotača izazvana mutacijom izaziva pojavu nekrotičnih pega kod biljaka roda *Nicotiana* (Knorr i Dawson, 1988). Proteinski omotač igra ulogu i u kretanju virusa iz ćelije u ćeliju.

**Protein od 30 kDa:** proučavanje proteina od 30 kDa (P-30) su utvrdila njegovu funkciju tj. da je ovaj protein potreban za kretanje virusa iz ćelije u ćeliju (Taliensky et al., 1982; Atabekov et al., 1983).

### ***Umnožavanje virusa mozaika duvana (Tobacco mosaic virus-TMV)***

Za započinjanje umnožavanja virusa mozaika duvana (TMV), genomska RNK mora biti oslobođena od protenskog omotača ili bar proteinski omotač mora biti skinut delimično do nivoa prvog i drugog otvorenog okvira čitanja, koji omogućava njihovo prevođenje u proteine. Destabilizacija 5' kraja virusa mozaika duvana (TMV) omogućava ribozomima 80S da se pričvrste i vežu za nekodirajuću vodeću sekvencu kod 5' kraja genoma (Wilson, 1984). Krećući se duž ove vodeće sekvence u pravcu 3' kraja ribozomi odnosno kako su još nazvani stripozomi- ribozomi za svlačenje, uklanjaju tj. svlače proteinske podjedinice. Utvrđeno je da nekodirajuća sekvenca (vodeća sekvenca) kod 5' kraja genoma ne sadrži ostatke guanina (G), što prouzrokuje slabu interakciju i povezanost proteinskog omotača sa virusnom RNK. Takva mikro nestabilnost dozvoljava da se ribozomi zakače i vežu za vodeću sekvencu i započnu kotranslaciono rasklapanje tj. proces odnošenja proteinskih podjedinica sa genomske RNK (Mundry et al., 1991). Krećući se u pravcu ka 3' kraju genoma ribozomi tzv. stripozomi dolaze do prvog početnog AUG kodona i nastavljajući dalje kretanje vrše prepisivanje ORF 1 i ORF 2 u proteine od 126 i 183 kDa. Genomska RNK predstavlja i informacionu RNK (mRNK) i omogućava prepisivanje ovih otvorenih okvira čitanja. Ostali okviri čitanja (ORF

3 i ORF 4) koji se prepisuju u proteine od 30 kDa i 17,6 kDa (proteinski omotač) se ne mogu direktno prepisati iz genomske RNK već se to vrši preko subgenomskih RNK (SgRNK I<sub>2</sub> CPSgRNK), odnosno informacionih subgenomskih RNK (MP i CP).

Prvi tj. rani proizvodi u procesu replikacije su proteini od 126 kDa i 183 kDa koji predstavljaju komplekse enzima metiltransferaze, helikaze i RNK zavisne RNK polimeraze (RdRp). Ovi proteini su neophodni za umnožavanje virusne RNK i sačinjavaju replikacioni kompleks sastavljen od genomske RNK kao modela ili kalupa, plus (+) i minus (-) lanca RNK, mRNK i prelaznih oblika RF (replikaciona forma) i RI (replikacioni intermedijer). Proteini od 126 i 183 kDa se sintetizuju istovremeno u odnosu 1:1 (Osman i Buck, 1996; Watanabe et al., 1999).

Protein od 183 kDa (kompleks: metiltransferaza, helikaza i RdRp) ima višestruku ulogu i to za prepoznavanje promotera (mesta za započinjanje sinteze minus (-) i plus (+) lanca RNK), prepisivanje dela genoma u SgRNK i stvaranje kape na genomskoj RNK. Bez proteina od 183 kDa nije moguće umnožavanje virusa mozaika duvana (TMV). Proces umnožavanja virusa se može vršiti i bez proteina od 126 kDa, ali ovaj protein povećava razmeru genomske RNK, odnosno stepen replikacije za deset puta (Lewandowski i Dawson, 2000).

Kao što je napred rečeno genomska RNK na 5' kraju ima metilgvanozinsku kapu a na 3' kraju uvijenu nekodirajuću strukturu koja se po nekim autorima sastoji iz tri strukturna dela od kojih je jedan sličan tRNK (van Belkum et al., 1987) a po drugim iz četiri strukturna dela (D1, D2, D3, i D4), gde je D2 deo sličan tRNK (Osman et al., 2000). Ovi autori su utvrdili da su svi ovi delovi neophodni za započinjanje sinteze minus (-) lanca RNK.

RNK zavisne RNK polimeraze (RdRp), kao deo proteina od 183 kDa i protein od 126 kDa prepoznaju strukturu sličnu tRNK kao mesto za vezivanje na genomu, vezuju se za ovo mesto i započinju sintezu minus (-) lanca RNK na osnovu modela, odnosno kalupa genomske RNK, koja predstavlja plus (+) lanac odnosno mRNK virusa. U daljem procesu umnožavanja nastaju međufaze a to su dvolančana +/- RNK ili tzv. replikativna forma (RF), bazno sparena struktura sa punom dužinom minus (-) i plus (+) lanca i replikativni intermedijer (RI) koji se sastoji od minus (-) spirale kao modela ili matrice po kojoj se stvaraju plus (+) lanci različite dužine tzv. repovi. Kada dostignu punu dužinu genomske RNK oni se odvajaju preuzimajući ulogu genomske RNK ili informacione RNK (mRNK). Informacione RNK virusa služe kao model ili kalup za sintezu novih minus (-) lanca. Subgenomske RNK (SgRNK) na svom 5' kraju nemaju kapu već su vezane sa dva ili tri forsata a 3' kraju nalazi se struktura slična tRNK. Subgenomska RNK (CpSgRNK) iz koje se prepisuje proteinski omotač se sintetizuje pomoću unutrašnjeg započinjanja na minus (-) lancu genomske RNK a ne prepisivanjem minus (-) lanca (Watanabe i Okada, 1986). Sintezu ove CpSgRNK se vrši pomoću proteina od 183 kDa.

Neki autori smatraju da i proteini domaćina mogu biti uključeni u replikaciju virusa mozaika duvana (TMV) (Dawson i Schlegel, 1976; Dawson 1978). Pretpostavlja se da bi region gde se nalazi helikaza kod proteina od 126 kDa i 183 kDa mogao biti region za vezivanje proteina biljaka domaćina koji učestvuju u replikaciji virusa. Osman i Buck (1997) su utvrdili u replikacionom kompleksu virusa mozaika duvana (TMV) pored proteina od 126 kDa i 183 kDa i tri proteina biljaka domaćina od 56,54 i 50 kDa, a Watanabe et al. (1999) su našli proteine domaćina od 34 i 220 kDa u replikacionom kompleksu. Gen Tom 1 iz biljke *Aradiopsis* sp. je bio neophodan za efikasno umnožavanje sojeva TMV-Cg i TMV-L (sojevi Cg i L virusa mozaika duvana- TMV) (Ishikawa et al., 1991, 1993). Protein Tom1 deluje u sadejstvu sa delom za helikazu kod proteina virusa od 126 i 183 kDa i učestvuje u

obrazovanju replikacionog kompleksa (Yamanaka et al., 2000).

### ***Sklapanje genomske RNK i proteinskog omotača***

Sklapanje virusne čestice u virion je najdetaljnije proučeno kod virusa mozaika duvana (TMV). Utvrđeno je da sklapanje čestica virusa mozaika duvana (TMV) se ne zbiva tako da se oko virusne RNK slažu pojedinačne ili grupe proteinskih podjedinica omotača. Poznato je da proteinske podjedinice lako i spontano stvaraju agregate u okviru dvoslojnih diskova, koji u sredini imaju šupljinu (kanal) (Butler i Klug, 1971). Svaki sloj u disku se sastoji od 17, odnosno tačno od 16,3 proteinskih podjedinica, tako da je dvoslojni disk sastavljen od 34 proteinske podjedinice. Sklapanje virusa mozaika duvana (TMV) započinje kod specifične sekvence na genomu, koja se naziva inicijalno mesto (IM) i biva prepoznato od proteinskih podjedinica sakupljenih u dvoslojne diskove (Zimmern, 1977; Jonard et al., 1977). Inicijalno mesto se nalazi udaljeno 5500 nukleotida od 5' kraja i 900 nukleotida od 3' kraja genoma i sastoji se od 65 nukleotida. Početna inicijalna sekvenca sastoji se od tri tripleta baza AAG, AAG i UCG, koje su savijene u obliku omče i ravnog dela od parno spojenih baza, koje sadrže oko 14 parova (Turner et al., 1986).

Omču sastavljenu od devet baza prepoznaje dvoslojni disk i spaja se na tom mestu sa virusnom RNK. Vezivanje dvoslojnog diska za omču je rezultat pravilnog rasporeda guanina (Turner i Butler, 1986; Turner et al., 1988). Zatim nastaje spajanje sledećih dvoslojnih diskova i formiranje proteinskog omotača oko virusne RNK. Prema tome proteinski omotač virusa mozaika duvana se sastoji od dvoslojnih diskova. Unutrašnji deo dvoslojnog diska se ponaša kao čeljust odnosno par vilica, koje služe za specifično vezivanje za omču kao početnog mesta sklapanja sa RNK i početka stvaranja spiralne forme virusne čestice (Champness et al., 1976). Sklapanje tj. stvaranje proteinskog omotača, odnosno porast čestice je mnogo brži u pravcu 5' kraja nego u pravcu 3' kraja (Zimmern, 1977, 1983). Smatra se da pri 3' kraju genoma se nalaze određene sekvence koje blokiraju brže izduživanje omotača u ovom pravcu (Fairall et al., 1986).

Mehanizam sklapanja virusne RNK i proteinskog omotača u česticu izgleda da se dešava tako da inicijalno mesto na virusnoj RNK se uvlači u središnu šupljinu dvoslojnog diska. Pri tome proteinske podjedinice postepeno menjaju svoj položaj u spiralni, zbog čega od dva pravilna sloja proteinskih podjedinica u disku nastaju dva navojka spirale sastavljene od proteinskih podjedinica. Prilikom ovog procesa prošireni deo RNK (omča) vezuje se za prvi navojak diska. Nakon toga susedni sparni nukleotidi (baze) u ravnom delu se razdvajaju stvarajući sledeću omču koja se povezuje sa sledećim dvojnim diskom. Na taj način stvara se spirala koju sačinjavaju dvojni diskovi, sastavljeni od proteinskih podjedinica. Stvarajući nove omče na virusnoj RNK dolazi do slaganja i sklapanja novih dvoslojnih diskova i uvlačenje oba kraja virusne RNK u središnju šupljinu proteinskog omotača. Nakon sinteze virusne RNK tj. genoma i proteinskog omotača vrši se sklapanje ovih komponenti u virusnu česticu. Kod virusa mozaika duvana (TMV) nove čestice se javljaju u visokim koncentracijama u ćeliji domaćina. Vrlo često dolazi do njihovog agregiranja u kristalne inkluzije. Novo nastale virusne čestice-virioni- su stabilne i što ih je više to sve ređe dolazi do njihovog razlaganja tj. svlačenja proteinskog omotača. Međutim poznato je da u početku procesa umnožavanja nakon ulaska virusa u ćeliju, kad je njegova koncentracija niska dolazi brzo i lako do skidanja proteinskog omotača i rasklapanja čestice. Jedna od pretpostavki mogućeg razloga ove pojave je ta da na kraju procesa umnožavanja kad već nastane veliki broj virusnih čestica nema više slobodnih ribozoma za skidanje proteinskog omotača. Ribozomi su u to vreme verovatno još zauzeti prepisivanjem tj. translacijom subgenomske

RNK. Drugi razlog mogao bi biti i taj što pri procesu umnožavanja u ćeliji domaćina postoji srazmerno daleko više virusa nego slobodnih ribozoma, jer je u početku ovog procesa taj odnos izrazito u korist ribozoma, što uslovljava intezivno rasklapanje virusa.

#### ***Mesta umnožavanja virusa u ćeliji***

Mesta za umnožavanje virusa mozaika duvana povezana su sa citoplazmatskim inkluzijama tzv. „X-telima“ ili viroplazmom. Utvrđeno je da stvaranje replikacionih intermedijera kao i enzima RdRp je povezano sa citoplazmatskim membranama (Beachy i Zaitlin, 1975; Osman i Buck, 1996).

Sinteza virusne RNK, virusne replikaze i proteina od 30 kDa za kretanje virusa je smeštena kod endoplazmatičnog retikuluma, uključujući i perinuklearni endoplazmatični retikulum i vezikule povezane sa endoplazmatičnim retikulumom (Más i Beachy, 1999).

#### ***Rod Tymovirus***

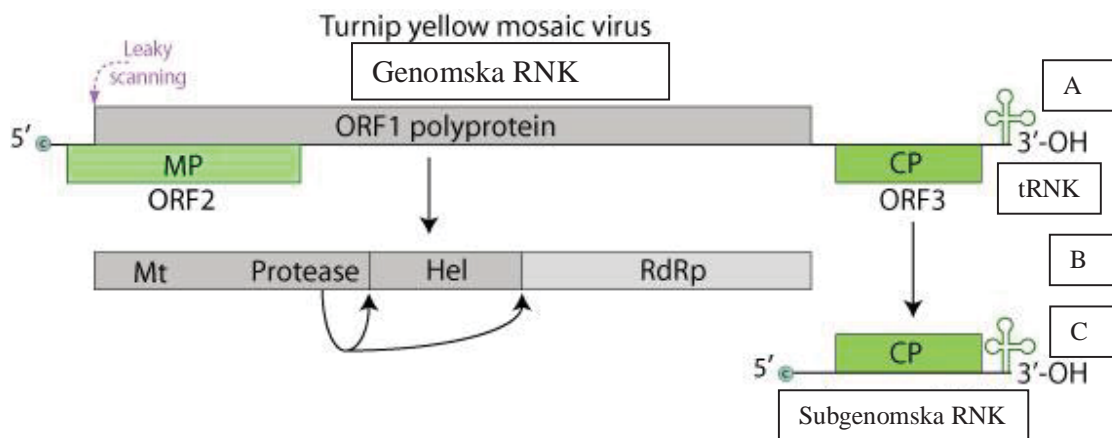
Virusi iz roda *Tymovirus* imaju relativno uzak krug domaćina iz porodice kupusnjača i krstašica. Najproučeniji virus iz ovog roda je virus žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus*-TYMV). Čestice virusa su izometrijskog oblika prečnika oko 28 nm. U procesu umnožavanja virus koristi kombinaciju dve strategije i to strategiju poliproteina i strategiju subgenomskih RNK (SgRNK).

#### ***Struktura genoma***

Struktura genoma virusa žutog mozaika postrne repe (TYMV) je detaljno proučena od strane Gibbs-a (1999). Genom virusa sastoji od jedne linearne jednolančane RNK sa pozitivnim predznakom ss(+)RNK, koja na svom 5' kraju ima metilgvanozinsku kapu (C), a na 3' kraju strukturu sličnu transportnoj RNK (tRNK), vezanu obično za aminokiselinu valin (Slika IX.8A.).

Organizacija genoma predstavlja veoma zbijenu strukturu koja sadrži gusto zbijene otvorene okvire čitanja od kojih se neki delimično preklapaju (Slika IX.8A.). Tako na primer kod evropskog soja virusa žutog mozaika postrne repe (TYMV) od 6318 nukleotida, koji sačinjavaju genom virusa samo 192 ili 3% predstavljaju nekodirajući region. Najduži otvoreni okvir čitanja (ORF 1) počinje inicijalnim kodonom AUG kod pozicije 95-og nukleotida a završava se sa stop kodonom UAG kod 5627-og nukleotida. Iz ORF 1 prepisuje se protein od 206 kDa sastavljen od 1844 aminokiselina. Ovaj protein u svom sastavu ima sekvence za metiltransferazu, proteazu i helikazu i RNK zavisnu RNK polimerazu (RpRd) (Slika IX.8B.). Ovaj protein se pomoću proteaze cepa na dva manja dajući produkte od 140 kDa i 66 kDa. Drugi otvoreni okvir čitanja (ORF 2) počinje od prvog inicijalnog kodona AUG kod 88-og nukleotida i završava se stop kodonom kod 1972-og nukleotida i kodira protein od 69 kDa sastavljen od 628 aminokiselina. Otvoreni okvir čitanja ORF 2 preklapa se delimično sa ORF 1 (Slika IX.8A.). Gen za proteinski omotač nalazi se kod 3' kraja genoma kao treći okvir čitanja (ORF 3) i kodira protein omotača virusa od 20 kDa (CP). ORF 1 i ORF 2 se ispoljavaju direktno preko genomske RNK, a proteinski omotač se ispoljava preko subgenomske RNK (SgRNK; Slika IX.8C.). Subgenomska RNK se nalazi u istoj čestici virusa sa genomskom RNK (Pleij et al., 1977). Pri 3' kraju nalazi i nekodirajući region od 105 nukleotida koji sadrži i strukturu sličnu tRNK. Pri 5' kraju genoma su utvrđena dva regiona identična za sve viruse roda *Tymovirus* i to sekvenca CAAU/C kod inicijalnog kodona AUG i sekvence od 16 nukleotida kod 5' kraja nazvane „tymobox“ koja može imati značajnu ulogu za započinjanje sinteze subgenomske RNK.

Struktura genoma virusa žutog mozaika postrne repe prikazana je na slici IX.8. A,B i C.



Slika IX.8. Struktura genoma virusa iz roda *Tymovirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### **Umnožavanje virusa žutog mozaika postrne repe (TYMV)**

Umnožavanje virusa žutog mozaika postrne repe vrši se u protoplastima a posebno u hloroplastima ćelije bijaka domaćina. Ono započinje nakon 12 časova od inokulacije a dostiže maksimum od  $1-2 \times 10^6$  virusnih čestica nakon 48 časova (Renaudin et al., 1975). Virusi roda *Tymovirus* prouzrokuju karakteristične citološke promene u zaraženim ćelijama. Ove promene su tesno povezane sa procesom umnožavanja virusa. Najtipičnije citološke promene u zaraženim ćelijama su pojava perifernih vezikula odnosno mehurića u hloroplastima tzv. mehuravost hloroplasta. U ovim vezikulama hloroplasta je utvrđena virusna RNK u obliku RI i virusno kodirani enzim RdRp (Ralph i Wojcik, 1966; Matthews, 1973). Umnožavanje virusa javlja se i kod endoplazmatičnog retikuluma (ER) koji može biti uključen u sintezu proteina virusa, sintezu virusne RNK polimeraze i proteinskog omotača. Prema tome izgleda da najveći deo sinteze virusne RNK se dešava u perifernim vezikulama hloroplasta.

Takođe je protein omotača virusa utvrđen i u jedru ćelija zaraženih virusom žutog mozaika postrne repe. Smatra se da se proteinski omotač sintetizuje u citoplazmi a zatim migrira u jedro ćelije. Nije još poznata uloga jedra u umnožavanju virusa.

Proces umnožavanja verovatno je sličan kao i kod drugih virusa sa ss(+)RNK i odvija se na sledeći način: u prvoj fazi umnožavanja dolazi do oslobađanja genoma od proteinskog omotača. Ovaj proces se vrši veoma brzo tako da posle 2 minuta od inokulacije 80-90% čestica virusa ostaje bez omotača i nastaje „gola“ RNK genoma, pri čemu se proces vrši bez destrukcije školjke proteinskog omotača, jer dolazi do praznjena proteinske školjke koja gubi oko pet do šest proteinskih podjedinica. Gola genomska RNK služi kao model ili kalup za sintezu minus (-) lanca RNK virusa žutog mozaika postrne repe (TYMV). Minus (-) lanci RNK započinju sintezu na 3' kraju genoma na strukturi sličnoj tRNK, gde se formiraju strukture u obliku pseudočvorova (Slika IX.8A.), koji predstavljaju početna mesta za sintezu (-) lanca RNK (Deiman et al., 1997; Singh i Dreher, 1997). Subgenomska RNK (SgRNK) na kojoj se nalazi gen za proteinski omotač se sintetizuje na minus lancu RNK. Minus (-) lanca RNK služi kao kalup za sintezu novih plus (+) lanca RNK. Ovaj proces se vrši preko

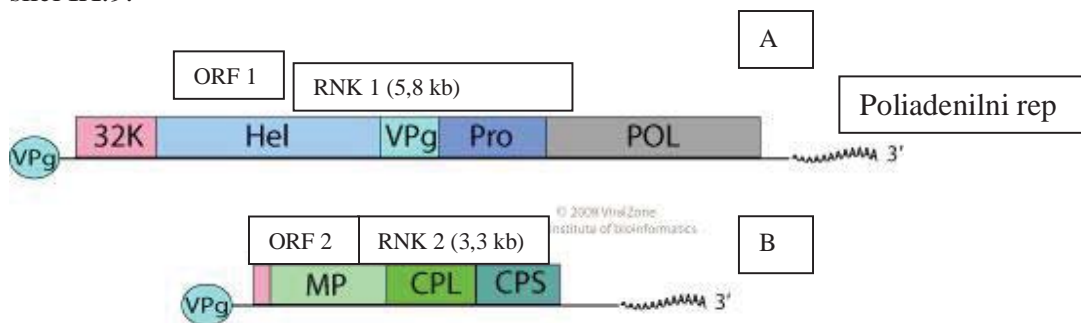
replikacionih formi (RF) tj. dvolančanih ds $\pm$ -RNK i replikativnih itermedijera (RI). Novostvoreni plus (+) lanci predstavljaju informacione (m)RNK ili genomske RNK. Na osnovu mRNK vrši se prepisivanje enzima proteaze koji cepa protein od 206 kDa na dva proteina od 140 i 66 kDa od kojih je onaj od 66 kDa RNK zavisna RNK polimeraza, koja učestvuje u procesu sinteze RNK virusa. Svi ovi procesi se dešavaju u vezikulama hloroplasta, koje su nastale kao posledica infekcije biljaka domaćina. Proteinski omotač koji kodira subgenomska informaciona (SgmRNK) se sintetizuje pomoću endoplazmatskog retikuluma i nakuplja se u citoplazmi ćelije oko vezikula u hloroplastu agregirajući se u pentomere i heksomere i formira proteinsku školjku. Ova proteinska školjka oblaže spoljni zid vezikule i uranja u membranu hloroplasta gde se nalaze vezikule. Genomska RNK formirana u vezikuli počinje da izlazi kroz vrat vezikule. Na genomu virusa žutog mozaika postrne repe (TYMV) postoji sprecificna sekvenca, koja prepoznaje protein omotača i na tom mestu dolazi do vezivanja skupine pentomera na spoljnoj membrani hloroplasta za genom i započinje sklapanje virusnih čestica. Sklapanje se nastavlja dodavanjem novih pentomera i heksomera dok se genom u potpunosti ne uvede u proteinsku školjku. Ovaj proces sklapanja virusnih čestica se dešava u citoplazmi ćelije domaćina.

### Rod *Comovirus*

Virusi iz ovog roda imaju prilično uzan krug domaćina i ograničenu rasprostranjenost. Prenose se najčešće insektima a neki i pomoću semena. Najbolje proučeni virus iz ovog roda je virus mozaika stočnog graška (*Cowpea mosaic virus*-CPMV). Prilikom umnožavanja virusi roda *Comovirus* koriste dve strategije i to strategiju poliproteina i strategiju višedelinih odnosno multikomponentalnih genoma.

#### Struktura genoma

Struktura genoma je najbolje proučena kod virusa mozaika stočnog graška (*Cowpea mosaic virus*- CPMV). Genom virusa mozaika stočnog graška (CPMV) sastoji iz dva dela. Dvokomponentne čestice virusa sadrže dva lanca ss(+)RNK od 5,8 kb i 3,3 kb obeleženih kao B (RNK1) i M (RNK2) ribonukleinske kiseline genoma. Obe genomske RNK na svojim 5' krajevima imaju mali protein VPg (protein vezan za genom) a na 3' krajevima poliadenilni rep (poly A). Strukturu genoma virusa mozaika stočnog graška (CPMV), koju su detaljno proučili Goldbach i Wellink (1996) i Lomonossoff i Shanks (1999) prikazana je na slici IX.9.



Slika IX.9. Struktura genoma virusa iz roda *Comovirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Iz prikazane šeme organizacije i strukture genoma može se videti da svaka RNK ima po jedan dugačak otvoreni okvir čitanja (ORF 1 i ORF 2). Otvoreni okvir čitanja (ORF 1) na RNK 1 kodira protein od 200kDa. Kod RNK 2 postoje tri inicijalna (početna) kodona AUG u ORF 2, koji se nalaze kod nukleotida 161, 512 i 524. Korišćenjem inicijalnog kodona AUG kod 161- og nukleotida otvoreni okvir čitanja (ORF 2) se prevodi u protein od 105 kDa, a očitavanjem od inicijalnog kodona AUG kod 512 – og nukleotida započinje kodiranje proteina od 95 kDa (Rezelman et al., 1989) iz ORF 2. Ovi poliproteini se cepaju pomoću enzima proteaze i daju seriju funkcionalnih proteina. Tako se protein od 200 kDa kodiran od RNK 1 cepa na manje proteine od 32 i 24 kDa koji predstavljaju proteaze obeležene sa 32K i Pro (Slika IX.9A.), i na proteine od 58 kDa i 87 kDa, koji sadrže kompleks enzima helikaze (Hel) i RNK zavisne RNK polimeraze (RdRp, obeležene kao POL), kao i mali protein od 4 kDa, koji predstavlja VPg-protein, koji se kovalentno vezuje za 5' kraj oba dela genoma (Slika IX.9A.). Proteini od 105 i 95 kDa kodirani od RNK 2 cepaju se na proteine od 58 i 48 kDa, koji predstavljaju proteine odgovorne za kretanje virusa iz ćelije u ćeliju (MP i CPL) i na proteine od 37 i 23 kDa, koji su proteini omotača virusa (CPS), pošto se omotač ovog virusa sastoji iz dve vrste proteina (Slika IX.9B.). Na dvodelnom genomu virusa mozaika stočnog graška (CPMV) na obe RNK (RNK-1 i RNK-2) se nalaze i nekodirajući regioni, koji se sastoje od 44 nukleotida kod 5' krajeva i 65 nukleotida kod 3' krajeva dvodelnih genoma. Ove sekvence kod 5' krajeva na RNK 1 i 2 pokazuju sličnost od 86% a sekvence kod 3' krajeva RNK 1 i 2 slaganje od 83%. Ove slične sekvence su uključene u prepoznavanje signala virusnih i biljnih proteina, koji učestvuju u replikaciji virusa. Obe komponente RNK (1 i 2) genoma su neophodne za infektivnost virusnih čestica (van Kammen, 1968; De Jager, 1976).

Inokulacija protoplasta sa samo komponentom RNK 1 genoma prouzrokuje kodiranje proteina koji su uključeni u replikaciju RNK 1, dok se RNK 2 ne umnožava u odsustvu RNK 2. Smatra se da je ovome uzrok što RNK 1 genom stvara proteine koji su uključeni u replikaciju obe RNK (1 i 2), a RNK 2 kodira strukturalne proteine za proteinski omotač i proteine za kretanje virusa (Franssen et al., 1982; Wellink i von Kammen, 1989).

#### **Umnožavanje virusa**

Kao što je napred rečeno dvokomponentni genomi (RNK-1 i RNK-2) virusa mozaika stočnog graška (CPMV) kodiraju posebno svaki po jedan, odnosno dva poliproteina ukupno, koji se cepaju na funkcionalne proteine. Proteini kodirani od RNK-1 su neophodni za replikaciju obe komponente RNK (1 i 2). Organizacija genoma i sastav sekvenci proteina su veoma slični kao kod animalnih virusa iz roda *Picornavirus* (Franssen et al., 1984), kao što je slučaj i kod biljnih virusa iz roda *Potyvirus*. Smatra se da je prema tome umnožavanje biljnih virusa iz ova dva roda slično, iako se o umnožavanju virusa iz roda *Comovirus* mnogo manje zna.

Umnožavanje virusa mozaika stočnog graška (CPMV) se dešava u protoplastima odnosno tu se vrši umnožavanje genomske RNK koje se obavlja preko replikacione forme tj. ds<sup>±</sup>-RNK i replikativnih intermedijera (RI). Genomske RNK (1 i 2) služe kao kalupi za umnožavanje minus lanaca (-)RNK (1 i 2), a ovi kao kalupi za stvaranje plus (+) lanca RNK 1 i 2. Replikacija se vrši pomoću enzima RdRp kodiranog od RNK 1. Sinteza proteinskog omotača kodiranog od RNK 2 vrši se u citoplazmi ćelije. Replikacioni kompleks virusa mozaika stočnog graška sadrži virusno kodiran poliprotein od 110 kDa, koji se kasnije cepa na manje i druge specifične polipeptide, ali njihova uloga u replikaciji genomske RNK nije

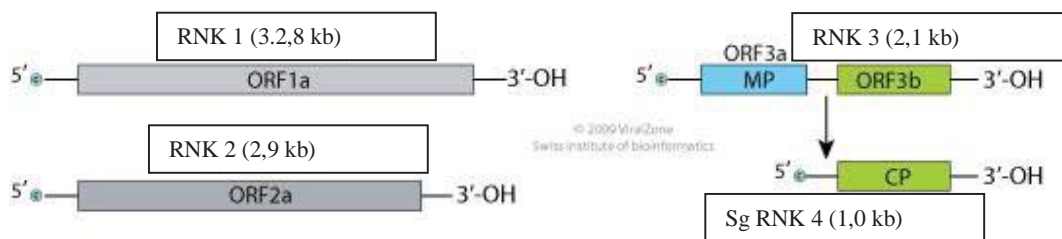
utvrđena. Sklapanje virusa se verovatno dešava u citoplazmi ćelije domaćina, gde se formiraju kristalni nizovi ili strukture sastavljene od virusnih čestica.

### Rod *Bromovirus*

Virusi iz roda *Bromovirus* sadrže vrste koje napadaju pretežno monokotiledone biljke iz porodice *Gramineae* a neki članovi ovog roda parazitiraju i dikotiledone biljke najčešće iz porodice *Fabaceae*. Najbolje proučen virus roda *Bromovirus* koji predstavlja predstavnika ovog roda je virus mozaika ovsika (bromusa) (*Brome mosaic virus*-BMV) parazit trave. Organizacija genoma i umnožavanje ovog virusa su detaljno proučeni. Prilikom umnožavanja virus mozaika ovsika koristi kombinaciju dve strategije i to strategiju višedelnog genoma i strategiju subgenomskih RNK (SgRNK).

### Strategija genoma

Virus mozaika ovsika (BMV) ima trodelni genom sastavljen od tri ss(+)RNK (RNK 1, RNK 2 i RNK 3), koje sadrže ukupno 8243 nukleotida. Pored toga virus stvara i jednu subgenomsku RNK (SgRNK) označenu kao RNK 4, na kojoj se nalazi gen (CP) za proteinski omotač virusa (Slika IX.10.). Gen za proteinski omotač je u stvari smešten pri 3' kraju RNK 3 i pošto ne može da se direktno prepíše u protein, transkripcija se vrši preko SgRNK(RNK 4). Sve četiri RNK virusa mozaika ovsika (BMV) imaju na 5' krajevima kapu sastavljenu od 7-metilgvanozin, specifično vezanu 5'-5' pomoću trifosfatne veze. Na 3' krajevima nalazi se konzervativna sekvenca (sačuvana i identična kod svih vrsta virusa ovog roda) od 200 nukleotida od kojih 135 nukleotida na 3' kraju mogu biti uvijeni u trodimenzijalnu strukturu sličnu transportnoj RNK (tRNK), koja se može vezati za tirozin (Hull, 2004). Struktura genoma virusa mozaika ovsika (BMV) je prikazana na slici IX.10.



Slika IX.10. Struktura genoma virusa iz roda *Bromovirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Genom virusa mozaika ovsika (BMV) je u potpunosti sekvencioniran (Ahlquist et al., 1984) i tom prilikom je utvrđeno da se na RNK 1 nalazi samo po jedan otvoreni okvir čitanja (ORF 1a), koji kodira protein od 110 kDa, a na RNK 2 takođe jedan otvoreni okvir čitanja (ORF 2a) koji se prepisuje u protein od 105 kDa (Shih i Kaesberg, 1976; Davies, 1979). Na RNK 3 nalaze se dva otvorena okvira čitanja (ORF 3a i ORF 3b). Otvoreni okvir čitanja 3a (ORF3a) se nalazi kod 5' kraja i direktno se prepisuje u protein od 35 kDa, dok se drugi otvoreni okvir čitanja 3b (ORF3b) nalazi kod 3' kraja RNK3 genoma i ne može direktno da se prepíše u protein. Ispoljavanje ORF3b se vrši preko subgenomske RNK (SgRNK)



označene kao RNK4, koja kodira protein omotača virusa od 20 kDa (Pyne i Hall, 1979). Između ova dva otvorena okvira čitanja (ORF3a i ORF3b) na RNK3 genomu se nalazi intercistranski nekodirajući region (ICR) koji je sačinjen od približno 250 nukleotida (Slika IX.10.). Unutar ovog intercistranskog regiona (ICR) nalazi se jedna unutrašnja sekvenca sastavljena od više adenina tzv. poli A (polyA) sekvenca različite dužine od 16-22 nukleotida. Ova intercistranska sekvenca se završava sa 20 baza na 5' kraju do mesta početka gena za proteinski omotač (ORF3b). Prvih devet baza RNK4 sastoje se od poslednjih devet baza intercistranskog regiona.

#### ***Virusno kodirani proteini i njihove funkcije***

Ribonukleinske kiseline RNK 1 i RNK 2 genoma virusa mozaika ovsika kodiraju proteine 1a (110kDa) i 2a (105 kDa). Za oba ova proteina je utvrđeno da predstavljaju kompleks enzima replikaza u zaraženim ćelijama domaćina virusom mozaika ovsika (Hull, 2004; Quadt et al., 1988). Protein 1a predstavlja po svom sastavu kompleks enzima transferaze i helikaze, a protein 2a ima u svom sastavu enzim RNK zavisnu RNK polimerazu (RdRp). Ova dva proteina obrazuju kompleks u zaraženoj ćeliji domaćina (Kao et al., 1992). Za protein 3a od 35 kDa (MP), koji se prepisuje iz ORF 3a kod 5' kraja RNK 3 je utvrđeno da ima ulogu u kretanju virusa iz ćelije u ćeliju (Haseloff et al., 1984), a protein 3b od 20 kDa čiji se gen nalazi na 3' kraju RNK 3 i koji se prepisuje preko subgenomske RNK (RNK4) predstavlja strukturni protein proteinskog omotača (CP; Slika IX.10.).

#### ***Umnožavanje virusa***

U prvoj fazi umnožavanja dolazi do oslobađanja genomskih RNK od proteinskog omotača virusa. Ovaj proces kod virusa mozaika ovsika (BMV) i drugih virusa iz ovog roda je povezan sa bubrenjem čestica virusa. Pretpostavlja se da nabubrele čestice virusa omogućuju proces kontraslacione razgradnje proteinskog omotača tj. razgradnju koja nastaje odnošenjem proteinskih podjedinica omotača pomoću ribozoma domaćina. Ribozomi se kače za proteinske podjedinice i svlače ih sa genomskih RNK. Tako je utvrđeno da nakon inokulacije biljaka virusom mozaika ovsika (BMV) je posle 20 minuta od inokulacije oko 17% čestica virusa je bilo bez proteinskog omotača (Kurtz-Fritsch i Hirth, 1972). Dekapsidacija genomskih RNK prouzrokovala je i stvaranje virusnog proteina male molekulske težine čija uloga nije utvrđena. Nakon skidanja proteinskog omotača dolazi do sinteze proteina 1a i 2a koji učestvuju u replikacionom kompleksu a koje kodiraju informacione RNK (mRNK 1 i mRNK 2). Ako se RNK 1 i RNK 2 unesu u protoplaste zajedno ili pojedinačno dolazi do njihove replikacije i u odsustvu RNK 3, što potvrđuje da one imaju funkciju enzima replikaze u replikacionom ciklusu virusa mozaika ovsika (Kiberstis et al., 1981; French et al., 1986). Međutim RNK3 se ne može umnožavati samostalno bez prisustva RNK 1 i RNK 2. RNK 3 služi za sistemsku zarazu biljke domaćina. Funkcionisanje proteina 1a i 2a, kao enzima replikaze u replikacionom ciklusu umnožavanja genomskih RNK virusa mozaika ovsika je omogućeno međudejstvima tj. interakcijom između ova dva proteina. Interakcija između ovih dvaju proteina se javlja između 115-te aminokiseline kod N-kraja proteina 2a i regiona od 50 kDa proteina 1a okruženog domenom helikaze (Kao i Ahlquist, 1992). Interakcija između ova dva proteina se stabilizuje prisustvom centralnog ili središnjog dela koji sačinjava domen enzima RdRp kod 2a proteina (O'Reilly et al., 1997). Takođe postoji interakcija i unutar proteina 1a tj. intramolekularna akcija 1a-1a između regiona pokrivenog kapom i domena helikaze na 1a proteinu. Obe inter- i intramolekularne interakcije pokazuju model za sklapanje replikaze virusa mozaika ovsika (BMV) koja učestvuje u umnožavanju genomskih RNK virusa

(O'Reilly et al., 1998). RNK 3 je povezana sa replikacionim ciklusom na taj način što povećava stabilnost kompleksa (Janda i Ahlquist, 1998) i uključuje intergenski region od 150-190 baza koji deluje na povećanje umnožavanja genomske RNK 3 virusa (Sullivan i Ahlquist, 1999). Signali za stvaranje proteina su smešteni kod nekodirajućih regiona (UTR) kod 5' i 3' krajeva genomske RNK i kod međucistranskog regiona (ICR) kod RNK 3 (Sullivan i Ahlquist, 1997). Replikacija genomske RNK je slična kao i kod drugih virusa sa ss(+)RNK. Započinjanje sinteze minus (-) lanca genomske RNK (RNK 1, 2, 3 i 4) virusa mozaika ovsika (BMV) vrši se kod 3' krajeva sastavljenih od nekodirajućih sekvenci od 134 baze koje formiraju strukturu sličnu tRNK sa omčom. Ovo mesto prepoznaje replikaza virusa i za njega se kači i zatim nastaje umnožavanje minus (-) lanca prema kalupu genomske RNK koja predstavlja plus (+) lance (Miller et al., 1986; Chapman i Kao, 1999; Sivakumaran et al., 2000). Na osnovu minus lanca kao kalupa formiraju se plus lanci od kojih neki predstavljaju genomske RNK a neki služe kao informacione RNK (mRNK) za sintezu odgovarajućih proteina virusa. Umnožavanje RNK virusa vrši se preko RF i RI faza. Malo je poznato o sekvencama i strukturnim elementima koji su uključeni u započinjanje sinteze plus (+) lanca virusa. Utvrđeno je da je započinjanje sinteze plus (+) lanca potrebno dodavanje izvesnog broja nukleotida koji ne služe kao kalup kod 3' kraja minus (-) lanca kalupa (Sivakumaran i Kao, 1999). Pored toga na sintezu plus (+) genomske lanca RNK utiču početne sekvence kod 5' kraja koje prepoznaju kalup tj. minus (-) lanac (Sivakumaran et al., 1999). Intergenski region ili intercistranski region na RNK 3 služi kao mesto za započinjanje sinteze subgenomske RNK (RNK 4), a ujedno ovaj deo RNK 3 predstavlja i kalup za sintezu RNK 4. Prema nekim autorima proteini domaćina mogu biti povezani sa replikacionim kompleksom virusa mozaika ovsika (BMV). Tako na primer je utvrđeno da protein nazvan faktor 3 (eIF-3) iz klice pšenice je jako i specifično povezan za protein 2a virusa i dodavanjem ovog proteina eIF-3 stimuliše se sinteza (-) minus lanca u sistemu replikacije (Quadt et al., 1993). Sklapanje čestica virusa mozaika ovsika se vrši tako što sintetizovani protein omotača virusa prepoznaje određenu sekvencu na genomskoj RNK virusa i na tim mestima započinje obmotavanje proteinskih podjedinica oko genomske RNK i uvlačenje RNK u protein i stvaranje kompletne čestice. Replikacija virusa mozaika ovsika (BMV) je povezana sa ćelijskim membranama u zaraženim hloroplastima. Sinteza proteina 1a i 2a se dešava u pojedinim tačkama oko jedra, kao i sinteza RNK virusa (Restrepo-Hartwig i Ahlquist, 1996 i 1999). Replikacioni kompleks virusa mozaika ovsika (BMV) je povezan i sa endoplazmatičnim retikulumom (ER) tako da ER ima značajnu ulogu u organizaciji replikacije virusa (Chen i Ahlquist, 2000).

### *Rod Tobravirus*

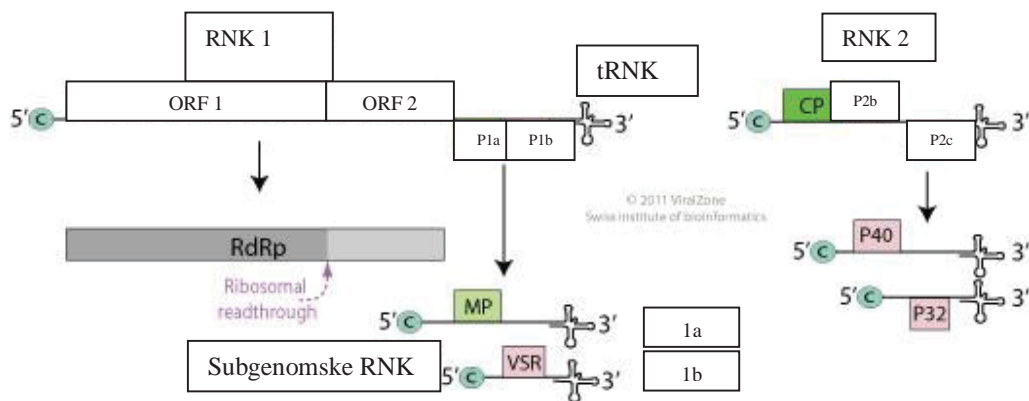
Predstavnik roda *Tobravirus* je virus šuštavost duvana (*Tobacco rattle virus-TRV*). Ovaj virus ima veoma širok krug domaćina i veoma je rasprostranjen. Prenose ga nematode, a prenosi se i semenom nekih korovskih biljaka.

Prilikom umnožavanja virusi iz roda *Tobravirus* koriste tri strategije i to strategiju višedelnih genoma, strategiju subgenomskih RNK i strategiju očitavanja preko stop kodona. Virus šuštavosti duvana (TRV) je najbolje proučen od svih virusa ovog roda i zbog toga ćemo razmatrati strukturu i umnožavanje ovog virusa.

### **Struktura genoma**

Genom virusa šuštavosti duvana je bio u potpunosti sekvencioniran (Boccaro et al., 1986; Hamilton et al., 1987). Virus šuštavosti duvana (TRV) ima dvodelni genom koji se

satoji iz dva lanca jednospiralne pozitivne RNK (ss(+)RNK) koji su označeni kao RNK 1 i RNK 2. Genomska RNK 1 ovog virusa sastoji se od 6791 nukleotida i dužina RNK 1 je slična kod svih virusa ovog roda. Na genomskoj RNK 1 nalaze se četiri otvorena okvira čitanja (ORF1, 2, 3 i 4). Otvoreni okvir čitanja 1 (ORF 1) prepisuje se u protein od 134 kDa. Stop kodon UGA ovog okvira (ORF1) je propustljiv tako da nastaje očitavanje preko stop kodona i nastaje protein od 194 kDa kao produkt ORF 2. Protein od 134 kDa se prema tome poklapa sa delom proteina od 194 kDa i predstavlja tzv. preklapajući protein. Otvoreni okviri čitanja 3 i 4 (ORF 3 i 4) se prepisuju u proteine P1a i P1b. ORF 3 i 4 se nalaze blizu 3' kraja genomske RNK1 i ne mogu se direktno prepisati u proteine P1a i P1b. Protein P1a od 29 kDa (obežžen MP) se prevodi preko subgenomske RNK 1a (SgRNK1a) (Robinson et al., 1983), a protein P1b od 16 kDa (obežžen VSR) iz subgenomske RNK 1b (SgRNK1b) (Guilford, 1989). Na genomskoj RNK 1 na 5' kraju nalazi se kapa, a 3' kraju, iako ovaj kraj ne može biti aminoacetiran, tj. spojen za nekom aminokiselinom, oblik sličan transportnoj RNK (tRNK)(van Belkum et al., 1985). Kod 3' kraja RNK1 nalazi se nekodirajući region od 255 nukleotida (Slika IX.11.).



Slika IX.11. Struktura genoma virusa iz roda *Tobravirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Genomske RNK 2 virusa šuštavosti duvana (TRV), kao i kod drugih virusa iz roda *Tobravirus* su veoma različite dužine koja se kreće od 1800-4000 nukleotida. Različiti sojevi virusa šuštavosti duvana (TRV) pokazuju značajne razlike u dužinama i sekvencama njihovih RNK 2. Promenljivost u dužini RNK 2 je prouzrokovana kako prisustvom dodatih sekvenci, odnosno otvorenih okvira čitanja ili gena kod 3' kraja ili promenjivom dužinom nekodirajućeg regiona kod 5' kraja, koji je homolog onom kod RNK 1. Na 5' kraju genomske RNK 2 se nalazi kapa, a na 3' kraju slobodna hidroksilna (OH) grupa. Na genomskoj RNK 2 se nalazi samo jedan stalan otvoreni okvir čitanja (ORF-CP) koji se prepisuje u proteinski omotač (protein CP od 22-24 kDa). Proteinski omotač virusa šuštavosti duvana se ne prepisuje direktno iz genomske RNK 2 već preko subgenomske RNK (SgRNK). Kod nekih sojeva ovog virusa sa dužim česticama mogu se naći i otvoreni okviri čitanja čiji produkti mogu biti proteini P2b i P2c (Slika IX.11.).

### ***Virusno kodirani proteini***

Otvoreni okvir čitanja 1 (ORF 1) na genomskoj RNK 1 kodira protein od 134 kDa. Na ORF 1 stop kodon UGA je propustljiv tako da se prepisivanje nastavlja preko stop

kodona kada nastaje protein od 194 kDa kao produkt ORF 1 i ORF 2. Protein od 194 kDa predstavlja kompleksni enzim koji ima slične sekvence kao replikaza i kod virusa mozaika duvana (TMV), virusa mozaika lucerke (AMV), virusa mozaika bromusa (ovsika) (BMV) i dr. (Hamilton et al., 1987). Ovaj složeni protein sastavljen od više sekvenci koje odgovaraju metil transferazi, helikazi i RNK zavisnoj RNK polimerazi (RdRp) i neophodan je za replikaciju virusa. Za protein P1a (MP) od 29 kDa, koji je kodiran od ORF 3 smatra se da je uključen u prenošenje virusa iz ćelije u ćeliju. Funkcija proteina P1b (VSR) od 16 kDa koji je kodiran od ORF 4 je još uvek nepoznata. Zna se da oba ova proteina (P1a i P1b) nisu potrebna za umnožavanje virusa. Prema nekim podacima pretpostavlja se da je protein P1b od 16 kDa kod virusa rane nekroze graška (*Pea early browning virus*-PEBV) iz roda *Tobravirus* igra određenu ulogu u prenošenju virusa semenom.

Otvoreni okvir čitanja na RNK 2 (ORF-CP) se prevodi u protein od 14 kDa i predstavlja proteinski omotač kako kod dužih tako i kraćih čestica virusa šuštavosti duvana. Drugi sojevi virusa šuštavosti duvana (TRV) se razlikuju po produktima koji su kodirani od genomske RNK 2, što je prouzrokovano promjenjivošću dužine, odnosno prisustvom ili odsustvom genomskih sekvenci. Tako na primer soj PSG virusa šuštavosti duvana (TRV) koji nema dodatne sekvence tj. dodatne otvorene okvire čitanja je infektivan, što ukazuje da dodatne sekvence na RNK 2 koje se javljaju kod drugih sojeva ovog virusa nisu uključene u replikaciju virusa. Sojevi PBL i TCM virusa šuštavosti duvana (TRV) sadrže dodatne otvorene okvire čitanja na RNK 2 ne mogu da se prenose nematodama kao vektorima virusa. Smatra se da ovi dodatni produkti gena deluju na sprečavanje prenošenja ovih sojeva nematodama. Međutim nasuprot ovom neki drugi dodatni nestrukturalni geni na RNK 2 su uključeni u prenošenje drugih sojeva virusa pomoću nematoda.

### **Umnožavanje virusa**

Umnožavanje virusa iz roda *Tobravirus* je slično kao kod virusa mozaika duvana. Genomska RNK 1 i RNK 2 služe kao kalupi za sintezu minus (-) lanaca, na osnovu kojih se kao po kalupu sintetizuju novi plus (+) lanci RNK. Ove novostvorene jednolančane plus (+)RNK se ponašaju ili kao genomske ili kao informacione RNK. U sintezu proteina neophodnih za replikacioni ciklus kao što je kompleks enzima metiltransferaze, helikaze i RdRp uključeni su ribozomi 80S. Ovi proteini se prepisuju iz mRNK 1.

Prvo dolazi do umnožavanja dužih čestica sa RNK 1 genomom, a zatim se umnožavaju kraće čestice sa RNK 2 genomom i njihovo umnožavanje kasni u odnosu na duže čestice. Međutim nakon 40 časova od umnožavanja njihov broj se izjednačuje. Sklapanje čestica virusa šuštavosti duvana (TRV) tj. uvijanje proteinskog omotača oko genomskih RNK 1 i RNK 2 je slično kao kod virusa mozaika duvana (TMV). Proteinske podjedinice omotača ovog virusa formiraju stabilne agregate u obliku diskova (Gugerli, 1976). Agregati se sastoje od proteinskih podjedinica koje obrazuju troslojne diskove, koji su raspoređeni tako da formiraju spiralan oblik (Hull, 2004). Jedan disk sadrži 25 i 1/3 proteinskih podjedinica. Na genomskim RNK 1 i RNK 2 nalaze se sekvence koje prepoznaju protein omotača. Na tim mestima dolazi do vezivanja omotača za RNK1 i RNK2 i njihovog postepenog uvlačenja u otvore diskova.

## Umnožavanje virusa sa negativnom jednospiralnom (jendolančanom) ribonukleinskom kiselinom (ss (-) RNK)

U ovom delu razmotriće se organizacija i struktura genoma virusa sa jednolančanom RNK sa minus predznakom (ss(-)RNK), kao i produkti ispoljavanja genomske jednospiralne negativne RNK, koji učestvuju u procesu replikacije virusa. Pored toga, prikazaće se i proces umnožavanja nekih virusa sa ovim tipom genoma. Struktura genoma i ispoljavanje gena je šematski prikazano na slikama 12 i 13.

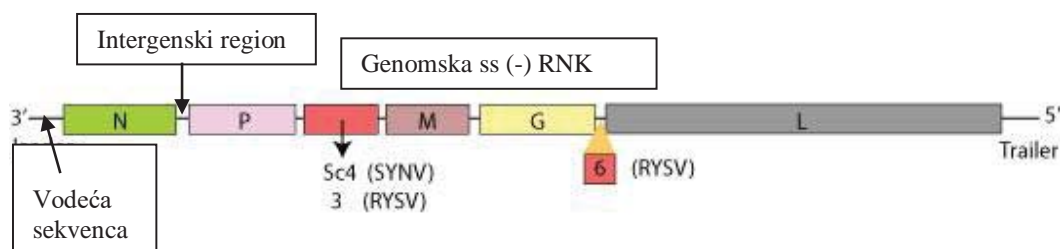
Postoje dve porodice biljnih virusa: *Rhabdoviridae* i *Bunyaviridae* sa jednolančanim negativnim RNK genomom (ss(-)RNK). Virusi iz porodice *Rhabdoviridae* imaju jednodelni genom a virusi iz porodice *Bunyaviridae* višedelni odnosno trodelni genom. Zajednička osobina virusa iz ovih porodica je da imaju genom u obliku ss(-)RNK. Virusna RNK je povezana tj. spojena sa nukleokapsidnim proteinom (N), koji je uvijen oko genomske RNK. Veliki protein obeležen kao L-protein koji predstavlja replikazu je takođe spojen sa nukleokapsidom i nalazi se unutar virusnih čestica. Nukleokapsid, odnosno virusne čestice su okružene lipoproteinskom membranom ili matriksom (M). Virusno kodirani glukoproteini (G) su omotani oko lipidne membrane i nalaze se na površini virusnih čestica. Utvrđeno je da postoji interakcija između strukturalnih proteina N, M i G (Cartwright et al., 1972).

### Porodica *Rhabdoviridae*

Porodica *Rhabdoviridae* obuhvata dva roda u kojima se nalaze biljni virusi, dok ostali rodovi obuhvataju virusne parazite životinja, odnosno kičmenjaka. Virusi paraziti biljaka se nalaze u rodovima *Nucleorhabdovirus* i *Cytorhabdovirus*. Struktura i organizacija genoma nekih od virusa koji pripadaju navedenim rodovima je dobro proučena.

Struktura genoma virusa iz porodice *Rhabdoviridae* kako onih koji parazitiraju biljke, tako i onih koji parazitiraju kičmenjake je veoma slična. Genom se sastoji od jednodelne jednolančane negativne RNK (ss(-)RNK) čija dužina se kreće od 11000 do 13000 nukleotida u zavisnosti od vrste virusa. Genomi virusa žute mrežavosti *Sonchus*-a (*Sonchus yellow net virus*-SYNV) pripadnika roda *Nucleorhabdovirus* (Heaton et al., 1989) i virusa nekrotičnog žutila salate (*Lettuce necrotic yellow virus*-LNYV) pripadnika roda *Cytorhabdovirus* (Wetzel et al., 1994) su bili sekvencionirani i pokazali da imaju vrlo sličnu organizaciju i strukturu genoma.

Struktura genoma virusa iz roda *Nucleorhabdovirus* prikazana je na slici IX.12.



Slika IX.12. Struktura genoma virusa iz roda *Nucleorhabdovirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Genom virusa iz roda *Nucleorhabdovirus* sastoji od 144 vodećih nekodirajućih nukleotida kod 3' kraja genoma posle kojih slede šest gena odnosno otvorenih okvira čitanja (ORF 1-6) po sledećem redosledu gena: 3'-N-P-SC4-M-G-L-5'. Između navedenih gena na genomskoj RNK se nalaze kratki intergenski regioni. Intergenske sekvence genoma su visoko konzervativne tj. nepromenljive kao na primer sekvence AACAA ili AAC, koje predstavljaju mesta gde započinje transkripcija svih informacionih RNK (mRNK). Posebne informacione RNK (mRNK) se prepisuju na osnovu genoma sa negativnim znakom za svaki gen odnosno ORF koji kodira određeni protein. Od ukupno šest virusno kodiranih proteina četiri su strukturalna od kojih N protein od 54 kDa predstavlja protein nukleokapsida. Proteini M i P (32 i 36 kDa) su matriks proteini, a protein G od 70 kDa je glukoprotein vezan za šećere. Protein G se nalazi na površini nukleokapsida i formira glukozidne šiljke na površini čestica pružajući se kroz virusnu membranu do površine čestica. Protein L je tzv. veliki protein od 241 kDa. To je funkcionalni protein koji obavlja funkciju RNK polimeraze ili transkriptaze koja je ugrađena tj. nalazi se unutar viriona. Protein SC4 od 36 kDa je utvrđen samo kod biljnih virusa. Iako se ne zna tačno njegova funkcija, smatra se da ovaj protein ima uticaja na kontrolu virusne replikacije i da olakšava i omogućuje kretanje virusa iz ćelije u ćeliju.

#### ***Umnožavanje virusa iz porodice Rhabdoviridae***

Opšta struktura genoma i replikacije biljnih virusa iz porodice *Rhabdoviridae* je slična onoj kod virusa životinja ali postoje određene razlike na mestima u ćeliji gde se odigrava proces replikacije. Tako je utvrđeno da svi virusi kičmenjaka iz porodice *Rhabdoviridae* se umnožavaju i sklapaju samo u citoplazmi, kao što to čine i neki biljni virusi iz ove porodice, dok se drugi biljni virusi umnožavaju u jedru zaražene ćelije. Nakon skidanja proteinskog omotača utvrđeno je da minus (-) lanac genoma ima dve funkcije. Prvu da služi kao kalup po kojem se prepisuje u informacione (+)RNK (mRNK) i drugu funkciju, gde kao kalup koji ima punu dužinu genomske RNK služi za prepisivanje u plus (+) lanac komplementaran genomskoj RNK. Plus (+) lanac RNK predstavlja model ili kalup za transkripciju genomske RNK sa minus predznakom. Kompleks polimeraza odnosno transkriptaza preuzima obe funkcije u sintezi kako mRNK tako i genomskih RNK virusa. Prilikom replikacije virusa žute mrežavosti *Sonchus-a* (SYNV) je utvrđeno da se genom virusa prepisuje u kratku 3' terminalnu RNK i šest informacionih RNK (mRNK) ili se pak cela dužina minus (-) lanca genoma transkribuje u (+) lanac, koji kasnije služi kao kalup za sintezu minus (-) genomske RNK.

#### ***Citološka posmatranja replikacije virusa u ćeliji zaraženih biljaka***

Nakon infekcije i pojave virusa u zaraženim ćelijama oni se mogu svrstati u tri grupe u zavisnosti od mesta replikacije. Prva grupa su nukleorabdovirusi koji se akumuliraju odnosno nakupljaju u okolini prostora oko jedra tzv. perinuklearnom prostoru sa nekim česticama nepravilno rasutim u citoplazmi. Formirane strukture od čestica virusa slične su unutrašnjim nukleoproteinskim jezgrima virusa, koja se vide unutar jedra. Spoljni omotači ovojnice nekih virusnih čestica u okolini jedra mogu biti kontinuirano spojene sa unutrašnjom lamelom membrane jedra. U ovu grupu pored virusa žute mrežavosti *Sonchus-a* (SYNV) spada i virus žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus- PYDV*). Kod ovog virusa je utvrđeno da se virusni proteini uglavnom nakupljaju u jedru (Lin et al., 1987). Minus (-) lanci genomske RNK nađeni su takođe u jedru zaraženih ćelija dok su plus (+) lanci RNK utvrđeni u jedru i citoplazmi ćelije (Martins et al., 1998). Drugu grupu predstavljaju citorabdovirusi, gde spada i virus nekrotičnog žutila salate (*Lettuce necrotic*

*yellow virus*-LNYV). Potpuno formiranje čestica ovog virusa je povezano sa endoplazmatičnim retikulumom (ER), a nakupljanje čestica virusa se vrši u vezikulama proširenjima retikuluma.

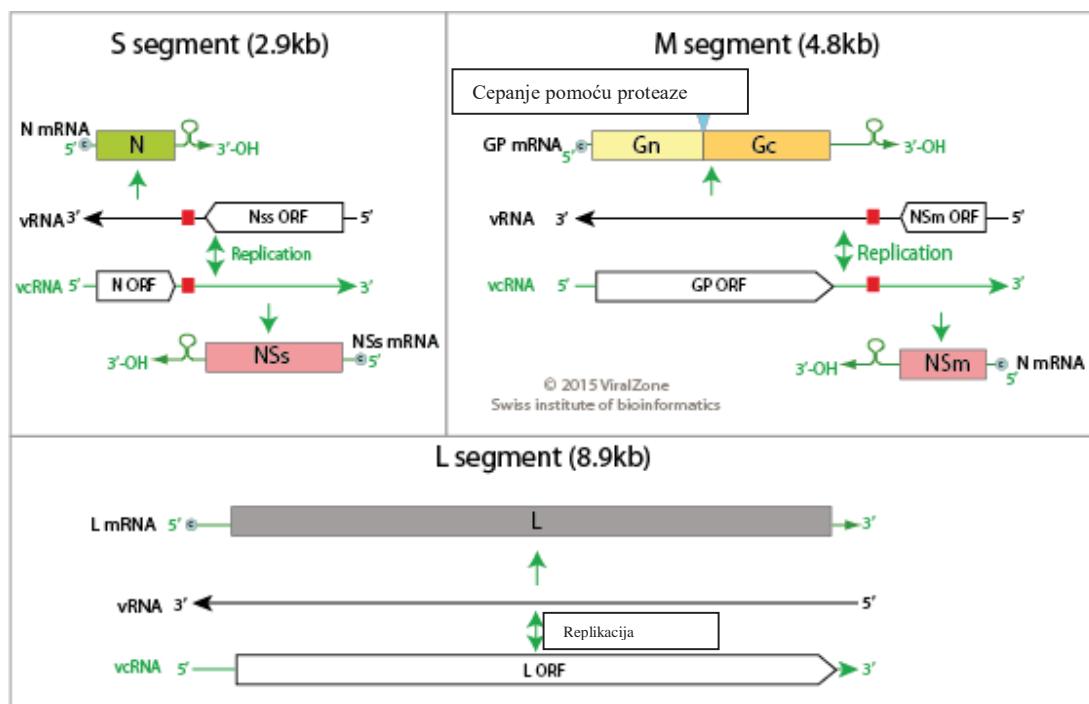
Treću grupu virusa, gde spada virus žute mozaične prugavosti ječma (*Barley yellow striate mosaic virus*-BYSMV) sačinjavaju virusi, čija infekcija prouzrokuje formiranje velike viroplazme u citoplazmi zaraženih ćelija. Viroplazme se sastoje od zbijenih granuliranih ili vlaknastih struktura. Replikacija je najdetaljnije proučena kod virusa žute mrežavosti *Sonchus*-a (SYNV) (Jackson et al., 1999), koji pripada grupi nukleorabdovirusa. Ciklus umnožavanja ovog virusa obavlja se po sledećim fazama:

1. Prilikom ulaska virusnih čestica u ćeliju one se povezuju sa endoplazmatičnim retikulumom i tom prilikom se oslobađaju od nukleokapsida tj. dolazi do skidanja kapsida u citoplazmi
2. Oslobođena minus(-) RNK ulazi u jedro kroz kompleks pora jedra
3. Početna transkripcija se dešava u jedru korišćenjem L-proteina (RNK-polimeraza), koji je ugrađen u jezgro nukleokapsida. Pomoću enzima L-proteina dolazi do sinteze informacionih RNK (mRNK), gde genomski (-)RNK služi kao kalup. Ove mRNK se premeštaju u citoplazmu i prevode u određene proteine.
4. Sintetizovani proteini jezgra N, P i L se premeštaju ponovo u jedro, gde se pomoću njih započinje umnožavanje genomskih RNK virusa.
5. Granulirana gusta viroplazma koja sadrži N, P i L proteine se formira blizu periferije jedra- mesta gde se vrši replikacija virusa
6. U kasnijim fazama replikacije M-protein se spaja sa novosintetizovanim nukleokapsidnim jezgrima i obavija ih tj. umotava se oko virusnih čestica formirajući lipoproteinsku membranu. Ovaj kompleks se tada spaja sa G proteinom koji se koncentriše na unutrašnjoj membrani jedra i formira glukozidne šiljke na česticama
7. Novonastale virusne čestice pupe i rastu prodirući u prostor oko jedra tzv. perinuklearni prostor i šire se u citoplazmu zaražene ćelije.

U grupu rabdovirusa spadaju i virusi iz porodice *Bunyaviridae*. Samo jedan rod *Tospovirus* sadrži viruse parazite biljaka. Predstavnik ovog roda je virus bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV). Struktura genoma i proces umnožavanja je najbolje proučen kod virusa bronzavosti paradajza (TSWV) (Hull, 2004).

#### **Struktura genoma**

U česticama virusa bronzavosti paradajza (TSWV) nalazi se genom koji se sastoji od tri segmenta RNK i to od najvećeg segmenta L-RNK od oko 8900 nukleotida i dva manja segmenta M-RNK od oko 4800 nukleotida i S-RNK od oko 3000 nukleotida. Najveći L-RNK segment je sa negativnim znakom, odnosno ovaj segment sadrži samo jedan minus (-) lanac (vRNK) i kodira jedan protein (L protein), a druge dve RNK (M-RNK i S-RNK) su ambivalentne, tj. dvoznačne (imaju dvoznačnu strategiju), pošto se sastoje od minus lanca i komplementarnog plus lanca (vcRNK). Ove dve virusne RNK (M-RNK i S-RNK) kodiraju svaka po dva proteina. Na svakom od ovih lanaca nalazi se po jedan otvoreni okvir čitanja koji kodira po jedan protein odnosno ukupno četiri proteina. Prema tome genom virusa bronzavosti paradajza (TSWV) kodira pet proteina. Struktura genoma virusa bronzavosti paradajza prikazana je na Slici IX.13.



Slika IX.13. Struktura genoma virusa iz roda *Tospovirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Protein kodiran od najvećeg segmenta L-RNK nazvan L protein od 330 kDa je enzim RNK zavisna RNK polimeraza (RdRp). Ovaj protein je povezan sa genomskom RNK i javlja se u maloj količini. Virusna M-RNK (vRNK) kodira protein NSm od 34 kDa koji je uključen u kretanje virusa iz ćelije u ćeliju. Komplementarna M-RNK (vcRNK) sa plus predznakom kodira protein od 127 kDa. Ovaj protein se cepa na protein od 78 kDa (Gn) i na protein od 59 kDa (Gc) (Kormelink et al., 1992). Ovi proteini su glukozirani tj. spojeni sa šećerima i nalaze se na površini virusnih čestica. Virusna S-RNK je dvoznačna (+/-). Jedan gen je prisutan na pozitivnoj spirali (vcRNK) i kodira protein od 52 kDa (NSs) čija funkcija nije još utvrđena. Komplementarna S-RNK sa minus znakom kodira protein od 29 kDa (N). Ovaj protein ima ulogu unutrašnjeg povezivanja sa RNK. Oba ova proteina se prevode iz subgenomske RNK (SgRNK). U intergenskom regionu S-RNK, nalazi se stabilna struktura u obliku omče, koja ima izgled šnale. Subgenomske RNK se graniče tj. završavaju sa omčom. To je verovatno i mesto započinjanja sinteza ovih subgenomskih RNK (Slika IX.13.).

#### Umnožavanje virusa

Malo je poznato detalja o umnožavanju virusa iz roda *Tospovirus*. Umnožavanje virusa se dešava u citoplazmi, koja je povezana sa Goldžijevim složenim membranama. Čestice sa duplom membranom koje se nalaze u endoplazmatičnom retikulumu su spojene sa ovim strukturama (Kitajima et al., 1992). Smatra se da je umnožavanje virusa roda *Tospovirus* slično kako i kod drugih virusa iz porodice *Bunyaviridae*, gde koncentracija N proteina reguliše prebacivanje odnosno skretanje iz stvaranja virusnih informacionih RNK (mRNK) ka umnožavanju genomskih RNK virusa (Storms, 1998).



## *Umnožavanje virusa sa dvolančanim (dvospiralnim) RNK (dsRNK)*

Virusi iz porodice *Reoviridae* imaju genom koji se sastoji od dvolančane RNK (dsRNK). U dvolančanoj odnosno dvospiralnoj (ds) RNK jedan lanac predstavlja plus (+) spiralu, a drugi minus (-) spiralu pa se genom virusa iz ove porodice može označiti i kao ds (+/-)RNK. Genomi virusa iz porodice *Reoviridae* su višedelni. Kod biljnih virusa genom se može da sastoji iz 10 ili 12 segmenata. Biljni virusi iz rodova *Fijivirus* i *Oryzavirus* imaju genom sastavljen od 10 segmenata, a biljni virusi iz roda *Phytoreovirus* genom sastavljen od 12 segmenata. Virusi iz porodice *Reoviridae* su takođe značajni paraziti kičmenjaka. Ovi virusi se najčešće prenose insektima kao vektorima.

### **Struktura genoma**

Biljni virusi porodice *Reoviridae* imaju genome u obliku dvolančane (+/-) RNK. Genomi su složene višedelne (10-12 segmenata) linearne molekule dsRNK. U najvećem broju slučajeva segmenti genoma su monocistronski tj. na svakom od njih se nalazi samo po jedan otvoren okvir čitanja (ORF) koji se prepisuje u samo jedan protein. Postoje neki segmenti genoma, koji mogu da imaju po dva otvorena okvira čitanja. Međutim još nije utvrđeno koji se od ova dva okvira čitanja ispoljava u obliku proteina.

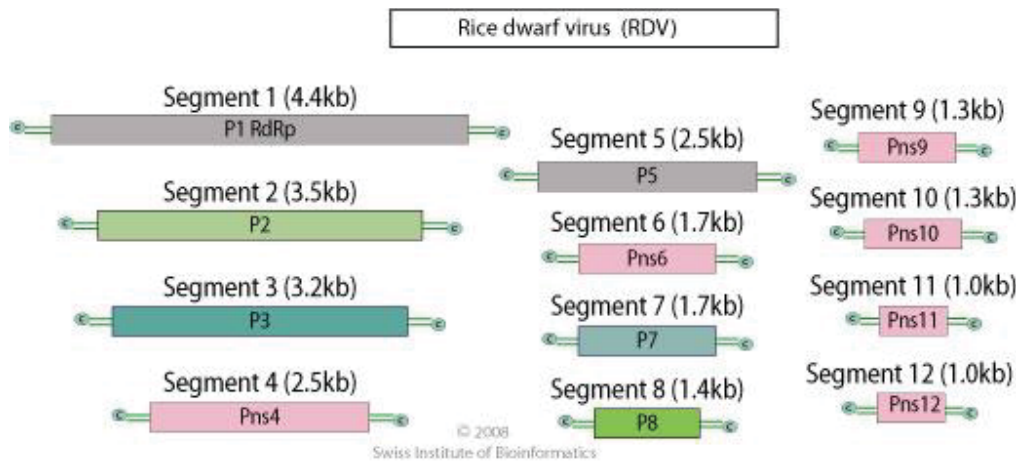
Utvrđeno je četiri tipa produkta gena tj. produkata ORF i to su: 1. Proteini koji sačinjavaju kapsid (strukturni proteini), 2. Proteini koji su uključeni u replikaciju gde spadaju enzimi RNK polimeraze ili RNK-transkriptaze, 3. Nestrukturni proteini i 4. Proteini čija funkcija nije još poznata.

### *Rod Phytoreovirus*

Strukturu genoma virusa iz ovog roda detaljno su proučili Hillman i Nuss (1999). U ovaj rod spada virus tumoralnih rana (*Wound tumor virus-WTV*). Virus ima genom u obliku dvolančane RNK koji se sastoji od 12 segmenata. Svaki segment sadrži po jedan funkcionalan okvir čitanja (ORF) i ima sačuvane, nepromenjive sekvence pri 5' i 3' krajevima segmenata. Invertna (obrnuta) terminalna ponavljanja baza javljaju se unutar ovih sačuvanih sekvenci. Utvrđeno je da se proteini kodirani pomoću segmenata 1, 3 i 6 virusa tumoralnih rana (WTV) nalaze u jezgri nukleokapsida i učestvuju u replikaciji, kao RNK polimeraza ili transkriptaza, koje vrše sintezu plus i minus lanca RNK i kao metilaza, koja vrši spajanje metil grupa formirajući strukturu kape na 5' krajevima segmenata. Proteini kodirani od segmenata 2, 5, 8 i 9 su strukturni proteini i predstavljaju deo proteinskog omotača odnosno školjke, dok su proteini kodirani od segmenata 4,7,10,11 i 12 nestrukturni proteini. Produkti segmenata 2 i 5 su takođe bitni za prenošenje virusa insektima.

Detaljno je proučena i struktura genoma virusa patuljavosti pirinča (*Rice dwarf virus-RDV*) iz roda *Phytoreovirus*. Deset segmenata genoma ovog virusa (RDV) ima samo po jedan otvoreni okvir čitanja (ORF), jedan segment ima dva, a jedan tri otvorena okvira čitanja. Međutim nije još poznato da li se ovaj povećani broj otvorenih okvira čitanja (ORF) ispoljava u obliku proteina „*in vivo*“. Segmenti 2, 3 i 8 kodiraju strukturne proteine. Spoljni kapsid kodira segment 2 genoma. Ovaj protein je takođe važan i za prenošenje virusa pomoću insekata. Produkti segmenata genoma 1, 5 i 7, a verovatno i produkt segmenta 12 su uključeni u replikaciju RNK virusa. Ovi proteini predstavljaju RNK-polimerazu (RdRp)

vezanu za jezgro nukleokapsida (segment 1), guanin transferazu, vezanu za jezgro (segment 5) i protein vezan za RNK (segment 7). Produkti segmenata 1, 4, 6, 9, 10 i 11 su svrstani u nestrukturane proteine. Šema strukture genoma virusa kržljivosti pirinča (RDV) iz roda *Phytoreovirus* prikazana je na slici IX.14.



Slika IX.14. Struktura genoma virusa iz roda *Phytoreovirus* (*Rice dwarf virus*, RDV) i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Rod Oryzavirus*

Genomi virusa iz roda *Oryzavirus* su podeljeni na 10 segmenata. Struktura genoma je najbolje proučena kod virusa hrapave kržljivosti pirinča (*Rice ragged stunt virus*-RRSV) iz ovog roda (Marzachi et al., 1995). Segmenti genoma 1, 2, 3 i 9 kodiraju strukturne proteine unutrašnjeg omotača (jezgra) i spoljašnjeg omotača virusa. Segmenti 4, 5 i 8 kodiraju proteine koji su uključeni u replikaciju RNK virusa (RNK polimeraza, guaniltransferaza i prekursor za proteine). Segmenti 6, 7 i 10 kodiraju ne strukturne proteine.

#### **Umnožavanje virusa iz porodice Reoviridae**

Biljni virusi iz porodice *Reoviridae* umnožavaju se u citoplazmi zaraženih ćelija gde se formira viroplazma (Wood, 1973). Viroplazme su utvrđene u ćelijama različitih tkiva kako skakavaca vektora virusa tumoralnih rana (WTV), tako i u ćelijama različitih tkiva biljaka zaraženim ovim virusom (Shikata i Maramorosch, 1967). Utvrđeno je kod virusa hrapave patuljivosti kukuruza (*Maize rough dwarf virus*-MRDV) koji pripada rodu *Fijivirus* da su viroplazme sačinjene od proteina, verovatno od virusnih proteina. Virusna RNK sintetizuje se u viroplazmi, kao i sklapanje virusnih čestica. Potpuno formirane virusne čestice se iz viroplazme kreću odnosno premeštaju u citoplazmu, gde se nalaze u obliku rasturenih razdvojenih čestica ili se agregiraju i formiraju kristalne strukture ili pak ostaju okružene i združene sa cevastim proteinskim strukturama u citoplazmi ćelije (Bassi i Favali, 1972; Favali et al., 1974). Takođe je utvrđeno da ostale ćelijske organele (jedro, mitohondrije i hloroplasti) ne učestvuju u replikaciji virusa.

Kod svih virusa iz porodice *Reoviridae* je uočeno da svaki genom virusne čestice sadrži tačan broj segmenata u genomskoj RNK i komplementarnoj (dopunskoj) RNK, koji se sastoji od 10 ili 12 segmenata dvolančane (ds)RNK u zavisnosti od vrste virusa. Tako na primer virus tumoralnih rana (WTV) sadrži set od 12 segmenata dvolančanih (ds)RNK

(Reddy i Black, 1973). Smatra se da postoje specifični signali na segmentima genoma, koji omogućavaju međusobno prepoznavanje segmenata jednog genoma i njihovo sklapanje u kompletni genom. Stoga se postavlja pitanje šta prouzrokuje makromolekulsko prepoznavanje signala među segmentima genoma virusa koji omogućuje da se samo jedan određeni segment od svih 10 ili 12 segmenata genoma virusa pojavi u svakoj čestici prilikom sklapanja virusa sa proteinskim omotačem. Smatra se tako da kod virusa tumoralnih rana (WTV) prilikom umotavanja u proteinski omotač kod svih 12 segmenata dsRNK genoma je verovatno uključeno 12 različitih specifičnih signala odnosno interakcije između RNK i proteina i interakcije između RNK i RNK segmenata. Kod virusa tumoralnih rana (WTV) ustanovljeno je da postoje sekvence unutar 319 parova baza pri 5' kraju i sekvence unutar 205 parova baza pri 3' kraju plus (+) lanca RNK koje su uključene u umnožavanje virusa tj. sklapanje sa proteinskim omotačem (Reddy i Black, 1974, 1977). Anzola et al. (1987) su izvršili sekvencioniranje domena odnosno delova kod 5' i 3' krajeva svih 12 segmenata gena virusa tumoralnih rana (WTV). Ovi autori su pronašli da pri 5' kraju postoji potpuno očuvana nepromenljiva heksonukleotidna sekvenca a pri 3' kraju tetranukleotidna sekvenca. Ove sekvence bi mogle da stvaraju signale za prepoznavanje između segmenata virusnih RNK genoma. Oni su takođe utvrdili invertna (obrnuta) ponavljanja različitih dužina unutar sačuvanih delova pri 5' i 3' krajevima segmenata što bi moglo da predstavlja specifične sekvence za prepoznavanje za svaki pojedinačni segment genoma.

Takođe je utvrđeno da i drugi biljni virusi iz porodice *Reoviridae* imaju slične sačuvane sekvence kod 5' i 3' krajeva koji daje signale za prepoznavanje segmenata genoma (Kudo et al., 1991; Mertens et al., 2000).

Proces umnožavanja virusa iz porodice *Reoviridae* prikazan je uopšteno napred u tekstu, a sada ćemo izneti neke detalje koji su proučeni o umnožavanju virusa ove porodice. Nakon skidanja tj. oslobađanja od proteinskog omotača dvolančana (+/-) RNK se cepa tj. razdvaja na plus (+) i minus (-) lanac. Kod virusa iz porodice *Reoviridae* minus (-) lanci se sintetišu pomoću RNK polimeraze prema plus (+) lancu koji služi kao kalup. Na osnovu minus(-) lanca kao kalupa mogu se sintetizovati, pomoću RNK polimeraze novi plus (+) lanci. Novostvoreni plus (+) lanci mogu poslužiti kao genomske RNK ili informacione RNK; koje kodiraju određene proteine. Proces umnožavanja se vrši za svaki segment posebno. Mehanizam koji upravlja odabiranjem tačnog seta od 10 ili 12 segmenata genomskih RNK opisan je napred u tekstu. Sklapanje 12 segmenata u jednu česticu obavlja se na bazi signala koji se nalaze u delovima sekvenci pri 5' i 3' krajevima segmenata. Unutar ovih sekvenci nalaze se specifična invertna ponavljanja koja su prisutna na 5' i 3' krajevima kako kod pozitivnih tako i kod negativnih lanaca RNK segmenta. Ovi delovi služe za prepoznavanje komplementarnih RNK (plus i minus lanaca) i njihovo optimalno povezivanje sparivanjem baza u dvolančanu (+/-) RNK genoma.

### *Umnožavanje virusa sa dvolančanom dezoksiribonukleinskom kiselinom (ds DNK)*

Virusi iz porodice *Caulimoviridae* su jedini biljni virusi čiji je genom sastavljen od dvolančane (dvsiralne) dezoksiribonukleinske kiseline (dsDNK).

Virusi iz ove porodice sadrže više rodova. Kod svih virusa iz porodice *Caulimoviridae* proces umnožavanja dvolančanog (ds) DNK genoma se vrši pomoću reverzne transkripcije. Između pojedinih rodova u okviru ove porodice postoje izvesne razlike u organizaciji genoma, ali se smatra da svi virusi sa dsDNK genomom imaju suštinski

isti način replikacije. Najbolje proćeni virusi sa ovim tipom genoma su virus mozaika karfiola (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV) iz roda *Caulimovirus* i „Tungro“ baciloformi virus pirinća (*Rice tungro bacilliform virus*, RTBV) iz roda *Badnavirus* (Hohn et al., 1985; Hull et al., 1987; Pfeiffer et al., 1987; Mason et al., 1987; Hull, 1997; Hohn i Fütterer, 1997). Umnožavanje virusa iz porodice *Caulimoviridae* pomoću reverzne transkripcije u mnogim detaljima je slično kao kod *Retrovirus*-a parazita životinja. Međutim umnožavanje biljnih virusa sa dsDNK genomom se ipak razlikuje u nekoliko značajnih detalja i zbog toga su ovi virusi iz porodice *Caulimoviridae* oznaćeni kao pararetrovirusi.

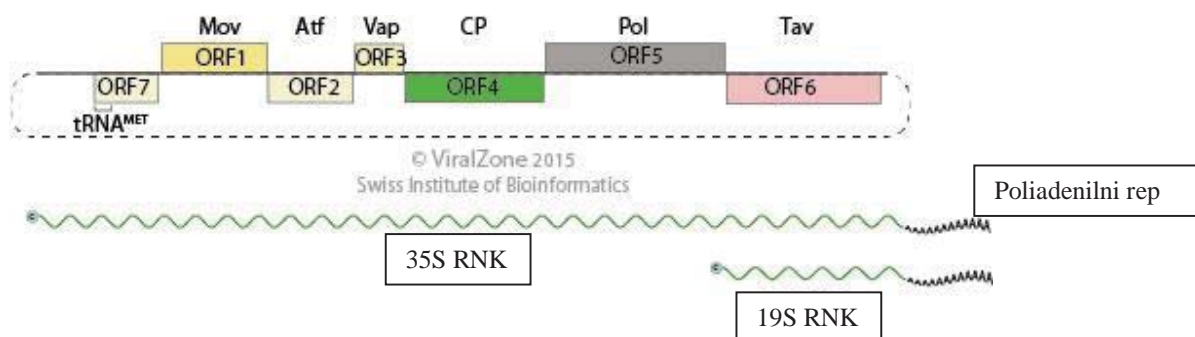
U ovom delu razmatraćemo organizaciju i strukturu genoma i proces umnožavanja kod virusa mozaika karfiola (CaMV) iz roda *Caulimovirus*, kao jednog od najbolje proućenih virusa sa ovim tipom genoma.

### Struktura genoma

Genom virusa mozaika karfiola (CaMV) sastoji se od kružne ili prstenaste dvolanćane molekule dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) od 8 kb (8000 parova baza). Često je dvolanćana molekula DNK uvijena formiraući oblik u formi broja osam. Dvolanćana DNK virusa mozaika karfiola sastoji se od dva lanca i to plus (+) ili  $\beta$  (beta) lanca i minus (-) ili  $\alpha$  (alfa) lanca. Od ovih dvaju lanaca samo se  $\alpha$  lanac prepisuje tj. on je kodirajući lanac. Lanci koji sačinjavaju dvolanćanu DNK nisu kontinuirani, pa tako svi virusi iz roda *Caulimovirus* imaju jedan prekid ili otvor oznaćen kao prekid 1 ili  $\Delta 1$  (delta1), na minus (-) lancu ( $\alpha$  lanac) i dva prekida ili otvora 1 i 2 ( $\Delta 2$  i  $\Delta 3$ ) na komplementarnom plus (+) ili  $\beta$  lancu kod virusa mozaika karfiola (CaMV) ili jedan, dva ili tri prekida na plus (+) lancu drugih virusa iz ovog roda.

Prekid 1 ( $\Delta 1$ ) koji predstavlja isprekidanost odnosno nepovezanost u  $\alpha$  lancu posledica je odsustva jednog ili dva nukleotida. Dva prekida  $\Delta 2$  i  $\Delta 3$  u komplementarnom  $\beta$  lancu nisu posledica izostavljenih nukleotida, već ovi regioni nastaju premeštanjem tj. podizanjem jedne kratke sekvence u vidu poklopca iz dvostruke spirale pomoću identićne sekvence, koja se nalazi kod druge granice prekida.

Na minus (-) lancu ili  $\alpha$  lancu DNK virusa mozaika karfiola (CaMV) nalazi se šest gena, a moguće je i 8 gena ili otvorenih okvira ćitanja (ORF 1-6), koji se prepisuju u određene proteine. Otvoreni okviri ćitanja (ORF) su zgusnuti, odnosno sabijeni prostorno duž  $\alpha$  prstena DNK sa vrlo malim preklapanjem, osim kod mogućeg ORF 8. Struktura genoma i raspored otvorenih okvira ćitanja kod virusa mozaika karfiola je prikazana je na slici IX.15. Kod virusa mozaika karfiola (CaMV) 5' kraju se nalazi na fiksiranom nepromenjenom položaju i za njega je često zakaćen ili vezan jedan ili više ribonukleotida.



Slika IX.15. Struktura genoma virusa iz roda *Caulimovirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Produkt otvorenog okvira čitanja 1 (gena ORF 1) je protein od oko 37 kDa. Utvrđena je njegova tesna povezanost sa matriksom ćelijskog zida (Albrecht et al., 1988) kod ili u modifikovanim plazmadezmama između zaraženih ćelija (Linstead et al., 1988). Sve ovo upućuje da ovaj protein ima ulogu u kretanju virusa iz ćelije u ćeliju.

Produkt ORF 2 je protein od 18 kDa (Gordon et al., 1988; označen kao Atf) izolovan iz zaraženog lisnog tkiva i združen sa viroplazmom. Utvrđeno je da sojevi virusa mozaika karfiola koji imaju ovaj protein se mogu prenositi lisnim vašima, dok oni sojevi kod kojih je došlo do promene u redosledu aminokiselina odnosno mutacije kod ovog proteina (na primer glicina u arganin u položaju 94 u aminokiselinskom nizu) nisu mogli da se prenose vašima (Woolston et al., 1987). Ova činjenica jasno pokazuje funkciju ovog proteina u prenošenju virusa vašima. Protein koji se prepisuje iz ORF 2 takođe ima ulogu povećanja opsega ili stepena do kojeg su virusne čestice sadržane unutar viroplazme (Givord et al., 1984). Ovaj protein formira takođe parakristalne strukture u ćelijama insekata, vektora virusa (Blanc et al., 1993).

Produkt ORF 3 je protein od oko 14 kDa (Gordon et al., 1988; obeležen sa Vap). Aktivnost ovog proteina je povezana sa DNK a prvenstveno za dvolančanu (ds) DNK. Ovaj protein nema specifične sekvence za povezivanje sa DNK. „C“ terminalni deo ovog proteina omogućava njegovu aktivnost vezivanja za DNK (Mougeot et al., 1993). Ovaj protein pripada strukturnim proteinima i nalazi se unutar virusne čestice. Pored toga ovaj protein je uključen u prenošenje virusa mozaika karfiola (CaMV) pomoću insekata.

Produkt otvorenog okvira čitanja 4 (ORF 4) je protein od 57 kDa (označen CP), koji predstavlja prekursor, odnosno predhodnika proteina od 42 kDa od kojeg su izgrađene podjedinice ikosoedarne školjke proteinskog omotača virusa (Franck et al., 1980; Daubert et al., 1982). Smatra se da protein od 42 kDa potiče od molekule proteina od 57 kDa a nastaje cepanjem, pomoću procesa proteolize posle formiranja virusne školjke (Hahn i Sheperd, 1982). Proteinski omotač je fosforilisan tj. vezan za fosfor kod ostataka serina i treonina pomoću enzima kinaze, što omogućava njegovo čvrsto vezivanje za virus (Ménissier et al., 1986; Martinez-Izquierdo i Hohn, 1987). Proteinski omotač virusa je takođe i glukoziran tj. povezan sa šećerima do ograničenog stepena.

Produkt ORF 5 je najveći otvoreni okvir čitanja, koji se prepisuje preko informacione (m) RNK u protein od 79 kDa (Gordon et al., 1988; označen sa „Pol“). Smatra se da ovaj protein predstavlja enzim reverznu transkriptazu na šta ukazuje njegovo prisustvo u replikacionom kompleksu (Pfeiffer et al., 1984) i u virusnim česticama. Neki autori navode da bi se gen (ORF 5) za rezervnu transkriptazu virusa mozaika karfiola (CaMV) mogao prevoditi kao veliki spojeni protein, koji je spojen odnosno povezan sa susednim genom 4 (ORF 4) za proteinski omotač. Ova pretpostavka se izvodi iz analogije tj. sličnosti sa virusima roda *Retrovirus* gde je utvrđen tzv. „gag“ gen koji je sledeći do gena nazvanog „pol“ gen (gen za polimerazu). „Pol“ gen predstavlja složeni protein sa četiri enzimske aktivnosti a to su aktivnosti transferaze RNaseH (enzim koji eliminiše RNK), endonukleaze i proteaze. Gen „pol“ se prevodi kao veliki spojeni poliprotein sa „gag“ genom za proteinski omotač (Mason et al., 1987). Gordon i saradnici (1988) nisu uspeali da otkriju ovako spojeni poliprotein kod virusa mozaika karfiola (CaMV), te smatraju da se protein transkriptaza prepisuje iz njegovog sopstvenog okvira čitanja 5 (ORF 5). Još uvek nije tačno razjašnjen nastanak proteina od 79 kDa i uloga gena 5.

Produkt otvorenog okvira čitanja 6 (ORF 6) je protein od 58 kDa (označen sa Tav), koji sačinjava glavni sastavni deo viroplazme odnosno veći deo u viroplazmi virusa mozaika karfiola (CaMV). Proučavana uloga ovog proteina ukazuje da on ima najznačajniji uticaj u prouzrokovanju bolesti i izazivanju simptoma oboljenja, kao i u upravljanju odnosno određivanju kruga domaćina virusa. Međutim utvrđeno je da i drugi geni mogu da imaju udela u gore pomenutim osobinama (Hull, 2004; Slika IX.15.).

Otvoreni okviri čitanja 7 i 8 su najmanji i prisutni su kod virusa mozaika karfiola (CaMV) dok kod drugih virusa iz roda *Caulimovirus* njihovo prisustvo nije utvrđeno. Međutim njihovi produkti su utvrđeni u ogledima „*in vitro*“. Protein prepisan iz ORF 7 ima visok sadržaj baznih aminokiselina i možda ima ulogu u povezivanju proteina sa DNK (Givord et al., 1988). Otvoreni okvir čitanja 8 nalazi se odnosno delimično se poklapa sa ORF 4. Funkcija prepisanog proteina iz ovog okvira je nepoznata.

### **Umnožavanje virusa**

Virusi iz porodice *Caulimoviridae* sa dvolančanim (ds) DNK genomima, gde spada i virus mozaika karfiola (CaMV) iz roda *Caulimovirus* se umnožavaju pomoću procesa reverzne transkripcije. Umnožavanje ovim procesom je najdetaljnije proučeno kod virusa mozaika karfiola (CaMV), te ćemo u daljem tekstu izneti najznačajnije podatke o umnožavanju ovog virusa.

Kod virusa iz porodice *Caulimoviridae* parazita biljaka, označenih i kao pararetrovirusi slično kao kod *Retrovirus*-a, parazita životinja replikacioni proces se odvija u dve faze. Prva faza se odigrava u jedru zaražene ćelije tzv. „jedarna faza“ u kojoj se vrši prepisivanje virusne DNK pomoću DNK zavisne RNK polimeraze II biljke domaćina u RNK virusa. Druga faza umnožavanja se vrši u citoplazmi tzv. citoplazmatska faza, gde se sintetizovana RNK proizvod transkripcije virusne DNK prepisuje odnosno podvrgava reverznoj transkripciji pomoću virusno kodirane RNK zavisne DNK polimeraze (reverzne transkriptaze) dajući genomsku DNK. Kod retrovirusa aktivnost reverzne transkriptaze je deo tzv. „pol“ gena koji takođe obuhvata i aktivnost RNaseH, koja uklanja malu količinu ili polovinu RNK, koja predstavlja posrednika ili međuproizvod replikacije. Aktivnost reverzne transkriptaze i RNaseH su tesno povezane. Aktivnost reverzne transkriptaze je povezana sa česticama virusa mozaika karfiola (Takatsuji et al., 1992).

Proces umnožavanja virusa mozaika karfiola (CaMV) započinje prilikom prodiranja virusa u citoplazmu ćelije domaćina gde dolazi do oslobađanja od proteinskog omotača tj. svlačenja proteinskog omotača sa čestica virusa. U prvoj fazi replikacije infektivne genomske dvolančane DNK bez proteinskog omotača kreću se ka jedru i ulaze u jedro gde dolazi do uklanjanja preklapajućih nukleotida na prekidima u prstenovima DNK tako da se prekidi kovalentno zatvaraju formirajući kovalentno zatvorene prstenove tzv. cccDNK ( od engleskih reči covalent closed circle=ccc). Kovalentno zatvorena DNK (cccDNK) spaja se sa histonima u jedru domaćina i formira mini ribosome koji služe kao kalup da pomoću enzima DNK zavisne RNK polimeraze II domaćina izvrše transkripciju po kalupu DNK u dve RNK od 19S i 35S (Slika IX.15.).

Dve novosintetizovane RNK od 19S i 35 S sa poli A repom sele se tj. odlaze iz jedra u citoplazmu zaražene ćelije gde nastaje druga faza replikacije virusa. Druga faza ciklusa replikacije se dešava u viroplazmi (Mazzolini et al., 1985). Ribonukleinska kiselina (RNK) od 19S je i informaciona RNK (mRNK) za otvoreni okvir čitanja 6 odnosno gen 6 koji se prevodi u velike količine proteina od 58 kDa koji ulazi u sastav viroplazme koja se formira u citoplazmi ili formira inkluziona tela. Ovaj protein produkt gena 6 je specifičan za viruse iz

roda *Caulimovirus*. U viroplazmama ili inkluzionim strukturama vrši se umnožavanje genomske DNK i sklapanje virusnih čestica.

Ribonukleinske kiseline od 35S predstavljaju informacionu RNK (mRNK) koja po dužini odgovara dužini virusne DNK i služi kao kalup za sintezu minus (-) lanca DNK pomoću virusno kodirane RNK zavisne DNK polimeraze ili reverzne transkriptaze. Započinjanje sinteze virusne DNK prema RNK od 35S kao kalupu vrši se tako što metilisana transportna RNK domaćina (tRNK sa metil grupama) formira parove baza od preko 14 nukleotida sa RNK od 35S. Ovo bazno sparivanje tRNK i RNK od 35S se vrši na 3' krajevima ovih kiselina. Ovo mesto sparivanja odgovara mestu prekida 1 ( $\Delta 1$ ) u pravcu 3'→5' u  $\alpha$  lancu DNK. Nakon sparivanja baza tRNK i RNK od 35S na 3' krajevima virusno kodirana reverzna transkriptaza započinje sintezu minus (-) lanca DNK u pravcu od 3'→5' kraju RNK od 35S kao kalupu uz pomoć tRNK koji donosi i slaže određene nukleotide po određenom redosledu. Sinteza se vrši i nastavlja dok  $\alpha$  lanac DNK ne stigne do 5' kraja RNK od 35S. Tada započinje aktivnost enzima RNaseH koji uklanja i eliminiše polovinu RNK od 35S iz dvostrukog (dvolančanog) lanca spojene RNK i sintetizovane DNK. Kod ove tačke tj. kod 5' kraja RNK od 35S mora se izvršiti skretanje odnosno premeštanje enzima reverzne transkriptaze ka 3' kraju RNK od 35S da bi se nastavilo prepisivanje DNK i da bi se ona kompletirala u punoj dužini. Premeštanje odnosno skretanje ka 3' kraju omogućava sekvenca sastavljena od 180 nukleotida koji se direktno ponavljaju kod oba kraja RNK od 35S. Kada je prepisivanje ka 3' kraju RNK od 35S kao prema kalupu završeno i minus lanac DNK kompletiran reverzna transkripcija RNK od 35S se nastavlja do prajmera na transportnoj RNK (tRNK) gde je započeta sinteza i tada dolazi do izbacivanja nukleotida  $\alpha$  lanca odnosno njihovog pomeranja da bi se formirao prekid  $\Delta 1$  u ovom novosintetizovanom lancu DNK. Ostatak iskorišćenog kalupa RNK od 35S se eliminiše pomoću aktivnosti RNaseH. Na lancu RNK od 35S se nalaze i dva polipurinska niza (PPT) (poly purin tracks= PPT) koji odgovaraju položaju odnosno mestima prekida  $\Delta 2$  i  $\Delta 3$  na plus (+) lancu ili  $\beta$  lancu DNK. Sinteza pozitivnog  $\beta$  lanca DNK započinje kod ova dva PPT niza koji predstavljaju dva prajmera za sintezu plus (+) lanca. Sinteza plus lanca se dešava kroz otvor ili prekid  $\Delta 1$  na minus lancu koji služi kao kalup (Hohn i Fütterer. 1997).

Virus mozaika karfiola (CaMV) kao i drugi virusi iz roda *Caulimovirus* proizvode inkluziona tela ili viroplazme u citoplazmi zaraženih ćelija biljaka domaćina. Potpuno formirana inkluziona tela, odnosno inkluzije se razlikuju po veličini i kreću se od 0,2 do 20  $\mu\text{m}$  u prečniku. Ona su obično sferičnog oblika. Nisu povezana sa membranom ćelije i često su okružena ribozomima na periferiji. Inkluzije se sastoje od finog granuliranog matriksa u kojem su prisutne virusne čestice u razbacanim ili nepravilnim skupinama. Nisu okružene membranom.

Smatra se da se umnožavanje genomske DNK vrši u ovim inkluzijama, pošto je u njima primećena aktivnost reverzne transkriptaze i utvrđeni međuproizvodi tj. ribonukleinske kiseline kao produkti replikacije virusa. Ovi međuproizvodi pronađeni su i u virusnim česticama, što ukazuje da proces reverzne transkripcije kod virusa mozaika karfiola se vrši i u virusnim česticama tj. nekompletnim virusnim česticama (Thomas et al., 1985; Marsh i Guilfoyle, 1987; Fütterer i Hohn, 1987). Sklapanje virusa se takođe obavlja u inkluzijama. Malo se zna o načinu sklapanja proteinskog omotača sa genomskom dsDNK. Zapaženo je da uvlačenje odnosno oblaganje proteinskog omotača oko genoma odnosno tzv. enkapsidacija može biti tesno povezana sa sintezom DNK virusa.

## *Umnožavanje virusa sa jednolančanom (jednospiralnom) DNK (ssDNK)*

Samo dve porodice biljnih virusa i to porodica *Geminiviridae* i porodica *Circoviridae* imaju tip genoma u obliku jednolančane dezoksiribonukleinske kiseline (ssDNK). Genomi ovih virusa se sastoje od jedne kružne spirale DNK. Porodica *Geminiviridae* obuhvata rodove *Mastrevirus*, *Curtovirus* i *Topocurovirus* koji imaju jednodelne tj. nepodeljene genome u vidu kružne spirale DNK dok virusi roda *Begomovirus* imaju podeljeni genom iz dva dela tj. genom sadrži dve jednolančane DNK označene kao DNK 1 ili DNK A i DNK 2 ili DNK B. Biljni virusi iz porodice *Circoviridae* obuhvataju rod *Nanovirus*. Virusi iz ove porodice su još uvek nedovoljno proučeni. Genomi virusa porodice *Circoviridae* sastoje od složenih mnogostrukih molekula kružne jednolančane DNK od približno 1 kb. Broj posebnih dezoksiribonukleinskih kiselina (DNK) se menja u zavisnosti od vrste virusa između šest i 11 komponenti odnosno molekula DNK koje se nalaze u jednoj čestici virusa.

U ovom delu proučićemo organizaciju i strukturu genoma, kao i umnožavanje virusa iz porodice *Geminiviridae*

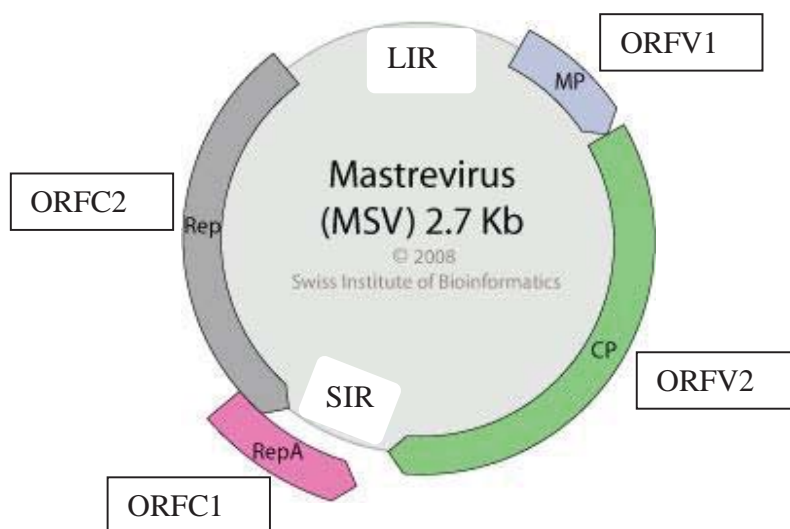
### **Struktura genoma**

Virusi iz rodova koji se nalaze u okviru porodice *Geminiviridae* razlikuju se po organizaciji i strukturi njihovih genoma. Međutim svi virusi iz ove porodice imaju sačuvanu konzervativnu nepromenjenju sekvencu na genomima, koja je ista kod svih virusa i naziva se zajednička ili opšta sekvenca. Ova sekvenca se sastoji od oko 200 baza i nalazi se u intergenskom regionu tj. u nekodirajućem regionu na genomu virusa i označava se kao opšti ili zajednički region. Ovaj region ima osobinu da formira strukture u obliku šnale, koja se sastoji iz omče, savijenog dela i stabla, ravnog dela. U okviru savijenog dela- omče nalazi se sekvenca od devet baza „TAATATTAC“ koja je utvrđena kod svih genoma virusa ove porodice (Lazarowitz, 1987). Smatra se da je ova sekvenca uključena u transkripciju RNK i replikaciju DNK virusa. Važno je naglasiti da prilikom zaraze biljaka virusima iz porodice *Geminiviridae* prilikom ulaska u ćeliju prvo gube proteinski omotač, a zatim iz citoplazme odlaze u jedro. U jedru se na osnovu genomske DNK ili plus (+) lanca tzv. V-lanca (virus circle = virusni lanac- V), kao po kalupu sintetizuje komplementarni minus (-) lanac tzv. C lanac (complementary circle-C) pomoću DNK zavisne DNK polimeraze domaćina, formirajući dvolančanu +/- ds DNK kao replikativnu formu (RF). Kod virusa iz ove porodice kodirajući region tj. otvoreni okviri čitanja (ORF) odnosno geni se nalaze i na virusnom lancu (V-lancu) i na komplementarnom lancu (C-lancu) DNK.

### **Struktura genoma virusa iz roda *Mastrevirus***

Struktura genoma je detaljnije proučena kod virusa prugavosti kukuruza (*Maize streak virus-MSV*), predstavnika roda *Mastrevirus* (Palmer i Rybicki, 1998). Genom virusa prugavosti kukuruza (MSV) predstavlja pojedinačni prsten DNK sastavljen od 2687 nukleotida. Na genomu su utvrđena 4 kodirajuća regiona tj. četiri otvorena okvira čitanja od kojih se dva nalaze na virusnoj DNK (oznaka V) a dva na sintetizovanom komplementarnom lancu DNK (oznaka C), koji formiraju replikativnu formu ds +/-DNK. Šema strukture genoma virusa prugavosti kukuruza (MSV) je prikazana na slici IX.16.





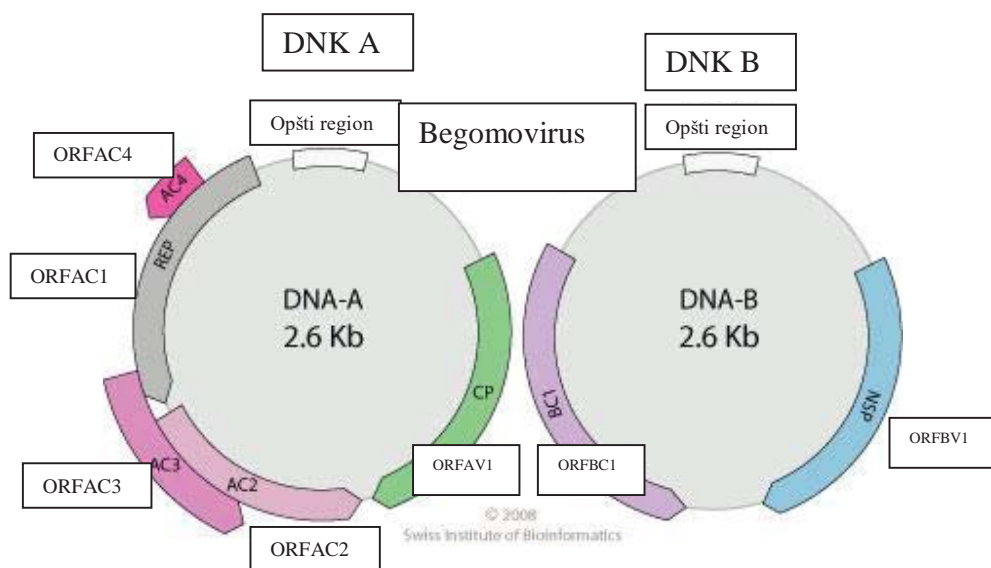
Slika IX.16. Struktura genoma virusa prugavosti kukuruza (*Maize streak virus*) i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Na genomu ovog virusa pored kodirajućih regiona postoje i dva intergenska nekodirajuća regiona i to dugačak tzv. „LIR“ region (od engleskih reči long intergenic region=LIR) i kratak intergenski region tzv. SIR (od engleskih reči short intergenic region=SIR). Najveći broj transkripcija, odnosno prepisivanja u proteine započinje u „LIR“ regionu a završavaju se u „SIR“ regionu. Kao što je napred rečeno dva otvorena okvira čitanja (ORFV1 i ORFV2) su na virusnom lancu, a dva ORFC1 i ORFC2 na komplementarnom lancu virusa prugavosti kukuruza (MSV). Otvoreni okvir čitanja V1 (ORFV1) kodira protein za kretanje virusa iz ćelije u ćeliju (označen kao MP). ORFV2 kodira protein koji sačinjava proteinski omotač (CP), dok ORFC1 i ORFC2 kodiraju proteine povezane sa replikacijom, označene kao replikaze (Rep i RepA; Slika IX.16).

#### **Struktura genoma virusa iz roda *Begomovirus***

Predstavnik roda *Begomovirus*, koji je detaljno proučen je virus afričkog mozaika kasava odnosno hlebnog drveta (*African cassava mosaic virus*, ACMV), kao i virus zlatnog mozaika pasulja (*Bean golden mosaic virus*, BGMV). Potpuni genom ovog virusa sastoji od dva jednolančana kružna prstena DNK (ssDNK) slične veličine (Stanley i Gay, 1983). Obe DNK koje sačinjavaju genom su potrebne za infektivnost virusne čestice. To su virusi iz porodice *Geminiviridae* sa dvostrukim odnosno dvodelnim genomom. Ove dve DNK su označene kao DNK A ili DNK 1 i DNK B ili DNK 2. Nukleotidne sekvence ovih dvaju DNK su vrlo različite osim 200 nukleotida nekodirajućeg regiona tzv. zajedničkog ili opšteg regiona koji su uglavnom identični na obe DNK genoma.

Dvokomponentalni virusi iz roda *Begomovirus* kodiraju pet ili šest proteina na DNK A, pošto se na DNK A (virusnoj DNK-A), tj. na kalupu nalazi pet ili šest otvorenih okvira čitanja nazvanih ORFAV1-6 i četiri proteina na komplementarnom lancu nastalom sintezom prema DNK A kao kalupu nazvanih ORFAC1-4. Na genomske DNK B kodiraju se dva proteina i to jedan na virusnom lancu (ORFBV), a jedan na komplementarnom lancu (ORFBC). Šema strukture genoma virusa iz roda *Begomovirus* prikazana je na slici IX.17.



Slika IX.17. Struktura genoma virusa roda *Begomovirus* i produkti gena (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Iz ORFV1 se prepisuje protein koji sačinjava proteinski omotač virusa (CP). Proteinski produkt ORFV2 ima funkciju za kretanje virusa iz ćelije u ćeliju. Svi proteini kodirani pomoću komplementarnog lanca DNKAC (ORFAC1-4) su uključeni u replikaciju virusa i predstavljaju proteine polimeraze (ORFAC1 i ORFAC2; označene kao REP i AC2) i proteine za podsticanje ubrzanja replikacije (ORFAC3; produkt AC3), dok je funkcija produkta ORFAC4 (AC4) nepoznata.

Protein NSP kodiran od ORFBV1 na DNK B genomu se stvara u jedru formirajući cevaste tvorevine u okviru jedra. Protein BC1 produkt ORFBC1 na komplementarnom lancu DNKBC ima funkciju omogućavanja kretanja virusa iz ćelije u ćeliju (Slika IX.17).

#### **Umnožavanje virusa**

Dve porodice biljnih virusa porodica *Geminiviridae* i porodica *Circoviridae* imaju genom u obliku jednolančane DNK (ssDNK). Porodica *Geminiviridae* obuhvata 4 roda od kojih kod tri roda je genom jednodelan tj. nepodeljen i sastavljen od jednog kružnog lanca ssDNK a kod četvrtog roda (rod *Begomovirus*) genom je dvodelan i podeljen na dva kružna lanca ssDNK (DNK A i DNK B). Lanac DNK A sadrži sve informacije neophodne za umnožavanje virusa. Geni na lancu DNK B kodiraju proteine uključene u kretanje virusa. Proces umnožavanja virusa iz gore navedene dve porodice se dešava u više faza. Polazi od faze jednolančane ssDNK preko faze dvolančane dsDNK do završne faze jednolančane ssDNK (ssDNK→dsDNK→ssDNK). Mnoge osobine umnožavanja virusa iz porodica *Geminiviridae* i *Circoviridae* su slične, ali postoje i izvesne razlike. Najbolje je proučeno umnožavanje virusa iz porodice *Geminiviridae* (Hanley-Bowdoin et al., 1999; Gutierrez, 2000a). Ciklus umnožavanja virusne DNK u mnogim aspektima je sličan umnožavanju ćelijske DNK biljke domaćina i zavisi od mnogih funkcija domaćina. Umnožavanje virusne DNK u ćeliji biljke domaćina zavisi od faze razvoja ćelije biljke. Tako u G fazi razvoja ćelije prestaje umnožavanje virusne DNK. Iz tih razloga virusi iz porodice *Geminiviridae* moraju da svojom aktivnošću u procesu replikacije preokrenu unazad razvoj ćelije domaćina u fazu S, radi omogućavanja replikacije virusne DNK. Prilikom ulaska virusnih čestica u ćeliju one

gube proteinski omotač i ostaje goli kružni prsten genomske DNK označen kao plus (+) DNK. Ova plus (+) DNK bez omotača kreće se ka jedru i ulazi u jedro ćelije i služi kao kalup na osnovu koga se vrši sinteza minus (-) lanca DNK pomoću DNK polimeraze domaćina i formira se dvolančana +/- spirala DNK kao replikativna forma (RF).

Kod virusa iz roda *Mastrevirus* na 3' kraju genoma nalazi se sekvenca oligonukleida komplementarna sa intergenskim regionom koja predstavlja mesto koje prepoznaje DNK polimeraza domaćina za koje se ovaj enzim vezuje i vrši sintezu minus (-) lanca po kalupu (+) lanca DNK. Kod virusa iz ostala tri roda sekvenca u intergenskom regionu koju prepoznaje DNK polimeraza domaćina nalazi se pri 5' kraju genomske DNK. Prajmeri (sekvence za započinjanje sinteze minus (-) lanca) unutar intergenskog regiona kod rodova *Mastrevirus* i *Begomovirus* sadrže ribonukleotide.

Formirana replikativna forma ds +/-DNK služi kao kalup za sintezu informacione RNK (mRNK) pomoću enzima transkriptaze. Informaciona RNK omogućava prepisivanje proteina kao što su „Rep“-proteini koji učestvuju u procesu replikacije genomske DNK. Ovi procesi se dešavaju u jedru biljke domaćina i smatra se da na sintezu minus (-) lanca DNK deluju mnogi faktori domaćina i da se ona obavlja pod uticajem domaćina.

#### **Započinjanje sinteze plus (+) DNK tj. genomskih DNK na osnovu minus (-) DNK kao kalupa**

Mesto započinjanja sinteze plus (+) lanca DNK nalazi se u intergenskom regionu od 200 baza koji je identičan za sve viruse iz porodice *Geminiviridae*. U intergenskom nekodirajućem regionu nalazi se zajednički deo u obliku šnale zajednički za sve viruse ove porodice (Arguello-Astorga et al., 1994). Struktura u obliku šnale sastoji iz ravnog dela (stabla) koje je bogato bazama GC (guanin i citozin) i dela u obliku omče bogatog bazama AT (adenin i timin). Omča koja se nalazi kod 5' kraja sadrži sekvencu TAATATTAC koja je sačuvana kod svih virusa porodice *Geminiviridae*. Kod mesta cepanja tetra sekvence između TT↓AC započinje sinteza plus (+) lanca DNK. Za ovo mesto vezuje se replikacioni enzim Rep-protein i dolazi do umnožavanja plus (+) lanca po kalupu minus (-) lanca pomoću kružnog umotavanja. „Rep“-protein je jedini protein virusa iz ove porodice koji je neophodan za replikaciju (Elmer et al., 1988). Kod virusa iz rodova *Begomovirus* i *Curtovirus* „Rep“ protein je kodiran od otvorenog okvira čitanja ORFC1, a kod virusa roda *Mastrevirus* otvoreni okvir čitanja ORFC1:C2 preko spojene odnosno preklopljene informacione RNK naznačen kao „Rep“-protein, dok oni proteini iz nepreklopljene mRNK iz ORFC1 su nazvani „RepA“-proteini. „Rep“ i „RepA“ proteini su multifunkcionalni proteini. Smešteni su unutar jedra (Nagar et al., 1995). Oni imaju specifična mesta za prepoznavanje DNK (Fontes et al., 1994). Ovi proteini (Rep i RepA) kod virusa rodova *Mastrevirus* i *Begomovirus* su pokazali sposobnost za aktiviranje gena informacione RNK (mRNK) za proteinski omotač (Hofer et al., 1992; Zhan et al., 1993). Ovi proteini (Rep i RepA) uzajamno deluju i sa proteinima retinoblastoma (Rb-proteini) i drugim proteinima domaćina. Rep-proteini ispoljavaju pretežno interakciju između proteina i proteina tj. uzajamnog delovanja između ovog proteina i proteina domaćina.

Kao što smo već napomenuli virusi iz porodice *Geminiviridae* se umnožavaju u različitim ćelijama biljaka domaćina u kojima je prestalo umnožavanje DNK domaćina. Prema tome replikacija virusne DNK zavisi od faktora za umnožavanje DNK domaćina. Iz tih razloga ćelijski ciklus umnožavanja DNK domaćina mora da bude promenjen odnosno zaustavljen da bi došlo do umnožavanja DNK virusa. Smatra se da je Rep-protein uključen u ove promene i modifikaciju ćelijske sinteze DNK domaćina (Hanley-Bowdoin et al., 1999;

Gutierrez, 2000b). Primer uticaja Rep proteina na razvoj i procese u ćelijama domaćina je uticaj i vezivanje Rep proteina za Rb-proteine koji regulišu porast ćelije. Tako na primer različite virusne DNK upravljaju ćelijskim ciklusom njihovih domaćina preko povezivanja virusno kodiranog proteina sa Rb-proteinom domaćina (Gutierrez, 2000a). Povezivanje Rb proteina domaćina sa virusnim proteinima sprečava upravljanje Rb proteina ćelijskim procesom koji održavaju ćeliju u G fazi i omogućavaju ćeliji da se vrati u S fazu i proizvede činioce potrebne za virusnu replikaciju.

O sklapanju virusnih čestica genomske DNK i proteinskog omotača se ne zna dovoljno. Smatra se da se ovaj proces sklapanja vrši postepeno korak po korak. Sklapanje kompleksa protein DNK sa monomerima je međusobno uticalo na sklapanje DNK i drugih monomera i obrazovanje i sklapanje strukture oligomera.

## X EKOLOGIJA I EPIDEMIOLOGIJA BILJNIH VIRUSA (BAGI, F.)

### *Izvori virusnih infekcija*

Virusi ne stvaraju specifične strukture putem kojih se održavaju u nepovoljnim uslovima sredine, tako da je glavni vid održavanja u zaraženim živim biljnim vegetativnim ili generativnim organima (ređe), kao i u telu vektora (Schumann i D`Arcy, 2006). Oni ujedno predstavljaju glavni izvor virusnih infekcija u narednim vegetacijama. Posebno se ističe značaj širenja virusa vegetativnim delovima biljaka koji služe za razmnožavanje. Samo mali broj virusa može da zadrži infektivnost van ćelije dovoljno dugo da bi predstavljao značajan izvor infekcija. Među takve viruse spada virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*), kod kojeg usled duge postojanosti „*in vitro*”, izvor infekcije mogu biti alati, zaraženi biljni ostaci, konstrukcije staklenika i plastenika ili duvan iz cigareta (Scholthof, 2008).

### *Načini prenošenja virusa*

Proces prodiranja virusa u biljno tkivo je pasivan iz razloga što virusi ne poseduju enzime koji bi omogućili aktivno prodiranje u biljnu ćeliju. Zbog toga se proces prenošenja virusa može svrstati u sledeće grupe: prenošenje putem životinjskih vektora i prenošenje bez učešća životinjskih vektora (Horváth i Gáborjányi, 1999). Poznavanje načina prenošenja pojedinih virusa je od velikog značaja u osnovnim ispitivanjima karakteristika virusa, a važno je i kao metoda u postupku determinacije. Način prenošenja posebnu ulogu ima u mogućim merama prevencije i zaštite od virusnih oboljenja (Bragard et al., 2013), i karakterističan je za svaku vrstu, a u nekim slučajevima i soj pojedinih virusa, pri čemu se pojedini virusi mogu prenositi putem jednog, dva ili više načina.

### *Prenošenje virusa bez životinjskog vektora*

Ukoliko isključimo učešće vektora iz životinjskog carstva u prenošenju biljnih virusa, možemo razlikovati sledeće načine prenošenja: kalemljenjem, mehaničko, vegetativnim organima biljaka, semenom odnosno polenom biljaka, gljivama ili gljivolikim organizmima, vilihom kosicom i vodom.

### *Prenošenje kalemljenjem*

Putem kalemljenja se može preneti svaki virus koji ostvaruje sistemične zaraze ukoliko su podloga i plemka kompatibilni i ukoliko je podloga i/ili plemka zaražena. Na ovaj način se u voćarstvu i vinogradarstvu prenosi veliki broj virusa voća i vinove loze što prouzrokuje ogromne ekonomske gubitke poljoprivredi (Agrios, 2005). Do prenošenja tokom kalemljenja može doći putem kalemarskog alata ukoliko se izostavi njegova dezinfekcija.

Međutim tehnika prenošenja virusa putem kalemljenja se često koristi kao eksperimentalna u ispitivanjima virusa u cilju determinacije, određivanju kruga domaćina,

širenju virusa u biljnom tkivu i drugim ispitivanjima. Pored tehnika kalemljenja koje se koriste u voćarstvu i vinogradarstvu (kalemljenje pupoljka, u procep, T- sistem, itd) u eksperimentalnom radu se primenjuje i metoda kalemljenja krtola, lukovica, listova, zeljastih biljnih organa i dr. (Schmelzer, 1980). Kalemljenjem se virus može preneti i na biljke koje su sistematski udaljene i različite po građi, na primer sa zeljastih na drvenaste i obrnuto.

### *Mehaničko prenošenje*

Kod mehaničkog prenošenja virusa ovaj proces se dešava kroz rane koje nastaju na biljnim organima, a koje omogućavaju unošenje virusnih čestica u zdravu ćeliju. Uspešnost infekcije zavisi od uslova spoljne sredine, osetljivosti domaćina i infektivnosti virusa koji se prenosi (Horváth, 1993). U prirodi se mehaničko prenošenje može odigravati dodirivanjem bolesnih i zdravih biljaka (na primer uticaj jakog vetra), a do prenošenja može doći i prilikom izvođenja različitih agrotehničkih operacija pri kojima dolazi do povrede biljaka, kao što su sadnja, zakidanje zaperaka, obrada zemljišta i dr. Pušači na svojim prstima mogu preneti virus mozaika duvana ukoliko nakon pušenja dodiruju biljke osetljive domaćine prema virusu, kao što su duvan, paradajz, paprika i druge (Jasnić, 1978).

Slično kalemljenju, i mehaničko prenošenje se često koristi u eksperimentalnom radu za izolaciju virusa, determinaciju, u umnožavanju virusa radi prečišćavanja i izdvajanje virusa iz mešovutih zaraza. U procesu determinacije se virus pored prirodnih domaćina često prenosi i na eksperimentelne domaćine – biljne vrste koje na dati virus reaguju specifičnim simptomima, iako se u prirodi ne zaražavaju tim virusom. U eksperimentalnom radu virus se prenosi utrljavanjem suspenzije zaraženog biljnog soka iz tkiva pomoću prsta, četkice ili staklenog štapića, pri čemu se koriste abrazivi- karborundum prah (SiC), kvarcni pesak (SiO<sub>2</sub>), ili žareni aluminijum oksid (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) u cilju izazivanja povreda biljnih tkiva. Mehanički se lako prenosi virus mozaika duvana, virus mozaika krastavca, virus mozaika lucerke, Y virus krompira i drugi. Metoda je redovno uspešnija kod mladih biljaka. Često uspešnost inokulacije favorizuje i držanje test biljaka pre inokulacije u mraku. Više temperature do izvesne granice takođe favorizuju infekcije, a niže smanjuju. Ostvarivanje infekcija često sprečavaju materije u ćeliji: polifenoli, tanini i oksidativni fermenti, pa se radi poboljšanja uspeha infekcije, rastvoru dodaju inhibitori polifenola i tanina, kao i reducenti oksidativne aktivnosti. U zavisnosti od uslova sredine, domaćina i infektivnosti virusa simptomi se pojavljuju 10-14 dana nakon izvršene veštačke inokulacije (Agrios, 2005), a kod nekih virusa i ranije (virus mozaika duvana i dr.).

### *Prenošenje vegetativnim organima biljaka*

Usled sistemičnog karaktera virusnih infekcija ukoliko je matična biljka koja se koristi za vegetativno razmnožavanje zaražena, onda će svaka nova jedinka dobijena od nje biti takođe zaražena (Hull, 2004). Zbog toga razmnožavanje izdancima, reznicama, lukovicama, krtolama, stolonima i drugim vegetativnim organima povlači rizik virusnih infekcija i nameće potrebu kontrole zdravstvenog stanja sadnog materijala.

## *Prenošenje semenom i polenom*

Seme biljaka može biti zaraženo virusima ili preko zaražene matične biljke na kojoj se formira ili preko zaraženog polena (Maule i Wang, 1996). Poznato je preko 100 biljnih virusa koji se prenose putem zaraženog semena. Procenat prenošenja virusa sa zaraženih matičnih biljaka na formirano seme je različit. Mnogi virusi se ne prenose semenom, odnosno na zaraženim biljkama se stvara seme koje nije zaraženo, dok kod drugih procenat obrazovanog zaraženog semena dostiže i 100%. Među rodovima *Alfamovirus*, *Cucumovirus*, *Enamovirus* i *Tospovirus* nalaze se i virusi koji i do 100% zaražavaju seme i sa 100%-nom uspešnošću se prenose semenom (Horváth i Gáborjányi, 1999). Procenat uspešnosti prenošenja virusa semenom kod drugih virusa zavisi od vrste i fiziološkog stanja zaražene biljke, vremena infekcije, uslova spoljne sredine i samog virusa. Virus nekrotične prstenasti pegavosti koštičavog voća (*Prunus necrotic ring spot virus*, PNRSV) prenosi se semenom trešnje u 76,9-88,8% slučajeva, a semenom badema svega 9% (Vertesy, 1976; Barba et al., 1986; Kryczynski et al., 1992).

Pored prenošenja semenom kada je najčešće zaražena klica (unutrašnja zaraza), virusi se mogu preneti i na površini ovog generativnog organa. Na površini semena paprike i paradajza se može preneti virus mozaika duvana (Jasnić, 1978).

Prenošenje virusa putem polena ima veliki epidemiološki značaj, pošto se virusi putem vetra i zaraženog polena mogu preneti na značajne udaljenosti. Iz preventivnih razloga se u matičnjacima voćnih vrsta preporučuje uklanjanje cvetova, jer se na primer matična stabla trešnje mogu zaraziti virusima kržljivosti šljive (*Prune dwarf virus*, PDV) i nekrotične prstenasti pegavosti koštičavog voća (*Prunus necrotic ring spot virus*, PNRSV) putem zaraženog polena (Kelley i Cameron, 1986). Među virusima koje parazitiraju ratarsko-povrtarske biljke polenom i semenom se prenose virus mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*, AMV), virus mozaika salate (*Lettuce mosaic virus*, LMV), virus običnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic virus*, BCMV) i drugi.

Usled sve intenzivnije svetske robne razmene povećao se i rizik introdukcije biljnih virusa putem semena iz drugih država, i udaljenih kontinenata. Radi sprečavanja unošenja virusa na taj način usvojeni su karantinske propisi i protokoli za pregled semenskog materijala.

## *Prenošenje preko korena biljaka i biljnih ostataka u zemljištu*

Vidom mehaničkog prenošenja, ali u ovom slučaju ispod površine zemljišta se može smatrati prenošenje virusa putem čvrstog kontakta korena zaražene i nezaražene biljke. Ovaj način prenošenja može prouzrokovati značajne ekonomske gubitke u rasadnicima, u kojima je gust sklop između sadnica, kao i u vinogradima i višegodišnjim leguminozama. Na ovaj način se može preneti virus mozaika jabuke (*Apple mosaic virus*, ApMV), ali i drugi virusi (Agbas i Degirmenci, 2009).

Usled visoke vitalnosti virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) i virusa mozaika paradajza, *Tomato mosaic virus*, ToMV) u *in vitro* uslovima, ovi virusi mogu veoma dugo održati vitalnost u zaraženim biljnim ostacima u zemljištu, te mogu izvršiti infekciju korena paradajza (Pares et al., 1996).

## *Prenošenje gljivama i gljivolikim organizmima*

Patogeni korena gajenih biljaka, pripadnici carstva *Protozoa* i *Fungi*, odnosno gljive i gljivoliki organizmi mogu biti vektori biljnih virusa (Hull, 2004). Iz carstva *Protozoa* kao vektori su poznate vrste iz klase *Plasmodiophoromycetes*, rodovi *Spongospora* i *Polymyxa* dok su iz carstva *Fungi*, klase *Chytridiomycetes* kao vektori značajni pripadnici roda *Synchytrium* i *Olpidium*.

Prouzrokovatelj prašne krastavosti krompira, *Spongospora subterranea* prenosi virus metličavosti vrha krompira – *Potato mop top virus*, PMTV (Jones i Harrison, 1969), dok *Polymyxa betae* prenosi virus nekrotičnog žutila nerava šećerne repe- *Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV (Ciafardani, 1991).

Prema Lange (1978) gljiva *Synchytrium endobioticum* prenosi X virus krompira (*Potato virus X*, PVX), *Olpidium brassicae* prenosi virus nekrotične kržljivosti duvana (*Tobacco necrosis virus*, TNV) i virus džinovskih nerava salate (*Lettuce big-vein virus*, LBVV) (Kassanis i Macfarlane, 1964; Tomlinson i Garrett, 1964). *O. bornovanus* prenosi virus nekrotične pegavosti dinje -*Melon necrotic spot virus*, MNSV (de Cara et al., 2008).

Prema Agrious-u (2005) prilikom prenošenja virusa čestice virusa se mogu nalaziti u unutrašnjosti ili na površini trajnih spora odnosno zoospora gore pomenutih mikroorganizama. U slučaju prenošenja virusa nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV) putem *Polymyxa betae* čestice virusa se održavaju u trajnim sporama parazita, a nakon aktiviranja spora usled povoljnih klimatskih uslova formiraju se zoosporangije i zoospore koje u unutrašnjosti takođe sadrže čestice virusa. Prilikom infekcije korena šećerne repe od strane zoospora, čestice virusa dospevaju u biljne ćelije i prouzrokuju oboljenje nazvano “rizomanija”. Za razliku od ovog prenošenja, čestice virusa nekroze krastavca (*Cucumber necrosis virus*, CNV) koje prenosi *O. bornovanus* se za zoospore vezuju površinski, zahvaljujući specifičnom aminokiselinskom rasporedu proteinskog omotača virusa (Hull, 2004).

## *Prenošenje vilinom kosicom*

Vrste iz roda *Cuscuta* (vilina kosica) su parazitne cvetnice koje hranljive materije usvajaju od svojih domaćina obmotavajući ih svojim stablom i prodirući u njih pomoću haustorija. Ukoliko vilina kosica istovremeno obmotava i virusom zaraženu i zdravu biljku, postoji mogućnost prenošenja čestica virusa. Smatra se da virusne čestice preko floema viline kosice dospevaju do sprovodnih sudova zdrave biljke (Horváth i Gáborjányi, 1999). Unutar roda *Cuscuta* veći broj vrsta može preneti viruse, a uspešnost prenošenja se razlikuje među vrstama. Kao vektori su najznačajnije vrste *C. subinclusa* i *C. campestris*. Ovaj način prenošenja se često koristi u eksperimentalnom radu radi prenošenja virusa kada se isto ne može uraditi mehanički ili metodom kalemljenja. Često se virus ne umnožava u vilinoj kosici, te ona samo predstavlja pasivan “most” između obolele i zdrave biljke (Desjardins et al., 1969). Smatra se da u praksi ovaj način prenošenja virusa nema veliki ekonomski značaj (Hull, 2004).



## *Prenošenje vodom*

Istraživanja prisutva virusnih čestica u vodi za navodnjavanje su dovela do zaključka da je nivo virusnih zaraza navodnjavanih gajenih biljaka u direktnoj vezi sa virusnim česticama koje se nalaze u vodi. Veći broj autora (Horváth et al., 1986; Juretić et al., 1986; Koenig et al. 1986) su dokazali da se u kanalima za navodnjavanje, vodotokovima, kao i u spontanoj vodenoj biljnoj vegetaciji može dokazati prisustvo biljnih virusa. Smatra se da se na ovaj način mogu preneti virusi sa visokom vitalnošću, kao što su virus mozaika duvana i virus zelenog šarenila krastavca - *Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV (Van Dorst, 1961; Nontajak et al., 2014). Zemljišta sa sadržajem gline mogu adsorbovati čestice virusa koje posredstvom vode mogu izvršiti infekciju korena biljaka (Juretić i Horváth, 1991).

## *Prenošenje životinjskim vektorima*

Među vektorima životinjskog porekla značajni su pre svega insekti, grinje i nematode, dok puževi ne predstavljaju ekonomski značajne prenosiocce biljnih virusa. Sarra i Peters (2003) su utvrdili i retke slučajeve prenošenja virusa putem domaćih životinja i glodara, koji su se pokazali kao prenosioci virusa žutog šarenila pirinča (*Rice yellow mottle virus*, RYMV). Vrsta *Oniscus asellus* (mokrica) pripada redu *Isopoda* i opisana je kao mogući vektor virusa mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV), dok su puževi *Lehmania marginata* i *Goniodiscus rotundatus* ponekad vektori virusa mozaika duvana - *Tobacco mosaic virus*, TMV (Borkakati et al., 2009).

## *Prenošenje virusa insektima*

Insekti predstavljaju najznačajnije vektore biljnih virusa. Predstavnici sledećih redova mogu biti vektori: *Collembola* (kolebole), *Orthoptera* (pravokrilci), *Dermaptera* (kožokrilci), *Coleoptera* (tvrdokrilci), *Lepidoptera* (leptiri), *Diptera* (dvokrilci), *Hymenoptera* (opnokrilci), *Thysanoptera* (tripsi), *Heteroptera* (stenice) i *Homoptera* (jednakokrilci).

Mehanizam prenošenja virusa je usko povezan sa načinom ishrane vektora, odnosno građom usnog aparata insekata. Predstavnici redova *Thysanoptera*, *Heteroptera* i *Homoptera* imaju usni aparat za bodenje i sisanje i najefikasniji su u prenošenju virusa, dok vrste iz ostalih navedenih redova imaju usni aparat za grickanje i manje su efikasni kao vektori virusa. Insekti sa usnim aparatom za bodenje i sisanje mogu preneti virus tako što se virusna čestica nakon ishrane na zaraženoj biljci zadržava na površini stileta, te nakon ubadanja zdrave biljke ovi insekti unose čestice u zdravo tkivo. Taj način prenošenja se naziva i mehaničkim prenošenjem, i to je najčešće mehanizam prenošenja i kod insekata sa usnim aparatom za grickanje. Kod vektora sa usnim aparatom za bodenje i sisanje takav način prenošenja se označava i kao neperzistentno prenošenje, pošto virusne čestice kratko "perzistiraju", odnosno opstaju na vektoru, odnosno vektor je kratko vreme infektivan. Kod virusa koji se neperzistentno prenose, za uspešno prenošenje virusa potrebno je da vektor gladaže (3-5 časova) pre prenošenja virusa sa zaražene biljke; dovoljno je da se vektor kratko hrani na zaraženoj biljci (3-5 min), i nema inkubacionog perioda odnosno perioda koji je potreban da prođe od momenta ishrane do momenta kada je insekat sposoban da prenese

virus. Dužina sposobnosti prenošenja virusa od strane vektora kod neperzistentnog prenošenja se kreće od par minuta do nekoliko časova.

Za razliku od mehaničkog, odnosno neperzistentnog prenošenja kod virusa koji se prenose perzistentno nije neophodno gladovanje da bi se uspešno preneo virus; neophodno je da se vektor hrani minimalno 1 h i period inkubacije od nekoliko časova do 10 dana. U slučaju ovog načina prenošenja vektor je istovremeno i domaćin virusa, pošto se virus u njemu umnožava. Virus se održava u vektoru preko 100 časova, može i celog života, a neki virusi se prenose i na potomstvo vektora. U odnosu na neperzistentno-mehaničko prenošenje perzistentno se smatra biološkim ili cirkulativnim prenošenjem virusa.

Kod takozvanog poluperzistentnog prenošenja čestica virusa dospeva u telo vektora, ali se u njemu ne umnožava. Vektor je infektivan 1 do 4 dana (Agrios, 2005).

Dalje podele u odnosu na način i uspešnost prenošenja biljnih virusa putem vektora mogu da se izvrše sa stanovišta specijalizacije vektora i tranzitivnosti (prenošljivosti) virusa.

Sa aspekta specijalizacije postoje vektori koji prenose veliki broj vrsta virusa, te su oni slabo specijalizovani ili polivalentni vektori. Najbolji primer za ove vektore je zelena breskvina vaš *Myzus persicae* koja prenosi preko 50 vrsta virusa. Za razliku od ovog primera stenica *Piesma quadratum* prenosi samo virus kovrdžavosti lista šećerne repe (*Beet leaf curl virus*, BCLV).

Sa aspekta tranzitivnosti virusa možemo izvršiti podelu na biljne viruse koji se prenose se većim brojem vrsta insekata, virus mozaične kržljivosti kukuruza (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV) i virus mozaika soje (*Soybean mosaic virus*, SMV) prenosi veći broj vrsta lisnih vaši. U drugu grupu se mogu svrstati virusi samo sa jednim poznatim vektorom, kao što je virus kovrdžavosti lista šećerne repe. Još uža specijalizacija postoji kod virusa žute patuljavosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV), kod kojeg pojedine vrste lisnih vaši prenose samo određeni soj virusa (Zhang et al., 1983).

Poznavanje načina prenošenja virusa putem vektora pored naučnog ima i veliki praktičan značaj, pošto efekat primene insekticida u sprečavanju virusnih infekcija umnogome zavisi upravo od mehanizma prenošenja virusnih čestica.

### *Značaj proteinskog omotača u prenošenju biljnih virusa insektima*

Sastav i građa proteinskog omotača virusa ima značajnu ulogu u kompleksnom mehanizmu prenošenja virusa od strane vektora, a naročito kod perzistentnog načina prenošenja. Dokazi o značaju proteinskog omotača u "prepoznavanju" virusa se odnose na eksperimentale promene koje su vršene na kapsidu, koje su dovodile ili do gubitka prenošljivosti čestica koje su pre promena bile prenošljive, ili do mogućnosti prenošenja virusa koje vektor pre promena na kapsidu nije mogao da prenese.

Virusa žute patuljavosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV-MAV) se u prirodi ne može preneti lisnom vaši *Rhopalosiphum padi*. Ukoliko se međutim eksperimentalno RNK soja MAV obavije proteinskim omotačem soja RPV, lisna vaš *R. padi* će preneti nukleinsku kiselinu MAV izolata, što je direktan dokaz uloge kapsida u prenošenju virusa (Horváth i Gáborjányi, 1999).

Na površini čestica virusa žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus*, PYDV) se nalaze glikoproteinski izraštaji, koji imaju značajnu ulogu u prenošenju virusa putem cikada (Bandyopadhyay et al., 2010). Eksperimentalno odstranjivanje ovih izraštaja dovodi do gubitka mogućnosti umnožavanja virusa u insektu, ali ne i u biljci. U slučaju

virusa enacijskog mozaika graška (*Pea enation mosaic virus*, PEMV), značajnu ulogu u prenošenju pomoću lisnih vaši ima protein omotača mase 22 kD (Salgueiro i Hull, 1999).

Kod neperzistentnog prenošenja specifičnost virus-vektor nije u toj meri izražena kao kod perzistentnog prenošenja, ali i kod tog načina prenošenja virusni omotač ima značajnu ulogu. Različiti sojevi virusa mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV) imaju različitu uspešnost prenošenja lisnim vašima, što je uslovljeno razlikama u proteinskom omotaču ovih sojeva (Gera et al., 1979). Pomoću kapsida virusa besemenosti paradajza (*Tomato aspermy virus*, TAV) omogućeno je prenošenje lisnim vašima RNK virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*) koji se inače ne prenosi lisnim vašima (Horváth i Gáborjányi, 1999).

### *Značaj Helper-komponente (HC) u prenošenju biljnih virusa insektima*

Od ranije je zapaženo da se pojedini virusi prenose na neperzistentan način samo u slučaju da je u izvoru zaraze prisutan i drugi biljni virus (Hull, 2004). Tako su Kassanis i Goviert (1971) zapazili da se aukuba mozaik virus na krompiru (*Potato aucuba mosaic virus*, PAMV) može preneti samo ukoliko se se vaši hrane na biljkama zaraženim i virusom crtičastog mozaika krompira (*Potato virus Y*, PVY).

Dodatna istraživanja su pokazala da je za prenošenje pojedinih vrsta roda *Potyvirus* potrebno prisustvo nestrukturnog proteina nazvanog helper (pomoćna) komponenta kodiranog od strane genoma drugog (helper) virusa. Prema mišljenju Raccah et al. (2001) helper komponenta obrazuje "most" između virusnog kapsida i stileta lisne vaši.

I u prenošenju drugih virusa helper komponenta ima svoj značaj. Elnagar i Murrant (1976) su utvrdili da virus žutila krasuljice (*Anthriscus yellows virus*, AYV) predstavlja helper komponentu za virus žute pegavosti paštrnaka (*Parsnip yellow fleck virus*, PYFV). Helper komponenta je takođe neophodna u prenošenju virusa mozaika karfiola (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV), pri čemu u kompleksnom sistemu prenošenja značaj imaju dva proteina kodirana na odvojenim otvorenim okvirima čitanja ORF 2 i ORF 3 genoma ovog virusa (Hull, 2004).

### *Prenošenje biljnih virusa lisnim vašima*

Među predstavnicima reda *Homoptera* najznačajiji vektori virusa se nalaze u porodici *Aphididae*, gde pripadaju lisne vaši, a takođe su važne i vrste iz porodica *Cicadellidae*, *Psylloidae*, *Aleurodidae*, *Coccoidae* i *Membracidae*. Insekti iz reda *Homoptera* imaju usni aparat za bodenje i sisanje i mogu prenositi viruse na neperzistentan, poluperzistentan ili perzistentan način. Smatra se da oko 50% biljnih virusa koji se prenose putem vektora prenose upravo lisnim vašima (Hull, 2004). Za blizu 300 predstavnika reda *Homoptera* je poznato da su vektori virusa (Raccah i Fereres, 2009).

Lisne vaši često predstavljaju sponu u prenosu virusa između primarno i sekundarno zaraženih biljaka tokom vegetacije. Neke vrste imaju samo jednu biljku hraniteljku, te prenose biljne viruse unutar jedne biljne vrste, dok druge, kao što je *Myzus persicae* imaju glavne biljke hraniteljke iz roda *Prunus*, ali se hrane na predstavnicima još oko 50 biljnih familija (Hull, 2004). Sposobnost i uspešnost prenošenja virusa zavise od biljne vrste (izvora

zaraze i biljke na koju se virus prenosi), od vrste, stadijuma razvića i klona insekta, od vrste i soja virusa, prisustva ili odsustva helper komponente, dužine ishrane, klimatskog faktora itd.

Prema Raccach i Fereres (2009) lisne vaši na neperzistentan način prenose viruse iz sledećih rodova: *Alfamovirus*, *Carlavirus*, *Caulimovirus*, *Fabavirus*, *Potyvirus* i dr., dok se na perzistentan način prenose predstavnici rodova *Enamovirus*, *Luteovirus* i dr. Prema istom izvoru na poluperzistentan način se prenose predstavnici roda *Sequivirus*. Lisne vaši, kao vektori virusa nanose ogromne ekonomnske štete poljoprivrednoj proizvodnji.

### *Prenošenje biljnih virusa cikadama*

Kao i lisne vaši i cikade, predstavnici familije *Cicadellidae*, prenose viruse na neperzistentan, poluperzistentan ili perzistentan način. Virus kovrdžavosti vrha šećerne repe (*Beet curly top virus*, BCTV) se prenosi cikadom *Circulifer tenellus* u Severnoj Americi, dok se u oblasti Mediterana prenosi vrstom *C. opacipennis*, pri čemu vektori mogu preneti virus i na neperzistentan i na perzistentan način (EPPO, 2015a). Cikada *Graminella nigrifrons* virus hlorotične kržljivosti kukuruza (*Maize chlorotic dwarf virus*, MCDV) prenosi na poluperzistentan način, dok isti vektor virus prugavosti kukuruza (*Maize fine streak virus*, MFSV) prenosi na perzistentan način (Cassone et al., 2014). Cikada *Peregrinus maidis* takođe prenosi virusno oboljenje kukuruza, virus mozaika kukuruza (*Maize mosaic virus*, MMV) na perzistentan način (Whitfield et al., 2011). Prema podacima Horváth i Gáborjányi (1999) virus kržljivosti pirinča (*Rice dwarf virus*, RDV) se umnožava u vektoru *Nephotettix apicalis* i preko ženskih jedinki prenosi i do sedme generacije ovog insekta. Prisustvo virusnih čestica se može dokazati u probavnom traktu, pljuvačnim žlezdama, hemolimfi i genitalnom aparatu ženskih cikada. Prema Hull-u (2004) cikadama se prenose virus iz rodova *Machlomovirus*, *Sequivirus*, *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Marafivirus*, *Phytoreovirus* i dr.

### *Prenošenje biljnih virusa leptirastim vašima*

Leptiraste vaši (porodica *Aleyrodidae*) prenose viruse na perzistentan ili poluperzistentan način. Prema Horváth (1972) ženke insekata efikasnije prenose viruse nego muške jedinke. Ghanim et al. (1998) su utvrdili da leptirasta vaš *Bemisia tabaci* prenosi virus žute kovrdžavosti lišća paradajza (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLVC) i na sledeće generacije insekata preko jajnih legala. Kao i kod lisnih vaši, i kod prenošenja virusa leptirastim vašima je dokazana uloga proteinskog omotača virusa i dodatno kodiranog proteina omotača u mehanizmu prenošenja (Tian et al., 1999).

Leptirastim vašima se prenose pre svega virusi iz rodova *Begomovirus*, *Crinivirus* i pojedine vrste iz roda *Closterovirus*. Prema Menzel et al. (2011) *B. tabaci* prenosi i predstavnika roda *Carlavirus*, virus prosvetljavanja nerava krastavca (*Cucumber vein-clearing virus*, CVYV), dok Navas-Castillo et al. (2011) među viruse koje prenose leptiraste vaši ubrajaju i rodove *Ipomovirus* i *Torradovirus*.

Vrste roda *Begomovirus* se isključivo prenose vektorom *Bemisia tabaci*, dok se vrste iz roda *Crinivirus* i *Closterovirus* prenose sa *Trialeurodes vaporariorum*, *T. abutilonea*, *Bemisia tabaci* i *Bemisia argentifolia* (Hull, 2004).

Bela leptirasta vaš *T. vaporariorum* svojom ishranom i vektorskom ulogom prouzrokuje velike ekonomske gubitke u proizvodnji u zaštićenom prostoru (Wintermantel, 2004), pošto ima širok krug domaćina i prenosi viruse na više od 14 porodica biljaka –

(*Asteraceae*, *Cucurbitaceae*, *Malvaceae*, *Solanaceae* i dr.). Usled globalnih klimatskih promena štete postaju sve značajnije i u proizvodnji na otvorenom polju.

### *Prenošenje biljnih virusa tripsima*

Unutar reda *Thysanoptera* od oko 5000 vrsta samo 10 prenosi viruse. Među njima najznačajniji su insekti iz roda *Thrips* i roda *Frankliniella*. Viruse u većini slučajeva prenose na perzistentan način, pri čemu se virusi umnožavaju u telu vektora (Horváth i Gaborjányi, 1999). Ovi insekti su polifagni, imaju veći broj generacija godišnje, a odrasle jedinke aktivno lete, što sve doprinosi značajnom rasprostranjenju virusa koje prenose, a koji imaju širok krug domaćina. Širenje virusa iz rodova *Ilarvirus*, *Sobemovirus* i *Carmovirus* tripsi vrše putem mehaničkog prenošenja zaraženog polena, dok viruse iz roda *Tospovirus* prenose na perzistentan način. Među najštetnije viruse u Srbiji koje prenose tripsi spada virus bronzavosti paradajza - *Tomato spotted wilt virus*, TSWV (Krstić et al., 2007; Stanković et al., 2011b; Bulajić et al., 2013), a sve značajniji su i virus žute pegavosti irisa - *Iris yellow spot virus*, IYSV (Bulajić et al., 2009; Bulajić et al., 2012), kao i virus nekrotične pegavosti *Impatiens-a* – *Impatient necrotic spot virus*, INSV (Krstić et al., 2005). Unutar roda *Thrips* najznačajniji vektor je vrsta *T. tabaci*, a unutar roda *Frankliniella* vrste *F. occidentalis*, *F. fusca* i *F. schultzei*. Virus u telo insekta dospeva tokom prvog larvenog stadijuma, a u širenju virusa na zdrave biljke najznačajnije su krilate odrasle jedinke (Hull, 2004). Kikkert et al. (1998) su utvrdili da u mehanizmu prenošenja virusa bronzavosti paradajza od strane *F. occidentalis* i *T. tabaci* značajnu ulogu ima protein od 94 kDa, koji se vezuje za glikoprotein na površini virusne čestice. Taj protein nije utvrđen kod lisne vaši *Myzus persicae*, sa kojim ni eksperimentalno nisu uspeli preneti ovaj virus.

### *Prenošenje biljnih virusa štitastim vašima*

Štitaste vaši su daleko manje značajni vektori virusa od do sada pomenutih insekatskih grupa, što proizilazi iz njihove znatno manje pokretljivosti. One prenose virus puzanjem sa zaraženih na zdrave biljke, a njihovoj pokretljivosti mogu doprineti i mravi (Sether et al., 1998). Putem štitastih vaši se prenose virusi koji prouzrokuju ogromne štete na kakaovcu (Roivainen, 1976). Ovim vektorima se šire i virusi iz kompleksa virusa uvijenosti lišća vinove loze - *Grapevine leafroll-associated viruses*-GLRaVs (Tsai et al., 2010). Sether et al. (1998) navode da se virus uvijenosti lišća vinove loze *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) prenosi vektorom *Planococcus citri* na poluperzistentan način. Prema Hull-u (2004) štitaste vaši prenose veći broj virusa iz rodova *Badnavirus*, *Closterovirus* i *Trichovirus*.

### *Prenošenje biljnih virusa stenicama*

Za stenicu *Piesma quadratum* je utvrđeno da je vektor virusa uvijenosti lišća šećerne repe- *Beet leaf curl virus* – BLCV (Proeseler, 1980). Virus se prenosi na perzistentan način. Larve tokom ishrane unose u telo čestice virusa, ali nisu sposobne za prenošenje. Virus se zadržava u telu insekta nakon presvlačenja i umnožava se u njemu. Odrasle jedinke nakon prezimljavanja su najefikasnije u prenošenju i širenju virusa. Virus se ne prenosi na

potomstvo vektora. Prema istraživanjima sprovedenim u Letoniji (Turka, 1978) stenica *Lygus rugulipennis* je u eksperimentalnim uslovima prenela virus uvijenosti lišća krompira (*Potato leafroll virus*, PLRV) i M virus krompira (*Potato virus M*, PVM).

### *Prenošenje biljnih virusa tvrdokrilcima*

Među tvrdokrilcima se kao vektori ističu predstavnici familije buba zlatica (*Chysomelidae*), a navode se i žišci (*Bruchidae*) i surlaši (*Curculionidae*). Tvrdokrilci najčešće prenose viruse koji se u tkivima nalaze u visokim koncentracijama, koji se mogu mehanički prenositi i koji poseduju visoku antigenost. Vreme zadržavanja virusa u tvrdokrilcima se kreće između jednog i deset dana. Do prenošenja dolazi u slučaju da se insekat prvo hrani na zaraženoj, a nakon toga na zdravoj biljci. Nema dokaza o postojanju latentnog perioda nakon ishrane na zaraženoj biljci, niti o umnožavanju virusa u vektoru. Mabry et al. (2003) su utvrdili da su tvrdokrilci *Cerotoma trifurcate* i *Diabrotica virgifera* odgovorni za prenošenje virusa šarenila mahuna pasulja - *Bean pod mottle virus* (BPMV) u usevu soje. Langham et al. (1997) su dokazali da tvrdokrilac *Diabrotica barberi* može da prenese virus mozaika tikve (*Squash mosaic virus*, SqMV).

### *Prenošenje biljnih virusa dvokrilcima*

Dvokrilci nisu značajni prenosioci biljnih virusa. Hull (2004) navodi da larve pojedinih dvokrilaca prilikom ishrane mogu preneti virus, dok Horváth i Gáborjányi (1999) iznose da ženke insekata svojim aparatom za polaganje jaja-legalicom mogu preneti viruse. Costa et al. (1958) navode da vrsta *Liriomyza langei* može preneti virus mozaika pepeljuge (*Sowbane mosaic virus*, SoMV), i virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV). Muva *Phytomyza rufipes* može preneti virus kovrdžavosti postrne repe - *Turnip crinkle virus*, TCV (Srivastava i Singh, 1997).

### *Prenošenje biljnih virusa pravokrilcima*

Prema Walters-u (1952) skakavac *Melanoplus difierentialis* može preneti X virus krompira (*Potato virus X*), a vrste *Leptophyes punctatissima* i *Chorthippus bicolor* prenose virus žutog mozaika postrne repe - *Turnip yellow mosaic virus*, TYMV (Carter, 1973). Prenošenje je mehaničko, pri čemu se čestice virusa zadržavaju na usnom aparatu za grickanje.

### *Prenošenje biljnih virusa drugim insektima*

Gusenice velikog kupusara (*Pieris brassicae*) su opisane kao vektori virusa kovrdžavosti postrne repe (*Turnip crinkle virus*, TCV), a uholoža *Forficura auricularia* virusa žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic*, TYMV).

## Prenošenje biljnih virusa nematodama

Nematode, vektori virusa pripadaju porodicama *Longidoridae* i *Trichodoridae*. Unutar porodice *Longidoridae* su kao vektori značajne vrste iz rodova *Xiphinema*, *Longidorus* i *Paratrachodoros*. Ove nematode prenose izometrijske, odnosno poliedarne viruse, koju su označeni kao NEPO virusi, i svrstani su u rod *Nepovirus*. Među najznačajnijim virusima koji se prenose nematodama iz ove grupe navode se virus prstenaste pegavosti duvana (*Tobacco ringspot virus*, TRSV), virus prstenaste pegavosti paradajza (*Tomato ringspot virus*, ToRSV), virus prstenaste pegavosti maline (*Raspberry ringspot virus*, RRSV), virus crne prstenaste pegavosti paradajza (*Tomato black ring virus*, TBRV), virus uvijenosti lista trešnje (*Cherry leafroll virus*, CLRV), virus mozaika ovasika (*Brome mosaic virus*, BMV) i virus infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV).

Predstavnici porodice *Trichodoridae* prenose anizometrijske, odnosno tubularne viruse koji se navode kao NETU virusi. U ovoj porodici su kao vektori značajne vrste iz rodova *Trichodorus* i *Paratrachodoros*. Virusi koje prenose ovi vektori spadaju u rod *Tobravirus*, među kojima je najznačajniji virus šuštavosti duvana (*Tobacco rattle virus*, TRV), a u ovu grupu spadaju i virus rane nekroze graška (*Pea early-browning virus*, PEBV) i virus prstenaste pegavosti paprike -*Pepper ringspot virus*, PepRSV (Adams i Antoniw, 2005).

Kao i kod insekata i prenošenje virusa putem nematoda se odvija u fazama koje podrazumevaju usvajanje čestica virusa od strane vektora, zadržavanje virusa u vektoru i unošenje virusa u biljku. Wang et al. (2002) su utvrdili da se različiti virusi zadržavaju u različitim delovima probavnog trakta nematoda. U mehanizmu prenošenja virusa od strane vektora značajnu ulogu imaju nestrukturani proteini koji su kodirani od strane genoma virusa (Horváth i Gáborjányi, 1999). Virus prstenaste pegavosti duvana (*Tobacco ringspot virus*, TRSV) ima višedelni genom u kojem je RNK 1 odgovorna za replikaciju i širenja virusa iz ćelije u ćeliju, dok je kraća RNK 2 odgovorna za sintezu proteinskog omotača. Hernandez et al. (1997a) su utvrdili da se gen odgovoran za stvaranje nestrukturnog proteina, a koji ima funkciju u prenošenju virusa putem nematode *Paratrachodoros pachydermus* nalazi takođe na RNK 2. Visser i Bol (1999) smatraju da RNK 2 kodira dva nestrukturna proteina, pri čemu je protein od 40 kDa odgovoran za prenošenje virusa od strane *P. pachydermus*, a protein od 32,8 kDa za prenošenje drugim vrstama nematoda. Brown i Trudgill (1988) su utvrdili da pojedine serotipove virusa šuštavosti duvana (*Tobacco rattle virus*, TRV) i virusa rane nekroze graška (*Pea early-browning virus*, PEBV) prenose samo pojedine vrste nematoda roda *Trichodorus* i *Paratrachodoros*.

## Prenošenje biljnih virusa grinjama

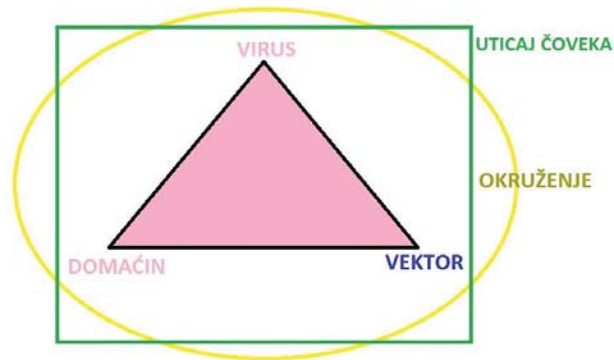
Grinje iz familija *Eriophyidae* i *Tetranychidae* mogu biti vektori biljnih virusa. Ove artropode malih dimenzija imaju ograničenu sposobnost kretanja, ali se na veće udaljenosti mogu preneti vazдушnim strujanjima. Viruse prenose jedinke u različitim stadijumima razvicia putem ishrane, pošto se hrane biljnim sokovima na naličju listova. Grinja *Aceria tulipae* pripada familiji *Eriophyidae* i prenosi virus crtičastog mozaika pšenice (*Wheat streak mosaic virus*, WSMV). Vektor virusa je i *Aceria toshicella* koja je svoje ime dobila po našem poznatom virusologu sa Beogradskog Univerziteta, profesoru Mališi Tošiću, koji ju je prvi

opisao kao vektora virusa u Srbiji (Tošić, 1971). Ovi vektori virus prenose na neperzistentan način, pri čemu je potrebno da se na zaraženoj, a nakon toga i na zdravoj biljci hrane tokom 15 minuta. Grinje zadržavaju infektivnost i nakon presvlačenja. Oldfield et al. (1995) navode grinju *Eriophyes insidiosus* kao vektora virusa mozaika breskve (*Peach mosaic virus*, PcMV).

Grinja *Petrobia latens* pripada familiji *Tetranychidae* opisana je kao vektor virusa žutog crtičastog mozaika ječma -*Barley yellow streak mosaic virus*, BaYSMV (Smidansky i Carroll, 1996).

### *Uticaj ekoloških činilaca na epidemiologiju biljnih virusa*

Komponente epidemiologije biljnih virusa se mogu prikazati fitopatološkim trouglom koju čine biljka domaćin, fitopatogeni virus i vektor. Sve tri komponente se nalaze u okruženju životne sredine, pri čemu je u agroekosistemu značajan činilac i aktivnost čoveka (Slika X.1.).



Slika X.1. Šematski prikaz faktora koji utiču na epidemiologiju biljnih virusa

U poglavlju ove knjige u kojem je obrađen ekonomski značaj biljnih viroza su već izneti pojedini činilci koji utiču na visinu mogućih šteta izazvanih infekcijom biljnih virusa, a koji su direktno povezani sa epidemiologijom biljnih virusa, te će se u ovom delu naglasak biti na ekološkim činilcima koji utiču na epidemiologiju biljnih virusa.

### *Uticaj temperature na epidemiologiju biljnih virusa*

Temperaturni uslovi su veoma važan faktor u epidemiologiji biljnih virusa, pošto na neposredan način utiču na viruse, njihove vektore, kao i na biljku domaćina (Šutić, 1994).

Povećanje temperature do određene vrednosti pozitivno utiče na intenzitet umnožavanja čestica virusa u biljnom tkivu, dok se daljim povećanjem umnožavanje usporava i prestaje. Harrison (2008a) je kod virusa nekroze duvana iz Rothamsteda



(*Rothamsted tobacco necrosis virus*, RTNV) utvrdio da se ova granična vrednost nalazi na 22 °C. Tri dana nakon inokulacije u biljkama držanim na ovoj temperaturi je bilo tri puta više virusnih čestica nego u biljkama čuvanim na temperaturama od 10 °C, odnosno 30 °C. Na ovim temperaturama je i broj nekrotičnih pega bio manji na inokulisanim listovima duvana nego na 22 °C. Do sličnih rezultata su došli i Glasa et al. (2003) koji su ispitali uticaj temperature na infekciju sa pet izolata virusa šarke šljive (*Plum pox virus*, PPV). Na temperaturi od 17 °C nije bilo ispoljavanja razlike u stepenu infektivnosti izolata, dok je temperatura od 32 °C bila inhibitorna kod svih izolata. Na temperaturi od 30 °C su se razlike u infektivnosti izolata jasno ispoljile. Ovi autori navode da povećanje temperature iznad optimalne vrednosti utiče na smanjenje kretanja virusa iz ćelije u ćeliju, a takođe i na stepen umnožavanja u ćelijama. Šutić (1994) navodi da je za više virusa utvrđena optimalna temperatura za umnožavanje, koja se kreće između 20 i 28 °C. Povećanje temperature takođe može uticati na izostajanje ispoljavanja efekta pojedinih gena virusa, što rezultira ispoljavanjem različitih, odnosno drugačijih simptoma na biljci domaćinu (Chellappan et al., 2005).

Držanje biljaka na povišenim temperaturama od 36 °C i u tami pre inokulacije povećava njihovu osetljivost prema virusima (Krstić i Tošić, 1994). Povećanje ili smanjenje temperature može uticati na stepen otpornosti gajenih biljaka prema virusima (Schuerger i Hammer, 1995; Mansky et al., 1991). Termoterapija predstavlja postupak za dobijanje bezvirusnog sadnog materijala, o čemu će biti više reči u poglavlju o merama zaštite protiv biljnih virusa.

Pored uticaja na viruse i na biljke domaćine, temperature u značajnoj meri utiču na aktivnost vektora. Virus žute patuljavosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV) prouzrokuje veće štete na ozimim strnim žitima u slučaju viših prosečnih temperatura u periodu nakon nicanja useva do momenta nastupanja mrazeva. Za razliku od ovog primera, povišene temperature od 36 °C sprečavaju umnožavanje virusa hrapave krzljivosti kukuruza (*Maize rough dwarf virus*, MRDV) u vektoru cikadi (Klein i Harpaz, 1970). Slični primeri uticaja temperature se mogu navesti i u slučaju drugih vektora biljnih virusa- nematoda, grinja, tripsa, itd.

Globalne klimatske promene, koje podrazumevaju i porast prosečnih temperatura značajno su uticale na promene u pogledu značaja pojedinih biljnih virusa. Virusi, kao što su predstavnici rodova *Tospovirus* i *Begomovirus* i drugih usled klimatskih promena dobijaju sve veći značaj (Varma i Malathi, 2003; Pappu et al., 2009).

### *Uticaj vlažnosti na epidemiologiju biljnih virusa*

Kao komponente vlažnosti i njihovog uticaja na viruse podrazumevaju se količine, vrste i raspored padavina tokom godine, vrsta i količina navodnjavanja, vlažnost-saturacija zemljišta vlagom, postojanje slobodne vode u zemljištu i relativna vlažnost vazduha. Svi ovi vidovi vlažnosti su u direktnoj korelaciji sa ulovima koji pogoduju ili nisu pogodni za razmnožavanje i širenje vektora virusa. Zoospore vektora *Polymyxa betae* mogu preneti virus nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYSV) samo u slučaju postojanja vode, te se rizomanija javlja pre svega na onim delovima parcele na kojima se voda duže zadržava. Vlažnost i tip zemljišta neposredno utiču na preživljavanje vektora- nematode *Xiphinema index* (Sultan i Ferris, 1991). U pogledu van Gessel i Coble-a (1993) je utvrđeno da se različit sadržaj vlage i azota u zemljištu različito odrazio na

parametre prinosa kukuruza zaraženog virusom mozaične kržljivosti kukuruza (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV).

Kao što je već u ranijem tekstu navedeno, vodom za navodnjavanje se mogu prenositi virusi sa visokom postojanošću. Sether i Hu (2001) su dokazali aditivni negativni efekat izostatka navodnjavanja i virusne zaraze na prinos ananasa.

Jake kiše mogu uticati na spiranje kolonija lisnih vaši i smanjenje brojnosti vektora (Vetten i Allen, 1983), dok grad prouzrokuje oštećenja preko kojih može doći do infekcije biljnim virusima. Visoka relativna vlažnost vazduha i visoke temperature u proizvodnji u zatvorenom prostoru odgovaraju razmnožavanju tripsa i leptirastih vaši, odnosno vektorima biljnih virusa.

### *Uticaj vetra na epidemiologiju biljnih virusa*

Vetar u značajnoj meri utiče ne samo na razdaljinu prenošenja vektora, nego i na pravac širenja insekata, a samim tim i virusnih infekcija. Pomoću vetra lisne vaši i cikade lete na veće udaljenosti (Thackray et al., 2004), a vetar može prenositi i grinje. Prema Šutiću (1994) vaši na ovaj način mogu prevaliti i do 60, a grinje na desetine kilometara.

Pored uticaja na širenje vektora, vetar dovodi do neposrednog dodirivanja zaraženih i zdravih biljaka i omogućava mehaničko prenošenje virusa. Sarra et al. (2004) navode da je vetar bio prvobitni razlog širenja virusa žutog šarenila pirinča (*Rice yellow mottle virus*, RYMV). Na ovaj način se može širiti i virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV). Olujni vetrovi mogu prouzrokovati povrede na biljkama, preko kojih se mogu izvršiti infekcije.

### *Uticaj zemljišta i ishrane biljaka na epidemiologiju biljnih virusa*

Zemljište sa svojim karakteristikama- građom, granulometrijom, sastavom, pH vrednošću, i drugim svojstvima omogućava ili onemogućava uslove za život vektora- nematoda, gljiva i gljivolikih organizama. Širenju virusa nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYYV) odgovaraju pre svega blago kisela zemljišta, pošto se vektor virusa *Polymyxa betae* održava i širi upravo u takvim uslovima. Uslovi zemljišta znatno deluju na prenošenje virusa infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV) od strane nematode *Xiphinema index* (van Zyl et al., 2012). Od uslova zemljišta zavisi i dužina održavanja virusa mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) u zaraženim biljnim ostacima.

Prema Pennazio i Roggero-u (1997) mineralna ishrana biljaka ima značajnu ulogu u patofiziološkim procesima. Uticaj mineralne ishrane na virusne infekcije je relativno malo istražena oblast usled eksperimentalnih poteškoća, a rezultati često ne dovode do jasnih zaključaka. Generalno se smatra da plodna zemljišta povećavaju mogućnost virusnih infekcija biljaka u odnosu na zemljišta koja su siromašna u hranljivim sastojcima (Šutić, 1994; Hull, 2004). Broadbent et al. (1952) su utvrdili da đubrenje stajnjakom povećava osetljivost krompira prema virusu uvijenosti lišća krompira (*Potato leafroll virus*, PLRV). Biljke koje su bolje ishranjene su privlačnije za vektore, koji se na njima brže razmnožavaju. Prema Singh i Singh-u (1972) koncentracija X virusa krompira (*Potato virus X*, PVX) i porast biljaka se ravnomerno povećavaju sa povećavanjem koncentracije magnezijuma do 125 ppm, a nakon toga se vrednost oba parametra smanjuje.

## *Uticaj svetlosti na epidemiologiju biljnih virusa*

Već je ranije napomenuto da držanje biljaka u određenom periodu u mraku i na povišenim temperaturama utiče na povećanje osetljivosti biljaka prema virusima i veću uspešnost veštačkih inokulacija (Krstić i Tošić, 1994). Svetlost na virusne infekcije i ispoljavanje simptoma utiče svojom jačinom, trajanjem i talasnom dužinom. Pošto je za fotosintezu neophodna svetlost, smatra se da ona povoljno utiče i na umnožavanje virusa.

Funoyama et al. (2001) su utvrdili različit stepen šteta prouzrokovanih virusnim infekcijama na biljkama *Eupatorium makinoi* (familija *Asteraceae*) kada su biljke bile na svetlu u odnosu na one koje su se nalazile u senci. Do bržeg prestanka cvetanja i izumiranja je došlo na biljkama držanih u senci. Coast i Chant (1970) su dokazali da svetlost iz različitih delova spektra različito utiče na osetljivost duvana prema virusu mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV). Biljke su imale smanjenu osetljivost prema ovom virusu kada su pre inokulacije osvetljene delom plavog ili crvenog spektra, u odnosu na bilje zračene sa zelenim delom spektra svetlosti. Helms et al. (1987) i Balachandran et al. (1994) su utvrdili da biljke reaguju različitim simptomima u slučaju različitih svetlosnih režima.

Svetlost na virusne infekcije utiče i na posredan način, preko uticaja na životne cikluse vektora virusa.

## XI NOMENKLATURA I KLASIFIKACIJA BILJNIH VIRUSA (BAGI, F.)

### *Istorijski pregled nomenklature i klasifikacije*

Iako je virusologija mlada naučna disciplina, nomenklatura i klasifikacija virusa je tokom vremena pretrpela veliki broj izmena. Novi predlozi su predstavljali logičan sled razvoja nauke, a istovremeno i usavršavanja tehnika izučavanja virusa.

U ranijim poglavljima ovog udžbenika je već istaknuto, da se pojedini virusi umnožavaju i u biljkama, i u njihovim vektorima životinjskog porekla, te sa naučnog stanovišta nije opravdana podela virusa u zavisnosti od organizma koje parazitiraju: biljke, životinje, ljude, insekte, bakterije, gljive, alge, fitoplazme (Horváth i Gáborjányi, 1999). I pored toga, radi veće preglednosti prouzrokovaca oboljenja u oblastima humane medicine, veterine, pa i fitopatologije, obrađuje se nomenklatura i sistematika virusa unutar ovih naučnih disciplina.

Nomenklatura i klasifikacija virusa se može posmatrati po pojedinim fazama razvoja proučavanja virusa. Prednaučna faza se odnosi na period od kraja XIX veka do početka XX veka. Tada su opisivani simptomi viroza biljaka, a Mayer i Ivanovski su odvojenim radom dokazali infektivnu prirodu mozaika na duvanu. Beijerinck i Bayer su 1904. prvi put uveli i termin "*virus*". Imena pojedinim virusima su dodeljivana na osnovu imena biljke na kojoj su opisani, kao i na osnovu simptoma koju prouzrokuju. Već 30-tih godina XX veka se znalo da postoje sojevi virusa, da različiti virusi mogu prouzrokovati veoma slične simptome i da se u nekim slučajevima virusi mogu javiti u mešanim infekcijama (Hull, 2004). U ovoj fazi su se u istim grupama nalazili virusi za koje se danas zna da su po svojim osobinama sistematski udaljeni. Tako se u grupu virusa koji prouzrokuju tip simptoma mozaik svrstali i virus mozaika duvana i virus mozaika karfiola.

U narednoj fazi je Johnson uvideo da nije dovoljno kao kriterijume uzeti u obzir biljku domaćina i simptome. Johnson (1927, loc. cit Šutić, 1994) je označavao vrste virusa engleskim nazivima uz dodatak arapskih cifara, koje označavaju redosled virusa na istom domaćinu (Tobacco virus 1 - virus mozaika duvana)

Johnson i Hoggan su nekoliko godina kasnije (1935) predložili klasifikaciju koja se zasniva na sledećim karakteristikama virusa: način prenošenja, prirodni i eksperimentalni domaćini, dužina postojanosti „*in vitro*“, termalna tačka inaktivacije i specifični simptomi koje virus prouzrokuje (loc. cit Hull, 2004). Smith (1937) je predložio grupisanje svih virusa u 51 grupu, pri čemu zamenjuje engleske latinskim nazivima (napr. Za virus mozaika duvana *Nicotiana virus 1*). Bennet (1939) brojeve zamenjuje latinskim izrazom kojim se opisuje određena karakteristika virusa. Tako po njegovoj klasifikaciji *Nicotiana virus 1*, zbog svoje visoke termalne tačke inaktivacije dobija ime *Nicotiana virus altathermus*.

U narednom periodu Holmes (1939) izrađuje sistem koji je u skladu sa binarnom nomenklaturom, odnosno uvodi latinske nazive za rodove i vrste virusa. Viruse koji prouzrokuju mozaik svrstava u rod *Marmor*, pa tako virus mozaika duvana dobija ime *Marmor tabaci*. Usled baziranja pre svega na simptomima, i u ovoj nomenklaturi su virusi različitih karakteristika svrstani u isti rod *Marmor*.

Bawden (1950) je među prvima izneo mišljenje da se klasifikacija virusa mora zasnovati na karakteristikama samih čestica, a Brandes i Bercks (1965, loc. cit. Hull, 2004) su anizometrijske viruse podelili u šest grupa, koje su nazvali prema predstavnicima grupa: tobacco rattle virus grupa, tobacco mosaic virus grupa, grupa X virusa krompira, grupa S virusa krompira, grupa Y virusa krompira i beet yellows virus grupa.

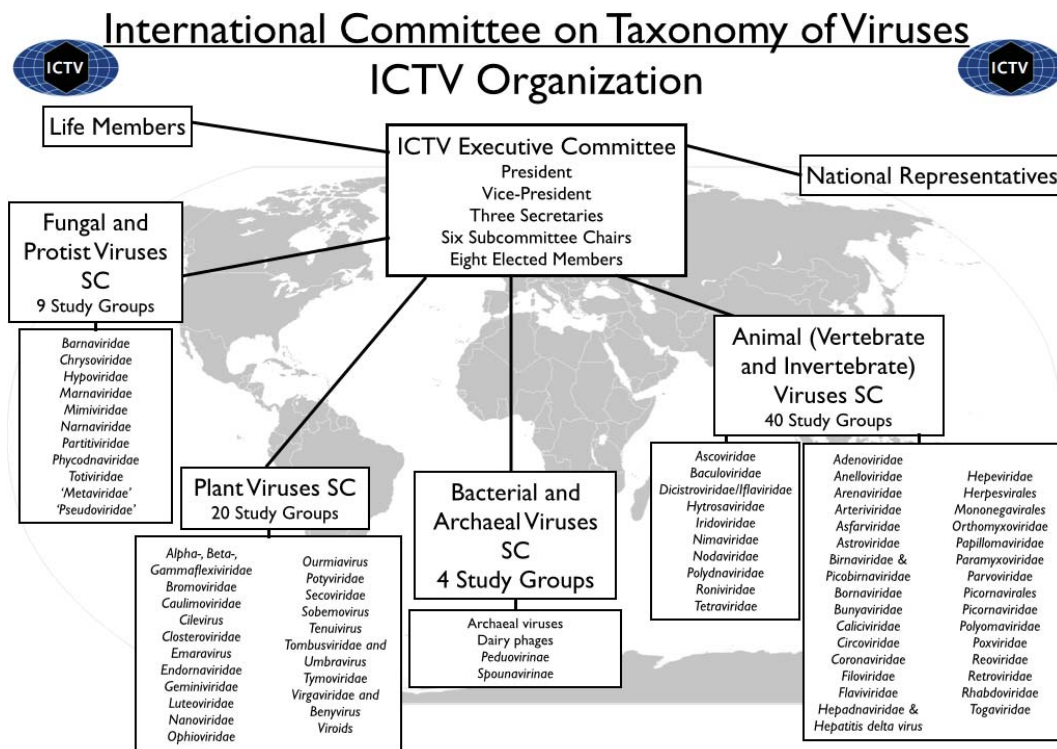
Sledeću fazu klasifikacije karakteriše takozvani LHT sistem, koji je dobio ime po svojim tvorcima, naučnicima Lwof, Horne i Tournier-u (1962). Svoju klasifikaciju su bazirali na četiri osobine virusa: tip genoma, simetrija viriona, da li nukleokapsid ima dodatni omotač, dimenzije nukleokapsida i broj kapsomera.

Klasifikacija koju su razvili Gibbs, Harrison, Watson i Wildy (1966) se naziva i VAC sistem (Vernacular And Cryptogram). Ovi autori su smatrali da u nedostatku dovoljnih informacija o osobinama za razlikovanje virusa, u klasifikaciji se treba bazirati na sličnostima koje se poznaju. Virusi se označavaju imenima bolesti koje prouzrokuju uz dodatak kriptograma koji opisuje virus. Kriptogram je predstavljen sa četiri para simbola u vidu razlomka, gde brojevi i slova označavaju poznate osobine virusa. Tako prvi par označava tip genoma (brojitelj i broj spirala koje čine genom -imenitelj). U brojitelju se nalaze slova R- ribonukleinska kiselina ili D- dezoksiribonukleinska kiselina, a u imenitelju brojevi 1 ili 2 koji označavaju broj spirala u nukleinskoj kiselini. Drugi par govori o molekulskoj masi u milionima daltona (brojitelj) i procentu njene zastupljenosti u čestici (imentitelj), i izražen je brojevima. Treći par predstavlja oblik virusne čestice i to imenitelj oblik nukleokapsida, a brojitelj spoljni izgled virusa, gde E označava izdužena čestica, a oznaka S izometrijska. Četvrti par simbola označava domaćina virusa – brojitelj (S-cvetnice, D – bakterije, itd), a imenitelj vektora virusa (O-nema vektora, Ap- lisne vaši, Ne – nematode, Fu – gljive, itd.). Znak \* se stavlja ukoliko je neka od osobina virusa još nepoznata. Tako se virus mozaika duvana označava kao *Tobacco mosaic virus* R/1: 2/5: E/E: S/O (Fenner i Gibbs, 1983; Šutić, 1994).

### *Međunarodni komitet za taksonomiju virusa – ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses)*

Iako začetak ove organizacije datira još iz 1966. godine, kada je u Moskvi održan Međunarodni Kongres Mikrobiologa, Međunarodni komitet za taksonomiju virusa (ICTV) je zvanično ustanovljen 1973. godine (internet stranica <http://www.ictvonline.org/>).

U trenutku pisanja ovog udžbenika glavno telo ICTV je Izvršni odbor ICTV koji pored rukovodećeg osoblja ove organizacije, odnosno predsednika i podpredsednika uključuje i šest Pododbora i osam biranih članova (Slika XI.1.).



Slika XI.1. Organizaciona šema Međunarodnog komiteta za taksonomiju virusa (ICTV) (<http://www.ictvonline.org>)

Pododbori upravljaju većim brojem radnih grupa koje vrše preporuke za izmene taksonomije na osnovu novih saznanja o virusima. Osam biranih članova takođe pomažu pododborima u promeni važeće taksonomije.

Od šest pododborova po jedan se bavi virusima algi i gljiva, biljnim virusima, virusima beskičmenjaka, prokariota i kičmenjaka. Šesti pododbor je zadužen za održavanje baze podataka i internet stranice ICTV. Komitet ima ukupno 76 radnih grupa koji izučavaju glavne familije i rodove virusa, odnosno obrađuju i diskutuju o novim predlozima u taksonomiji virusa.

Zadaci ICTV prema njegovom statutu su sledeći:

- da pripremi međunarodno prihvaćenu taksonomiju virusa
- da definiše međunarodno prihvaćena imena u taksonomiji virusa
- da u vezi promena u taksonomiji komunicira sa međunarodnom naučnom zajednicom virusologa
- da održava bazu podataka – indeks imena u taksonomiji virusa

ICTV u okvirno petogodišnjim intervalima izdaje Izveštaj ICTV koji objedinjuje trenutnu taksonomiju virusa. Zadnje izdanje je publikovano 2012 godine (ICTV, 2012). U periodu između dva Izveštaja elektronski se publikuje "Master Species" liste sa najnovijim izmenama Komiteta, koji su dostupni preko internet stranice ICTV (ICTV, 2015).

## *Kriterijumi za klasifikaciju virusa*

Brzim razvojem molekularne biologije došlo je do ogromnog povećanja informacija o kompletnim nukletidnim sekvencama za mnoge viruse, kao i o funkcijama pojedinačnih gena u genomu virusa. Bez obzira na ova saznanja, Hull (2004) smatra da će karakteristike biljnih virusa, kao što je prouzrokovanje određenog tipa simptoma ostati značajne u klasifikaciji, čak i nakon što se odredi specifičan raspored nukleotida u genomu većine virusa.

Savremena taksonomija virusa se prema Murphy et al. (1995, loc. cit Horváth i Gáborjányi, 1999) zasniva na četiri glavna kriterijuma: tip genoma virusa; broj spirala u genomu; mogućnost reversne transkripcije; i polaritet genoma virusa.

Sneath (1962) i Hull (2004) su takođe u četiri grupe svrstali osobine koje imaju značaj u klasifikaciji virusa: karakteristike viriona; organizacija genoma i umnožavanje; antigena svojstva; biološke karakteristike, ali su unutar ovih glavnih osobina specificirali dalje karakteristike koje mogu imati značaja u klasifikaciji:

1. Karakteristike viriona
  - a. Morfologija viriona
    - i. Dimenzije
    - ii. Oblik
    - iii. Prisustvo ili odsustvo omotača
    - iv. Simetrija kapsida i struktura
  - b. Fizičke karakteristike viriona
    - i. Molekulska masa
    - ii. Gustina sloja virusa u tečnosti
    - iii. Koeficijent sedimentacije
    - iv. pH stabilnost
    - v. Termalna stabilnost
    - vi. Stabilnost na katjone ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ )
    - vii. Stabilnost rastvora
    - viii. Stabilnost na detedžente
    - ix. Stabilnost na radijaciju
  - c. Karakteristike genoma
  - d. Karakteristike proteina
  - e. Lipidi
  - f. Ugljeni hidrati
2. Organizacija genoma i umnožavanje
  - a. Organizacija genoma
  - b. Strategija umnožavanja nukleinske kiseline
  - c. Način transkripcije
  - d. Način translacije
  - e. Mesto akumulacije proteina virusa, mesto sklapanja virusne čestice, mesto oslobađanja čestica
  - f. Citopatologija, formiranje ćelijskih inkluzija
3. Antigena svojstva
  - a. Serološka srodnost
  - b. Mapiranje epitopa

4. Biološke karakteristike
  - a. Krug domaćina, prirodni i eksperimentalni domaćini
  - b. Patogenost
  - c. Tropizam tkiva, patologija i histopatologija
  - d. Način prenošenja u prirodnim uslovima
  - e. Odnos sa vektorom
  - f. Geografska rasprostranjenost

### *Principi i pravila nomenklature i klasifikacije virusa*

Nomenklatura virusa je nezavisna od Međunarodne Binarne Nomenklature (BioCode). Osnovni principi nomenklature virusa po ICTV su davanje imena taksonima koja su dugoročna i održiva, izbegavanje davanja imena koja mogu dovesti do grešaka i zabuna, kao i izbegavanje dodavanja nepotrebnih, odnosno suvišnih taksona. Prilikom davanja imena taksona bitna je pre svega karakteristika samog taksona, a u drugom planu je istorijat datog taksona. Ime taksona nije zvanično sve do odobravanja od strane ICTV.

Pravilo je da je klasifikacija i nomenklatura virusa univerzalna i odnosi se na sve viruse. U hierarhijskom redosledu postoje sledeće taksonomske jedinice: red, familija, podfamilija, rod i vrsta. ICTV nije odgovoran za klasifikaciju i nomenklaturu ispod nivoa vrste, odnosno ne vrši podelu na serotipove, genotipove, sojeve, varijante i izolate. Ovim podelama bave se pojedine priznate specijalističke grupe virusologa.

Virusi stvoreni u laboratoriji se ne uzimaju u razmatranje od strane ICTV. Nova taksonomska jedinica se ustanovljava samo ako je dovoljno okarakterisana i ukoliko se dovoljno razlikuje od druge, njoj bliske taksonomske jedinice. Ime taksona mora da se uklapa u hijerarhijski redosled taksona, pri čemu ime osobe (naučnika) ne može poslužiti kao osnova. U imenu taksona ne smeju se pojavljivati slova koja ne postoje u latinskom pismu.

Pododbori podnose predloge Izvršnom odboru o promenama u nomenklaturi i taksonomiji, koji donosi odluke.

### *Red virusa*

Red virusa predstavlja grupu familija sa zajedničkim karakteristikama. Ime reda se sastoji od jedne reči sa nastavkom -virales.

Zajedničke karakteristike familija koje ulaze u sastav reda uključuju: biohemijski sastav, strategiju umnožavanja čestica, građu čestica (samo glavne karakteristike) i uopštenu organizaciju genoma (Fauquet, 1999; Hull, 2004).

### *Familija virusa*

Familija je skup rodova virusa sa zajedničkim karakteristikama, koji mogu, ali ne moraju biti svrstani u podfamilije. Može se sastojati i samo od jednog roda. Naziv familije predstavlja jedna reč uz nastavak -viridae.

Zajedničke karakteristike rodova koje ulaze u sastav familije uključuju: biohemijski sastav, strategiju umnožavanja čestica, prirodu i građu čestica i organizaciju genoma (Fauquet, 1999; Hull, 2004).



## *Podfamilija virusa*

Podfamilija se kao jedinica uvodi samo u slučaju ukoliko je potrebno rešiti hijerarhijske probleme unutar familija. Nije neophodno da unutar familija postoje podfamilije. Podfamilija predstavlja grupu rodova virusa sa zajedničkim karakteristikama. Prihvatljivo je da se obrazuje podfamilija samo sa jednim rodom. Naziv podfamilije predstavlja jedna reč koja dobija nastavak -virinae.

## *Rod virusa*

Rod je skup vrsta koje imaju zajedničke karakteristike, pri čemu je prihvatljivo i da se rod sastoji samo od jedne vrste. U imenu roda figurira samo jedna reč kojoj se dodaje nastavak -virus.

Zajedničke karakteristike vrsta koje ulaze u sastav roda uključuju: strategiju umnožavanja čestica, veličinu genoma i/ili broj segmenata, homologiju sekvenci i prenošenje putem vektora (Fauquet, 1999; Hull, 2004).

## *Vrsta virusa*

Vrsta je najniži taksonomski nivo odobren od strane ICTV. Vrsta je monofiletska (zajedničkog porekla) grupa virusa koja se od druge vrste može razlikovati na osnovu više kriterijuma. Ime vrste se sastoji od više reči, pri čemu nije dovoljno da se navede samo ime domaćina i reč "virus".

Virusi pripadaju istoj vrsti ukoliko imaju sledeće zajedničke karakteristike: isti raspored, odnosno uređenost genoma, homologija sekvenci, serološka srodnost, prenošenje vektorom, krug domaćina, patogenost, tropizam tkiva, geografsko rasprostranjenje (Fauquet, 1999; Hull, 2004). U cilju pojednostavljenja pisanja naučnih publikacija u kojima je ponavljanje imena virusa opterećivalo tekst, uvedeni su akronimi, koji predstavljaju skraćeno ime vrsta virusa koristeći početna slova reči u imenu virusa. U nekim slučajevima, gde bi taj princip mogao dovesti do zabune (primer: *Tobacco mosaic virus* i *Tomato mosaic virus*), koriste se i dodatna slova (*Tomato mosaic virus* se označava sa ToMV). Van Regenmortel et al. (2000) su u svojoj publikaciji opisali pravila davanja akronima pojedinim virusima.

Harrison i Murrant su u svojstvu urednika Asocijacije Primenjenih Biologa (Association of Applied Biologists, AAB) formirali bazu podataka vrsta virusa koja se i danas koristi od strane virusologa putem internet stranice <http://www.dpvweb.net/> (Adams i Antoniw, 2005; 2006).

## *Imena taksona viroida*

Analogno virusima, imena vrsta viroida sadrže reč "viroid", rodovi dobijaju nastavak ...-viroid, podfamilije nastavak...-viroidae, familije nastavak ...-viroidae.

## Pravila pisanja imena taksona

Imena redova, porodica, podporodica i rodova pišu se velikim slovom i “*italic*” tipom slova. Imena vrsta se takođe pišu “*italic*” tipom slova, ali je samo prvo slovo prve reči veliko (primer: *Tobacco mosaic virus*). Izuzetak je samo ukoliko neka od reči predstavlja geografski pojam, tada se i ta reč piše velikim slovom (primer: *Murray Valley encephalitis virus*).

## Decimalni kodovi u taksonomiji virusa

U bazi podataka ICTV (internet stranica <http://ictvdb.bio-mirror.cn/index.htm>) svakoj taksonomskoj jedinici virusa dodeljen je i broj, tj. kod, zahvaljujući kojem se izbegavaju mogući nesporazumi u naučnom radu.

Na primer decimalni kod virusa mozaične kržljivosti kukuruza (*Maize dwarf mosaic virus*) je 00.057.0.01.039.

Pri čemu 00. označava da porodica nije svrstana ni u jedan red.

Sledeći broj 057 označava pripadnost porodici *Potyviridae*.

Naredni broj u nizu 0 označava da rod nije svrstan u podporodicu.

Broj 01 označava da vrsta pripada rodu *Potyvirus*.

Broj 039 označava vrstu *Maize dwarf mosaic virus*.

U nekim slučajevima naredni brojevi mogu označavati podvrste, serotipove, pa i izolate virusa.

## Redovi, porodice i rodovi biljnih virusa

Prema izdanju Međunarodnog komiteta za taksonomiju virusa ICTV iz 2014. godine virusi su svrstani u sledeće redove:

1. Red *Caudovirales* (sadrži 3 porodice virusa- bakteriofaga, ne parazitiraju biljke)
2. Red *Herpesvirales* (3 porodice, ne parazitiraju biljke)
3. Red *Ligamenvirales* (2 porodice, ne parazitiraju biljke)
4. Red *Mononegavirales* (5 porodica, među njima i porodica *Rhabdoviridae* unutar koje postoje i biljni virusi)
5. Red *Nidovirales* (4 porodice, ne parazitiraju biljke)
6. Red *Picornavirales* (5 porodica, predstavnik porodice *Marnaviridae* parazitira alge, a u porodici *Secoviridae* spadaju i biljni virusi)
7. Red *Tymovirales* (4 porodice, predstavnici fam *Alphaflexiviridae*, *Betaflexiviridae* i *Tymoviridae* parazitiraju biljke)
8. Porodice koje nisu svrstane u redove. U ovoj grupi se nalazi niz porodica virusa koji parazitiraju biljke: *Amalgaviridae*, *Benyviridae*, *Bromoviridae*, *Bunyaviridae*, *Caulimoviridae*, *Closteroviridae*, *Endornaviridae*, *Geminiviridae*, *Luteoviridae*, *Metaviridae*, *Nanoviridae*, *Ophioviridae*, *Partitiviridae*, *Potyviridae*, *Pseudoviridae*, *Reoviridae*, *Tombusviridae*, *Virgaviridae*. Porodica viroida *Avsunviroidae* i *Pospiviroidae* je takođe svrstana o ovu grupu prema bazi podataka ICTV.

## Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa dvospiralnom RNK

Familije biljnih virusa sa dvospiralnim RNK genomom su: *Reoviridae*, *Partitiviridae*, *Endornaviridae* i *Amalgaviridae* (Tabela XI.1.).

U familiju *Reoviridae* spadaju virusi sa izometrijskim česticama, proteinskim omotačem sa ovojnicom i sa izraštajima na površini čestica. Genom sačinjava od 10 do 12 segmenata linearne dvospiralne RNK. Rodovi virusa iz ove familije koje zaražavaju biljke su *Fijivirus*, *Oryzavirus* i *Phytoreovirus*. Predstavnik roda *Fijivirus* je virus oboljenja Fiji (*Fiji disease virus*, FDV), a u ovaj rod spadaju i virus hrapave patuljivosti kukuruza (*Maize rough dwarf virus*, MRDV) i virus patuljivosti belog luka (*Garlic dwarf virus*, GDV). Sva tri pomenuta virusa se prenose cikadama. Glavni predstavnik roda *Oryzavirus* je virus hrapave kržljivosti pirinča (*Rice ragged stunt virus*, RRSV), a roda *Phytoreovirus* virus tumoralnih rana (*Wound tumor virus*, WTV). Virus iz oba roda se prenose cikadama, ali virusi iz roda *Oryzavirus* zaražavaju samo monokotiledone, a *Phytoreovirus* i mono-, i dikotiledone biljke.

U familiju *Partitiviridae* spadaju izometrijski virusi sa prečnikom od oko 30-40 nm. Čestice sadrže po dve dvospiralne RNK. U ovu familiju spadaju sledeći fitopatogeni rodovi: *Alphapartitivirus*, *Betapartitivirus*, *Deltapartitivirus*, a postoje i vrste koje su uvrštene u ovu familiju, ali još nisu svrstane u rodove. Veći broj virusa iz ove familije u svom imenu sadrži reč "cryptic" (skriven, latentan), pošto su simptomi često teško uočljivi. Predstavnik roda *Alphapartitivirus* je skriveni (latentni) virus bele deteline (*White clover cryptic virus 1*, WCCV-1). U rod *Betapartitivirus* spada skriveni virus konoplje (*Cannabis cryptic virus*, HpLV), a u *Deltapartitivirus* skriveni virus paprike (*Pepper cryptic virus 1*, PCV-1).

U familiju *Endornaviridae* spada rod *Endornavirus* sa tipičnim predstavnikom endornavirusa boba (*Vicia faba endornavirus*, VFV), a familiju *Amalgaviridae* i rod *Amalgavirus* reprezentuje južni virus paradajza (*Southern tomato virus*, STV). Ovi virusi još nisu detaljno proučeni.

Tabela XI.1. Sistematika biljnih virusa sa dvospiralnom RNK prema Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTV)

Red	Porodica	Rod	Predstavnik roda
Familija nije svrstana u red	<i>Reoviridae</i>	<i>Fijivirus</i>	<i>Fiji disease virus</i> , FDV
		<i>Oryzavirus</i>	<i>Rice ragged stunt virus</i> , RRSV
		<i>Phytoreovirus</i>	<i>Wound tumor virus</i> , WTV
	<i>Partitiviridae</i>	<i>Alphapartitivirus</i>	<i>White clover cryptic virus 1</i> , WCCV-1
		<i>Betapartitivirus</i>	<i>Atkinsonella hypoxylon virus</i> <sup>*</sup> , AHV
		<i>Deltapartitivirus</i>	<i>Pepper cryptic virus 1</i> , PCV-1
	<i>Endornaviridae</i>	<i>Endornavirus</i>	<i>Vicia faba endornavirus</i> , VFV
	<i>Amalgaviridae</i>	<i>Amalgavirus</i>	<i>Southern tomato virus</i> , STV

\*Predstavnik roda je parazit gljiva, ali u dati rod spadaju i biljni virusi

## *Familije i rodovi biljnih virusa sa genom sa jednospiralnom pozitivnom (+) RNK*

Familije virusa iz reda *Tymovirales*, koje imaju genom sa jednospiralnom + RNK, a sadrže i biljne viruse su: *Alphaflexiviridae*, *Betaflexiviridae*, *Tymoviridae* (Tabela XI.2.).

U redu *Picornavirales* sa stanovišta fitopatologije značajna je familija *Secoviridae*, čiji predstavnici takođe imaju jednospiralne + RNK. Iz istog reda familija i *Marnaviridae* parazitira alge, te nije značajna sa stanovišta poljoprivredne fitopatologije.

Familije koje nisu svrstane u redove, imaju genom sastavljen od jednospiralne (+) RNK, i sadrže i biljne viruse su: *Benyviridae*, *Bromoviridae*, *Closteroviridae*, *Luteoviridae*, *Metaviridae*, *Potyviridae*, *Tombusviridae* i *Virgaviridae*.

U familiju *Alphaflexiviridae* spadaju virusi sa izduženim česticama. Među rodovima iz ove porodice je najznačajniji rod *Potexvirus*, a tu spadaju i rodovi *Allexivirus*, *Lolavirus* i *Mandarivirus*. Predstavnik roda *Potexvirus* je X virus krompira (*Potato virus X*, PVX), a roda *Allexivirus* X virus aljme (*Shallot virus X*, ShVX). U ovu familiju takođe spada E virus kupine (*Blackberry virus E*, BVE), koji još nije svrstan u rod.

Familija *Betaflexiviridae* takođe obuhvata končaste viruse, koje imaju čestice dužine od 600-1000 nm. U ovu familiju spada i nekoliko veoma značajnih rodova sa stanovišta fitopatologije pre svega *Capillovirus*, *Carlavirus*, *Foveavirus*, *Trichovirus* i *Vitivirus*, a ovde spadaju i rodovi *Citrivirus* i *Tepovirus*. U rodu *Capillovirus* najznačajniji je virus brazdavosti stabla jabuke (*Apple stem grooving virus*, ASGV), a u ovaj rod spada i A virus trešnje (*Cherry virus A*, CVA). Rod *Carlavirus* sadrži veliki broj vrsta koje parazitiraju različite gajene biljke. Predstavnik po kome je rod dobio ime je latentni virus karanfila (*Carnation latent virus*, CLV), ali se u ovom rodu nalaze virusi paraziti krompira – M virus krompira (*Potato virus M*, PVM) i S virus krompira (*Potato virus S*, PVS), parazit krastavca – virus prosvetljavanja nerava krastavca (*Cucumber vein-clearing virus*, CVYV), patogen hmelja – virus mozaika hmelja (*Hop mosaic virus*, HpMV), crvene deteline - virus mozaika nerava crvene deteline (*Red clover vein mosaic virus*, RCVMV) i virusi drugih gajenih biljaka. Predstavnik roda *Foveavirus* je virus jamičavosti stabla jabuke (*Apple stem pitting virus*, ASPV). U ovaj rod spadaju i pojedini virusi patogeni kajsije, breskve, vinove loze i drugih biljaka. Najznačajniji predstavnik roda *Trichovirus* je virus hlorotične lisne pegavosti jabuke (*Apple chlorotic leaf spot virus*, ACLFV), a značajni su i virus šarenila lista trešnje (*Cherry mottle leaf virus*, CMLV) i virus mozaika breskve (*Peach mosaic virus*, PcMV). Rod *Vitivirus* sadrži nekoliko virusa vinove loze koji su označeni slovima A, B, D, E i F, među kojima je tipski predstavnik roda A virus vinove loze (*Grapevine virus A*, GVA).

Familija *Tymoviridae* sadrži viruse sa izometrijskim oblikom čestica, prečnika oko 30 nm. Do sada su u ovoj familiji opisana tri roda virusa: *Maculavirus*, *Marafivirus* i *Tymovirus*. Jedina do sada opisana vrsta u rodu *Maculavirus* je virus mrljavosti vinove loze (*Grapevine fleck virus*, GFkV). U rod *Marafivirus* spadaju virusi koji parazitiraju kupinu, vinovu lozu, citrusu i druge biljke, pri čemu je predstavnik roda virus rayado fino kukuruza *Maize rayado fino virus* (MRFV). Predstavnik roda *Tymovirus* je virus žutog mozaika postrne repe (*Turnip yellow mosaic virus*, TYMV). U ovom rodu se nalazi značajan broj biljnih virusa.

U familiji koja je svrstana u red *Picornavirales* i koja je nazvana *Secoviridae* je oformljena podfamilija *Comovirinae* (koja je ranije imala status familije), a u koju su svrstani rodovi *Comovirus*, *Fabavirus* i *Nepovirus*. U familiji *Secoviridae* se nalaze izometrijski virusi sa prečnikom čestica od 25-30 nm. Genom virusa je u vidu dve jednolančane +RNK.

Virusi roda *Comovirus* imaju dobru imunogenu aktivnost, i relativno uzan krug domaćina, a predstavnik roda je virus mozaika stočnog graška (*Cowpea mosaic virus*, CPMV). U ovaj rod spada i virus mozaika tikve (*Squash mosaic virus*, SqMV) i virus šarenila mahuna pasulja (*Bean pod mottle virus*, BPMV). Viruse roda *Comovirus* prenose i koleoptere. Predstavnik roda *Fabavirus* je virus uvenuća boba 1 (*Broad bean wilt virus 1*, BBWV-1). Viruse ovog roda prenose lisne vaši na neperzistentan način. Predstavnik roda *Nepovirus* je virus prstenaste pegavosti duvana (*Tobacco ringspot virus*, TRSV), a u ovaj rod spadaju i virus infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV), virus mozaika gušarke (*Arabis mosaic virus*, ArMV), virus uvijenosti lišća trešnje (*Cherry leaf roll virus*, CLRV), virus prstenaste pegavosti paradajza (*Tomato ringspot virus*, ToRSV) i drugi značajni fitopatogeni virusi. Svi navedeni virusi roda *Nepovirus* se prenose nematodama, po čemu je rod i dobio ime.

U familiju *Secoviridae*, ali van podfamilije *Comovirinae* nalaze se rodovi *Cheravirus*, *Sadwavirus*, *Sequivirus*, *Torradovirus* i *Waikavirus*. U rodu *Cheravirus* se za sada nalaze svega četiri vrste, a tipski predstavnik je virus zupčavosti lišća trešnje (*Cherry rasp leaf virus*, CRLV). Jedini član roda *Sadwavirus* je virus kržljivosti satsume (*Satsuma dwarf virus*, SDV) koji je opisan na vrsti mandarine, satsumi (*Citrus unshiu*). U ranijim sistematikama rod *Sequivirus* je pripadao i bio glavni predstavnik familije *Sequiviridae*, ali danas je taj rod svrstan u familiju *Secoviridae*. Predstavnik roda je virus žute pegavosti paštrnaka (*Parsnip yellow fleck virus*, PYFV). U ovaj rod spadaju i virusi paraziti mrkve i maslačka. Rod *Torradovirus* je dobio ime po torrado virusu paradajza (*Tomato torrado virus*, ToTV), koji se prenosi leptirastom vaši *Bemisia tabaci* i predstavlja sve značajniju pretnju za gajenje paradajza. Predstavnik roda *Waikavirus* je tungro sferični virus pirinča (*Rice tungro spherical virus*, RTSV).

Veći broj familija virusa koja nisu svrstane u redove imaju genom sačinjen od jednospiralne (+) RNK: *Benyviridae*, *Bromoviridae*, *Closteroviridae*, *Luteoviridae*, *Metaviridae*, *Potyviridae*, *Tombusviridae*, *Virgaviridae*.

U familiji *Benyviridae* nalazi se samo rod *Benyvirus*, sa veoma značajnim predstavnikom, virusom nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV). Virus se prenosi gljivolikim organizmom *Polymyxa betae*, i prouzrokuje oboljenje rizomaniju. Ima štapičaste čestice sa podeljenim genomom.

Familija *Bromoviridae* sadrži viruse, koji pričinjavaju značajne štete i imaju veliki ekonomski značaj u biljnoj proizvodnji. Rodovi unutar ove porodice su: *Alfamovirus*, *Anulavirus*, *Bromovirus*, *Cucumovirus*, *Ilarvirus* i *Oleavirus*. Virusi iz familije *Bromoviridae* su izometrijskog oblika, prečnika 26-35 nm. Karakteristično je da imaju tri genomske RNK i jednu subgenomsku RNK. Predstavnik roda *Alfamovirus* je virus mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*, AMV), sa baciloidnim česticama, koji ima širok krug domaćina i pričinjava značajne ekonomske štete. U rod *Bromovirus* spada virus mozaika ovsike (*Brome mosaic virus*, BMV), kao i virus hlorotičnog šarenila stočnog graška (*Cowpea chlorotic mottle virus*, CCMV). Rod *Cucumovirus* je dobio ime po rasprostranjenom i veoma štetnom virusu mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV), a u ovaj rod pripada i virus besemenosti paradajza (*Tomato aspermy virus*, TAV). Tipski predstavnik roda *Ilarvirus* je virus crtičavosti duvana (*Tobacco streak virus*, TSV), iako u ovaj rod spadaju i vrste koje prouzrokuju velike štete u voćarstvu, kao što su virus kržljivosti šljive (*Prune dwarf virus*, PDV), virus nekrotične prstenaste pegavosti koštičavog voća (*Prunus necrotic ring spot*

virus, PNRSV) i virus mozaika jabuke (*Apple mosaic virus*, ApMV). U familiju *Bromoviridae* spadaju i manje značajni rodovi *Anulavirus* i *Oleavirus*.

Virusi iz familije *Closteroviridae* se karakterišu izrazito dugim česticama od 950-2200 nm. Svi opisani rodovi parazitiraju biljke. To su rod *Ampelovirus*, *Closterovirus*, *Crinivirus* i *Velarivirus*, a opisane su i vrste koje pripadaju ovoj familiji, ali još nisu svrstane u rodove. Rod *Ampelovirus* je dobio ime po kompleksu virusa koji prouzrokuju uvijanje listova vinove loze, a tipski predstavnik je virus uvijenosti lista vinove loze 3 (*Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRaV-3). U ovaj rod spadaju i virusi koji izazivaju oboljenje na ananasu, kao i virus nekroze kore i jamičavosti stabla šljive (*Plum bark necrosis stem pitting-associated virus*, PBNSTaV). Predstavnik roda *Closterovirus* je virus žutice šećerne repe (*Beet yellows virus*, BYV). Veoma štetan virus ovog roda je i virus tristeza citrusa (*Citrus tristeza virus*, CTV), a u ovaj rod spada i virus šarenila lišća maline (*Raspberry leaf mottle virus*, RLMV). Rod *Crinivirus* je predstavljen virusom zarazne žutice salate (*Lettuce infectious yellows virus*, LIYV), a u ovaj rod spadaju i virusi paradajza, kao što su virus hloroze paradajza (*Tomato chlorosis virus*, ToCV) i virus zarazne hloroze paradajza (*Tomato infectious chlorosis virus*, TICV). Takođe u ovom rodu se nalaze virusi paraziti krastavca, krompira, kupine, jagode i drugih gajenih biljaka. U rod *Velavirus* spada jedan od virusa uvijenosti lišća vinove loze (*Grapevine leafroll-associated virus 7*, GLRaV-7).

Virusi familije *Luteoviridae* imaju izometrijske čestice prečnika 25-30 nm, visoku imunogenu aktivnost i 180 proteinskih podjedinica u omotaču (triangulacioni broj je 3). Familija obuhvata tri roda (*Enamovirus*, *Luteovirus* i *Polerovirus*), kao i viruse koji nisu svrstani u rodove. Jedini predstavnik roda *Enamovirus* je virus enacijskog mozaika graška 1 (*Pea enation mosaic virus 1*, PEMV-1). Najproučeniji predstavnik roda *Luteovirus* je virus žute patuljavosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV). Danas se smatra da BYDV predstavlja kompleks vrsta pri čemu je vrsta (nekadašnji soj) BYDV-PAV predstavnik roda *Luteovirus*. Iz datog kompleksa u ovom rodu su još i BYDV-MAV i BYDV-PAS. U ovom rodu se još nalazi i virus kržljivosti soje (*Soybean dwarf virus*, SbDV). U rod *Polerovirus* spada veći broj ekonomski veoma značajnih virusa. Dve vrste iz ovog roda predstavljaju bivše sojeve BYDV koji su na bazi razlika u strukturi genoma preimenovani u virus žute patuljavosti cerealijske (*Cereal yellow dwarf virus* RPS i RPV, akronimi CYDV-RPV i CYDV-RPS) (Svanella-Dumas et al., 2013). Predstavnik roda je virus uvijenosti lišća krompira (*Potato leafroll virus*, PLRV), a u ovaj rod su svrstani i virus hloroze šećerne repe (*Beet chlorosis virus*, BcHV), virus žute patuljavosti kukuruza-RMV (*Maize yellow dwarf virus*-RMV, MYDV-RMV), virus žutila postrne repe (*Turnip yellows virus*, TuYV) i drugi virusi. Među virusima koji su takođe u familiji *Luteoviridae*, ali nisu svrstani u rodove su dva bivša soja BYDV, i to kao virus žute patuljavosti ječma GPV kao i SGV (BYDV-GPV i BYDV-SGV)

U familiji *Metaviridae* se uglavnom nalaze virusi koji parazitiraju insekte, ali se unutar roda *Metavirus* nalazi nekoliko virusa koji parazitiraju biljke kao što su ljljani i *Arabidopsis*. Predstavnik roda *Metaviridae* je virus na kvascu *Saccharomyces cerevisiae* Ty3 virus, SceTy3V.

Familija *Potyviridae* je jedna od najznačajnijih porodica biljnih virusa. Virusi unutar ove familije imaju končaste čestice čija dužina se kod jednodelnih virusa kreće od 650-900 nm, a kod dvodelnih 500-600 nm i 200-300 nm. Usled zaraza sa ovim virusima se unutar biljnih ćelija stvaraju citoplazmatske inkluzije. Na 3' kraju genoma imaju poliadenilni rep, dok se 5' kraj završava proteinom vezan za genom (VPg). Do sada je utvrđeno 8 rodova unutar ove

familije, dok dve vrste još nisu uvrštene u odgovarajući rod. Rodovi familije *Potyviridae* su *Brambyvirus*, *Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus* i *Tritimovirus*. Jedini predstavnik roda *Brambyvirus* je Y virus kupine (*Blackberry virus Y*, BVY). Vrste iz roda *Bymovirus* su opisane na strnim žitima, a predstavnik roda je virus žutog mozaika ječma (*Barley yellow mosaic virus*, BaYMV). Viruse roda *Ipomovirus* predstavlja virus blagog šarenila slatkog krompira (*Sweet potato mild mottle virus*, SPMMV), u ovom rodu su još i virus žutila nerava krastavca (*Cucumber vein yellowing virus*, CVYV), kao i virus blagog šarenila paradajza (*Tomato mild mottle virus*, TomMMoV). Rod *Macluravirus* je dobio ime po virusu mozaika divlje narandže (*Maclura mosaic virus*, MacMV), a rod *Poacevirus* po virusu mozaika tritikuma-vrste žita (*Triticum mosaic virus*, TriMV). Najznačajniji rod u ovoj familiji je rod *Potyvirus* koji prema podacima ICTV u momentu pisanja ovog udžbenika ima 158 vrsta među kojima se nalaze i veoma štetni virusi velikog ekonomskog značaja. Familija i rod su dobili ime po predstavniku - Y virusu krompira (*Potato virus Y*, PVY). U ovaj rod pripadaju virus običnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic virus*, BCMV), virus žutog mozaika pasulja (*Bean yellow mosaic virus*, BYMV), virus mozaika šećerne repe (*Beet mosaic virus*, BtMV), virus mozaika salate (*Lettuce mosaic virus*, LMV), virus mozaične kržljivosti kukuruza (*Maize dwarf mosaic virus* MDMV), virus žute patuljavosti crnog luka (*Onion yellow dwarf virus* OYDV), virus prenošljiv semenom graška (*Pea seed-borne mosaic virus*, PSbMV), A virus krompira (*Potato virus A*, PVA), virus mozaika soje (*Soybean mosaic virus*, SMV), virus mozaika lubenice (*Watermelon mosaic virus*, WMV), virus šarke šljive (*Plum pox virus*, PPV), virus žutog mozaika cukinija (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV), virus mozaika sirka (*Sorghum mosaic virus*, SrMV) i brojni drugi značajni virusi. U rod *Rymovirus* spadaju virus mozaika ljujla (*Ryegrass mosaic virus*, RGMV), virus mozaika pirevine (*Agropyron mosaic virus*, AgMV) i virus mozaika ječma (*Hordeum mosaic virus*, HoMV). Predstavnik roda *Tritimovirus* je virus crtičastog mozaika pšenice (*Wheat streak mosaic virus*, WSMV), a u ovom rodu se nalaze i drugi virusi paraziti strnih žita.

Članovi familije *Tombusviridae* imaju izometrijske čestice prečnika 30 nm sa 180 proteinskih podjedinica u omotaču, tj. tringulacionim brojem tri (T=3). Obično imaju uzan krug domaćina i lako se mehanički prenose. Opisani rodovi unutar ove porodice su *Alphanecrovirus*, *Aureusvirus*, *Avenavirus*, *Betanecrovirus*, *Carmovirus*, *Dianthovirus*, *Gallantivirus*, *Macanavirus*, *Machlomovirus*, *Panicovirus*, *Tombusvirus*, *Umbravirus* i *Zeavirus*. Predstavnik roda *Alphanecrovirus* je A virus nekroze duvana (*Tobacco necrosis virus A*, TNV-A), a u ovaj rod su svrstana i dva virusa patogena maslina. Rod *Aureusvirus* je predstavljen virusom koji je opisan na ukrasnoj biljci đavolji bršljan (*Epipremnum aureum*), pa je i virus dobio naziv latentni virus đavoljeg bršljana (*Pothos latent virus*, PoLV). U ovom rodu su i virusi paraziti kukuruza, krastavca i divljeg sirka. U rod *Avenavirus* je do sada svrstana samo jedna vrsta, virus hlorotičnog zakržljavanja ovsa (*Oat chlorotic stunt virus*, OCSV). Rod *Betanecrovirus* je reprezentovan D virusom nekroze duvana (*Tobacco necrosis virus D*, TNV-D). Rod *Carmovirus* obuhvata veći broj vrsta virusa. Tipični predstavnik je virus šarenila karanfila (*Carnation mottle virus*, CarMV), ali se u ovom rodu nalaze i virus blagog mozaika pasulja (*Bean mild mosaic virus*, BMMV), virus nekrotične pegavosti dinja (*Melon necrotic spot virus*, MNSV) i drugi virusi na povrtnarskim, ratarskim i ukrasnim biljkama. Rod *Dianthovirus* je takođe predstavljen vrstom parazitom karanfila, virusom prstenaste pegavosti karanfila (*Carnation ringspot virus*, CRSV), dok su druge dve vrste ovog roda patogeni deteline. Rod *Gallantivirus* je malo poznat sa jedinom vrstom

izolovanom iz korovske vrste konice (rod *Galinsoga*). Virus je dobio naziv virus mozaika konice (*Galinsoga mosaic virus*, GaMV). Rod *Macanavirus* takođe ima samo jednog člana na ukrasnoj biljci iz podfamilije *Agavoideae*, virus nekrotične crtičavosti furkreje (*Furcraea necrotic streak virus*, FNSV). U rodu *Machlomovirus* se nalazi samo virus hlorotičnog šarenila kukuruza (*Maize chlorotic mottle virus*, MCMV). Predstavnik roda *Panicovirus* je virus mozaika prosa (*Panicum mosaic virus*, PMV). Tipični predstavnik roda *Tombusvirus* je virus žbunaste kržljivosti paradajza (*Tomato bushy stunt virus*, TBSV), ali se u ovom rodu nalaze i virusi krastavca, paprike, vinove loze, patlidžana i drugih biljaka. Rod *Umbravirus* je predstavljen virusom šarenila mrkve (*Carrot mottle virus*, CMoV), u ovom rodu su još i virus žbunastog vrha duvana (*Tobacco bushy top virus*, TBTv), virus enacijskog mozaika graška-2 (*Pea enation mosaic virus 2*, PEMV-2) i drugi virusi. Jedina vrsta roda *Zeavirus* je virus nekrotične crtičavosti kukuruza (*Maize necrotic streak virus*, MNeSV).

Virusi iz familije *Virgaviridae* su štapičastog oblika, pri čemu u zavisnosti od roda se sastoje od jedne, dve ili tri čestice. Rodovi ove porodice su *Furovirus*, *Hordeivirus*, *Pecluvirus*, *Pomovirus*, *Tobamovirus* i *Tobravirus*. Predstavnik roda *Furovirus* je virus američkog mozaika pšenice (*Soil-borne wheat mosaic virus*, SBWMV), u ovom rodu je i virus američkog mozaika cerealija (*Soil-borne cereal mosaic virus*, SBCMV), kao i virus zlatne prugavosti ovsa (*Oat golden stripe virus*, OGSV). Rod *Furovirus* ima dvodelne čestice. U rodu *Hordeivirus* najznačajnija vrsta je virus prugastog mozaika ječma (*Barley stripe mosaic virus*, BSMV), koji ima trodelne čestice. Predstavnik manje poznatog roda *Pecluvirus* je virus virus grumenavosti arahisa (*Peanut clump virus*, PCV). U rodu *Pomovirus* reprezentativna vrsta je virus žbunavosti vrha krompira (*Potato mop-top virus*, PMTV). U ovom rodu se nalazi i virus šećerne repe prenošljiv zemljištem (*Beet soil-borne virus*, BSBV). Ovi virusi su dvodelni. Rod *Tobamovirus* sadrži veliki broj značajnih fitopatogenih virusa, pri čemu je rod dobio ime po virusu mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), koji je jednodelan. U ovaj rod spadaju i virus mozaika paradajza (*Tomato mosaic virus*, ToMV), virus zelenog šarenila krastavca (*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV), virus blagog šarenila paprike (*Pepper mild mottle virus*, PMMoV) i drugi virusi. Najveći broj vrsta roda *Tobamovirus* se prenosi mehanički, nema vektora i ima visoku imunogenu aktivnost. Predstavnik roda *Tobravirus* je virus šuštavosti duvana (*Tobacco rattle virus*, TRV). Virusi u ovom rodu su dvodelni. U ovaj rod su svrstani virus rane nekroze graška (*Pea early-browning virus*, PEBV) i virus prstenaste pegavosti paprike (*Pepper ringspot virus*, PepRSV). Predstavnici ovog roda se prenose mehanički, a vektori su nematode.



Tabela XI.2. Sistematika biljnih virusa sa jednospiralnom + RNK prema Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTV)

Red	Porodica	Rod	Predstavnik roda
<i>Tymovirales</i>	<i>Alphaflexiviridae</i>	<i>Allexivirus</i>	<i>Shallot virus X, ShVX</i>
		<i>Lolavirus</i>	<i>Lolium latent virus, LoLV</i>
		<i>Mandarivirus</i>	<i>Indian citrus ringspot virus, ICRSV</i>
		<i>Potexvirus</i>	<i>Potato virus X, PVX</i>
	<i>Betaflexiviridae</i>	<i>Capillovirus</i>	<i>Apple stem grooving virus, ASGV</i>
		<i>Carlavirus</i>	<i>Carnation latent virus, CLV</i>
		<i>Citrivirus</i>	<i>Citrus leaf blotch virus, CLBS</i>
		<i>Foveavirus</i>	<i>Apple stem pitting virus, ASPV</i>
		<i>Tepovirus</i>	<i>Potato virus T, PVT</i>
		<i>Trichovirus</i>	<i>Apple chlorotic leaf spot virus, ACLFV</i>
		<i>Vitivirus</i>	<i>Grapevine virus A, GVA</i>
	<i>Tymoviridae</i>	<i>Maculavirus</i>	<i>Grapevine fleck virus, GFkV</i>
		<i>Marafivirus</i>	<i>Maize rayado fino virus, MRFV</i>
		<i>Tymovirus</i>	<i>Turnip yellow mosaic virus, TYMV</i>
<i>Picornavirales</i>	<i>Secoviridae</i>	<i>Comovirus</i>	<i>Cowpea mosaic virus, CPMV</i>
		<i>Fabavirus</i>	<i>Broad bean wilt virus 1, BBWV-1</i>
		<i>Nepovirus</i>	<i>Tobacco ringspot virus, TRSV</i>
		<i>Cheravirus</i>	<i>Cherry rasp leaf virus, CRLV</i>
		<i>Sadwavirus</i>	<i>Satsuma dwarf virus, SDV</i>
		<i>Sequivirus</i>	<i>Parsnip yellow fleck virus, PYFV</i>
		<i>Torradovirus</i>	<i>Tomato torrado virus, ToTV</i>
		<i>Waikavirus</i>	<i>Rice tungro spherical virus, RTSV</i>
Familija nije svrstana u red	<i>Benyviridae</i>	<i>Benyvirus</i>	<i>Beet necrotic yellow vein virus, BNYYV</i>
	<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfamovirus</i>	<i>Alfalfa mosaic virus, AMV</i>
		<i>Anulavirus</i>	<i>Pelargonium zonate spot virus, PZSV</i>
		<i>Bromovirus</i>	<i>Brome mosaic virus, BMV</i>
		<i>Cucumovirus</i>	<i>Cucumber mosaic virus, CMV</i>
		<i>Illavirus</i>	<i>Tobacco streak virus, TSV</i>
		<i>Oleavirus</i>	<i>Olive latent virus 2, OLV-2</i>
	<i>Closteroviridae</i>	<i>Ampelovirus</i>	<i>Grapevine leafroll-associated virus 3, GLRaV-3</i>
		<i>Closterovirus</i>	<i>Beet yellows virus, BYV</i>
		<i>Crinivirus</i>	<i>Lettuce infectious yellows virus, LIYV</i>
		<i>Velarivirus</i>	<i>Grapevine leafroll-associated virus 7, GLRaV-7</i>

Tabela XI.2. Sistematika biljnih virusa sa jednospiralnom + RNK prema Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTV) (nastavak)

Familija nije svrstana u red	<i>Luteoviridae</i>	<i>Enamovirus</i>	<i>Pea enation mosaic virus 1, PEMV-1</i>
		<i>Luteovirus</i>	<i>Barley yellow dwarf virus-PAV, BYDV-PAV</i>
		<i>Polerovirus</i>	<i>Potato leafroll virus, PLRV</i>
	<i>Metaviridae</i>	<i>Metavirus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae Ty3 virus, SceTy3V</i>
	<i>Potyviridae</i>	<i>Brambyvirus</i>	<i>Blackberry virus Y, BVY</i>
		<i>Bymovirus</i>	<i>Barley yellow mosaic virus, BaYMV</i>
		<i>Ipomovirus</i>	<i>Sweet potato mild mottle virus, SPMMV</i>
		<i>Macluravirus</i>	<i>Maclura mosaic virus, MacMV</i>
		<i>Poacevirus</i>	<i>Triticum mosaic virus, TriMV</i>
		<i>Potyvirus</i>	<i>Potato virus Y, PVY</i>
		<i>Rymovirus</i>	<i>Ryegrass mosaic virus, RGMV</i>
		<i>Tritimovirus</i>	<i>Wheat streak mosaic virus, WSMV</i>
	<i>Tombusviridae</i>	<i>Alphanecrovirus</i>	<i>Tobacco necrosis virus A, TNV-A</i>
		<i>Aureusvirus</i>	<i>Pothos latent virus, PoLV</i>
		<i>Avenavirus</i>	<i>Oat chlorotic stunt virus, OCSV</i>
		<i>Betanecrovirus</i>	<i>Tobacco necrosis virus D, TNV-D</i>
		<i>Carmovirus</i>	<i>Carnation mottle virus, CarMV</i>
		<i>Dianthovirus</i>	<i>Carnation ringspot virus, CRSV</i>
		<i>Gallantivirus</i>	<i>Galinsoga mosaic virus, GaMV</i>
		<i>Macanavirus</i>	<i>Furcraea necrotic streak virus, FNSV</i>
		<i>Machlomovirus</i>	<i>Maize chlorotic mottle virus, MCMV</i>
		<i>Panicovirus</i>	<i>Panicum mosaic virus, PMV</i>
		<i>Tombusvirus</i>	<i>Tomato bushy stunt virus, TBSV</i>
		<i>Umbravirus</i>	<i>Carrot mottle virus, CMoV</i>
	<i>Zeavirus</i>	<i>Maize necrotic streak virus, MNeSV</i>	
	<i>Virgaviridae</i>	<i>Furovirus</i>	<i>Soil-borne wheat mosaic virus, SBWMV</i>
		<i>Hordeivirus</i>	<i>Barley stripe mosaic virus, BSMV</i>
<i>Pecluvirus</i>		<i>Peanut clump virus, PCV</i>	
<i>Pomovirus</i>		<i>Potato mop-top virus, PMTV</i>	
<i>Tobamovirus</i>		<i>Tobacco mosaic virus, TMV</i>	
<i>Tobravirus</i>		<i>Tobacco rattle virus, TRV</i>	

## *Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa jednospiralnom negativnom (-) RNK*

Jednospiralnu negativnu (-) RNK imaju virusi iz reda *Mononegavirales* u koji spada familija *Rhabdoviridae*, sa dva roda biljnih virusa (Tabela XI.3.). Među familijama koje nisu svrstane u redove ovaj tip genoma imaju predstavnici familija *Ophioviridae*, *Bunyaviridae* i *Pseudoviridae*.

Familija *Rhabdoviridae* obuhvata rodove virusa koji prouzrokuju oboljenja sisara, (između ostalih i besnilo), a pojedini rodovi prouzrokuju oboljenja riba i insekata. Međutim, u ovoj porodici se nalaze i rodovi *Cytorhabdovirus* i *Nucleorhabdovirus* koji sadrže biljne viruse. Biljni virusi iz familije *Rhabdoviridae* su oblika metka ili baciloidni i okruženi membranom (ovojnicom) na čijoj površini se nalaze izraštaji sačinjeni od glikoproteina. Za razliku od animalnih virusa, biljni virusi poseduju dodatni gen koji omogućava širenje virusa iz ćelije u ćeliju. Prenose se putem insekata na cirkulativan način. Rod *Cytorhabdovirus* je dobio ime po nakupljanju virusnih čestica u citoplazmi zaraženih ćelija. Predstavnik ovog roda je virus nekrotičnog žutila salate (*Lettuce necrotic yellows virus*, LNYV). Takođe u ovom rodu se nalaze i virus kovrdžavosti jagode (*Strawberry crinkle virus*, SCV), virus žute crtičavosti ječma (*Barley yellow striate mosaic virus*, BYSMV), virus poljske gorčike (*Sonchus virus*, SonV), virus američke crtičavosti pšenice (*Wheat American striate mosaic virus*, WASMV) i drugi. Vrste iz roda *Nucleorhabdovirus* se umnožavaju u jedru zaraženih ćelija, pa je po tome rod dobio ime. Predstavnik roda je virus žute kržljivosti krompira (*Potato yellow dwarf virus*, PYDV). U ovaj rod spada i virus mozaika kukuruza (*Maize mosaic virus*, MMV), virus žute patuljavosti pirinča (*Rice yellow stunt virus*, RYSV), virus šarene patuljavosti patlidžana (*Eggplant mottled dwarf virus*, EMDV) i drugi virusi.

Familija *Ophioviridae* ima samo jedan rod, *Ophiovirus*, sa predstavnikom virusom psoroze citrusa (*Citrus psorosis virus*, CPsV). U ovaj rod spadaju veoma savitljivi, končasti virusi koji u prostoru često formiraju oblik otvorenog kruga. Pored navedenog virusa u ovaj rod spadaju i virus prstenaste nekroze salate (*Lettuce ring necrosis virus*, LRNV), virus blagog mozaičnog šarenila lala (*Tulip mild mottle mosaic virus*, TMMMV) i drugi virusi.

U familiju *Bunyaviridae* je trenutno svrstano pet rodova virusa, ali samo u rodu *Tospovirus* se nalaze biljni virusi. Čestice virusa ove familije su izometrijske ili pleomorfne (različitih oblika), i na površini imaju lipidni omotač sa glikoproteinskim šiljcima. Virus iz roda *Tospovirus* se prenose tripsima na perzistentan način. Predstavnik roda je virus bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV). U ovaj rod spadaju i virus žute pegavosti irisa (*Iris yellow spot virus*, IYSV), virus nekrotične pegavosti impatiента (*Impatiens necrotic spot virus*, INSV), virus hlorotične pegavosti paradajza (*Tomato chlorotic spot virus*, TCSV) i drugi virusi.

Rodovi koji se sastoje od biljnih virusa iz familije *Pseudoviridae* su *Pseudovirus* i *Sirevirus*, dok je vrsta virus pasulja *Tpv2-6* (*Phaseolus vulgaris Tpv2-6 virus*, PvuTpvV) svrstsana u familiju *Pseudoviridae*, ali još nije dodeljena ni u jedan rod. Virusi u ovoj porodici su izometrijskog oblika. Iako u rod *Pseudovirus* spada veći broj biljnih virusa, tipski predstavnik roda je vrsta na kvascu *Saccharomyces cerevisiae Ty1 virus*, (SceTy1V). U ovom rodu se nalaze i virus duvana *Tnt1* (*Nicotiana tabacum Tnt1 virus*, NtaTnt1V), virus kukuruza *Sto-4* (*Zea mays Sto-4 virus*, ZmaStoV), kao i drugi virusi paraziti aradiopsisa, kupusa, soje, ječma, krompira i drugih biljaka. Predstavnik roda *Sirevirus* je virus soje

(*Glycine max SIRE1 virus*, GmaSIRV), ali se u ovom rodu još nalaze i virusi patogeni kukuruza, paradajza i aradiopsis-a.

Tabela XI.3. Sistematika biljnih virusa sa jednospiralnom negativnom (-) RNK prema Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTV)

Red	Porodica	Rod	Predstavnik roda
<i>Mononegavirales</i>	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Cytorhabdovirus</i>	<i>Lettuce necrotic yellows virus</i> , LNYV
		<i>Nucleorhabdovirus</i>	<i>Potato yellow dwarf virus</i> , PYDV
Familija nije svrstana u red	<i>Ophioviridae</i>	<i>Ophiovirus</i>	<i>Citrus psorosis virus</i> , CPsV
	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Tospovirus</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i> , TSWV
	<i>Pseudoviridae</i>	<i>Pseudovirus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae Ty1 virus</i> , SceTy1V
		<i>Sirevirus</i>	<i>Glycine max SIRE1 virus</i> , GmaSIRV

### Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa dvospiralnom DNK

Postoji značajan broj virusa čiji je genom dvospiralna DNK, ali se biljni virusi sa ovim tipom genoma nalaze samo u familiji *Caulimoviridae*, koja nije svrstana ni u jedan red virusa (Tabela XI.4.). Virusi u ovoj familiji su izometrijskog ili baciloidnog oblika čestica. Do sada je opisano osam rodova unutar ove porodice: *Badnavirus*, *Caulimovirus*, *Cavemovirus*, *Petuvirus*, *Rosadnavirus*, *Solendovirus*, *Soymovirus* i *Tungrovirus*. Virusi iz roda *Badnavirus* imaju baciloidne čestice. Opisani su na većem broju biljaka iz tropskog podneblja, kao što su banane, ananas, smokve, biber, šećerna trska, citrusi i druge biljne vrste. Predstavnik roda je virus žutog šarenila azijske jednodnevne ( *Commelina yellow mottle virus*, ComYMV). Veći broj virusa iz ovog roda se prenosi štitastim vašima. Za razliku od roda *Badnavirus*, virusi iz roda *Caulimovirus* imaju izometrijski oblik čestica, sa T=7 triangulacionim brojem. Najveći broj vrsta se prenosi lisnim vašima, pri čemu je za prenošenje potrebno prisustvo helper proteina. Predstavnik roda je virus mozaika karfiola ( *Cauliflower mosaic virus*, CaMV). U ovaj rod spada i virus žućenja nerava jagode ( *Strawberry vein banding virus*, SVBV), a takođe i vrste koje se javljaju na ukrasnim biljkama- karanfilu, daliji i drugim biljkama. Predstavnici rod *Cavemovirus* su po karakteristikama slični rodu *Caulimovirus*. Predstavnik roda je virus mozaika nerava kasave ( *Cassava vein mosaic virus*, CsVMV). Rodovi *Petuvirus* i *Rosadnavirus* imaju samo po jednu vrstu, virus prosvetljavanja nerava petunije ( *Petunia vein clearing virus*, PVCV), odnosno virus žutila nerava ruže ( *Rose yellow vein virus*, RYVV). U rodu *Solendovirus* se nalaze dva člana, sa predstavnikom virusom prosvetljavanja nerava duvana ( *Tobacco vein clearing virus*, TVCV). U rod *Soymovirus* su svrstani virus hlorotičnog šarenila soje ( *Soybean chlorotic mottle virus*, SbCMV), virus crvene prstenaste pegavosti borovnice ( *Blueberry red ringspot virus*, BRRSV), kao i po jedan virus sa arahisa, pirinča i ukrasne biljke *Cestrum*. U rodu *Tungrovirus* postoji samo jedan član, baciliformni tungro virus pirinča ( *Rice tungro bacilliform virus*, RTBV).

Tabela XI.4. Sistematika biljnih virusa sa dvospiralnom DNK prema Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTV)

Red	Porodica	Rod	Predstavnik roda
Familija nije svrstana u red	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>	<i>Commelina yellow mottle virus</i> , ComYMV
		<i>Caulimovirus</i>	<i>Cauliflower mosaic virus</i> , CaMV
		<i>Cavemovirus</i>	<i>Cassava vein mosaic virus</i> , CsVMV
		<i>Petuvirus</i>	<i>Petunia vein clearing virus</i> , PVCV
		<i>Rosadnavirus</i>	<i>Rose yellow vein virus</i> , RYVV
		<i>Solendovirus</i>	<i>Tobacco vein clearing virus</i> , TVCV
		<i>Soymovirus</i>	<i>Soybean chlorotic mottle virus</i> , SbCMV
		<i>Tungrovirus</i>	<i>Rice tungro bacilliform virus</i> , RTBV

### *Familije i rodovi biljnih virusa sa genomom sa jednospiralnom DNK*

Biljni virusi sa genomom u obliku jednospiralne DNK se nalaze u familiji *Geminiviridae* i *Nanoviridae* (Tabela XI.5.). Ove dve familije nisu svrstane u redove u sistematici virusa. Reč „gemini“ na latinskom znači blizance, odakle je i familija *Geminiviridae* dobila svoj naziv. Virus u ovoj porodici naime imaju čestice „blizance“, odnosno sastoje se od dva spojena dela-nekompletna ikosoedra u kojima se nalazi cirkularna (kružnog oblika) DNK, pri čemu delovi mogu biti jednake ili različite veličine. Rodovi unutar familije *Geminiviridae* se mogu razlikovati i po vektorima. Do sada je opisano sedam rodova u okviru familije: *Becurtovirus*, *Begomovirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Mastrevirus*, *Topocovirus* i *Turncurtovirus*. U rodu *Becurtovirus* se nalaze dva virusa koji prouzrokuju uvijanje vrha biljaka šećerne repe odnosno spanaća, pri čemu je iranski virus kovrdžavosti vrha šećerne repe (*Beet curly top Iran virus*, BCTIV ) predstavnik roda. Prenose se cikadama, a dva dela virusnih čestica su jednakih veličina. Rod *Begomovirus* je najveći rod u familiji. Virus ovog roda uglavnom imaju uzan krug domaćina među dikotiledonim biljkama. Prenose se pre svega leptirastim vašima. Većina vrsta iz roda *Begomovirus* ima dvodelni genom. Predstavnik roda je virus zlatasto žutog mozaika pasulja (*Bean golden yellow mosaic virus*, BGYMV). U ovom rodu se još nalazi oko 300 vrsta virusa. Među njima se nalaze i virus kovrdžavosti lista paprike (*Pepper leaf curl virus*, PepLCV), virus žutog mozaika krompira (*Potato yellow mosaic virus*, PYMV), virus kovrdžavosti lista tikve (*Squash leaf curl virus*, SLCV), virus žute kovrdžavosti duvana (*Tobacco yellow crinkle virus*, TYCV), virus hlorotične patuljavosti lubenice (*Watermelon chlorotic stunt virus*, WmCSV) i drugi virusi. U rodu *Begomovirus* se nalazi čak 50 vrsta virusa paradajza, koji postepeno dobijaju sve veći ekonomski značaj. Među njima su utvrđena oko 40 virusa koji prouzrokuju kovrdžavost listova paradajza, a ime su dobili prema mestu njihovog opisa (na primer virus kovrdžavosti lišća paradajza Kina (*Tomato leaf curl China virus*, ToLCCNV) ili

virus kovrdžavosti lišća paradajza Sudan (*Tomato leaf curl Sudan virus*, ToLCSDV). Sličan je slučaj i sa virusom žute kovrdžavosti lišće paradajza (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV). Virusi paradajza iz ovog roda su takođe i virus hlorotičnog šarenila paradajza (*Tomato chlorotic mottle virus*, ToCMoV), virus kovrdžave patuljavosti paradajza (*Tomato curly stunt virus*, ToCSV), virus zlatnog mozaika paradajza (*Tomato golden mosaic virus*, TGMV), virus žutog šarenila paradajza (*Tomato yellow mottle virus*, ToYMV) i drugi. Predstavnik roda *Curtovirus* je virus kovrdžavosti vrha šećerne repe (*Beet curly top virus*, BCTV), koji se prenosi cikadama. U ovom rodu se nalazi još dve vrste, jedan virus na renu, a drugi na spanaću. Jedini član roda *Eragrovirus* je virus crtičavosti *Eragrostis curvula* (*Eragrostis curvula streak virus*, ECSV). U rodu *Mastrevirus* se nalazi oko 30 vrsta virusa. Među njima su i virus crtičavosti kukuruza (*Maize streak virus*, MSV), virus žute patuljavosti duvana (*Tobacco yellow dwarf virus*, TYDV), virus kržljivosti pšenice (*Wheat dwarf virus*, WDV), virus crtičavosti svračice (*Digitaria streak virus*, DSV) i drugi virusi. Glavni vektori ovih virusa su cikade. Jedina opisana vrsta u rodu *Topocuvirus* je virus lažne kovrdžavosti paradajza (*Tomato pseudo-curly top virus*, TPCTV), koji se prenosi rogatim crvčkom iz familije *Membracidae*, vrstom *Micrutalis malleifera*. Jedini predstavnik roda *Turncurtovirus* je virus kovrdžavosti vrha postrne repe (*Turnip curly top virus*, TCTV). U familiju *Nanoviridae* spadaju izometrijski virusi sa T=1 triangulacionim brojem, čiji genom se sastoji od 6-8 segmenata kružne jednospiralne DNK. Prenose se lisnim vašima. Familija *Nanoviridae* ima svega dva roda, *Babuvirus* i *Nanovirus*. Rod *Babuvirus* je dobio ime po virusu zadebljalosti vrha banane (*Banana bunchy top virus*, BBTV). Predstavnik roda *Nanovirus* je virus podzemne patuljavosti deteline (*Subterranean clover stunt virus*, SCSV), a u ovom rodu je i virus žute nekrotične kržljivosti graška (*Pea necrotic yellow dwarf virus*, PNYDV). Virus propadanja lista kokosa (*Coconut foliar decay virus*, CFDV) pripada familiji *Nanoviridae*, ali nije svrstan u rod.

Tabela XI.5. Sistematika biljnih virusa sa jednospiralnom DNK prema Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTV)

Red	Familija	Rod	Predstavnik roda
Familija nije svrstana u red	<i>Geminiviridae</i>	<i>Becurtovirus</i>	<i>Beet curly top Iran virus</i> , BCTIV
		<i>Begomovirus</i>	<i>Bean golden yellow mosaic virus</i> , BGYMV
		<i>Curtovirus</i>	<i>Beet curly top virus</i> , BCTV
		<i>Eragrovirus</i>	<i>Eragrostis curvula streak virus</i> , ECSV
		<i>Mastrevirus</i>	<i>Maize streak virus</i> , MSV
		<i>Topocuvirus</i>	<i>Tomato pseudo-curly top virus</i> , TPCTV
		<i>Turncurtovirus</i>	<i>Turnip curly top virus</i> , TCTV
	<i>Nanoviridae</i>	<i>Babuvirus</i>	<i>Banana bunchy top virus</i> , BBTV
		<i>Nanovirus</i>	<i>Subterranean clover stunt virus</i> , SCSV

## Familije i rodovi biljnih viroida

Međunarodni komiteti za taksonomiju virusa je viroide svrstao u dve familije, *Avsunviroidae* i *Pospiviroidae* (Tabela XI.6.). Viroidi su sačinjeni od infektivne RNK cirkularnog oblika od 250-400 nukleotida koja ne kodira protein, pa nukleinska kiselina nije zaštićena omotačem (Di Serio et al., 2014). Viroidi se šire pre svega zaraženim sadnim materijalom i kalemljenjem, iako je kod nekih viroida utvrđeno i širenje polenom i semenom.

U familiji *Avsunviroidae* su opisana tri roda, *Avsunviroid*, *Elaviroid* i *Pelamoviroid*. Jedini član roda *Avsunviroid* je viroid sunčanih pega avokada (*Avocado sunblotch viroid*, ASBVd). Predstavnik i jedini član roda *Elaviroid* je latentni viroid patlidžana (*Eggplant latent viroid*, ELVd). Rod *Pelamoviroid* ima dva člana, viroid latentnog mozaika breskve (*Peach latent mosaic viroid*, PLMVd) i viroid hlorotičnog šarenila hrizanteme (*Chrysanthemum chlorotic mottle viroid*, CChMVd).

U familiji *Pospiviroidae* se nalaze rodovi *Apscaviroid*, *Cocadviroid*, *Coleviroid*, *Hostuviroid* i *Pospiviroid* (Tabela XI.6.). U rodu *Apscaviroid* najvažnija vrsta je viroid ožiljaka pokožice jabuke (*Apple scar skin viroid*, ASSVd), a u ovom rodu se nalaze i mehurasti rak kruške (*Pear blister canker viroid*, PBCVd), viroid žute pegavosti vinove loze (*Grapevine yellow speckle viroid 1*, GYSVd-1) i drugi viroidi. U rodu *Cocadviroid* se nalaze dva viroida kokosovog oraha, i po jedan na hmelju i citrusima. Tipičan predstavnik je kadang-kadang viroid kokosa (*Coconut cadang-cadang viroid*, CCCVd).

U rodu *Coleviroid* se nalaze tri viroida sa ukrasne biljke *Coleus blumei* (*Coleus blumei viroid 1*, CbVd-1). Rod *Hostuviroid* ima dva člana, viroid patuljavosti hmelja (*Hop stunt viroid*, HpSVd) i latentni viroid dalije (*Dahlia latent viroid*, DLVd). Najpoznatiji član i predstavnik roda *Pospiviroid* je viroid vretenavosti krtola krompira (*Potato spindle tuber viroid*, PSTVd). U ovom rodu se nalazi i viroid patuljavosti vrha paradajza (*Tomato apical stunt viroid*, TASVd), viroid hlorotične zakržljalosti paradajza (*Tomato chlorotic dwarf viroid*, TCDVd), viroid patuljavosti hrizanteme (*Chrysanthemum stunt viroid*, CSVd), viroid izduženosti plodova paprike (*Pepper chat fruit viroid*, PCFVd) i drugi viroidi.

Tabela XI.6. Sistematika biljnih viroida po Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTV)

Red	Porodica	Rod	Predstavnik roda
Familija nije svrstana u red	<i>Avsunviroidae</i>	<i>Avsunviroid</i>	<i>Avocado sunblotch viroid</i> , ASBVd
		<i>Elaviroid</i>	<i>Eggplant latent viroid</i> , ELVd
		<i>Pelamoviroid</i>	<i>Peach latent mosaic viroid</i> , PLMVd
	<i>Pospiviroidae</i>	<i>Apscaviroid</i>	<i>Apple scar skin viroid</i> , ASSVd
		<i>Cocadviroid</i>	<i>Coconut cadang-cadang viroid</i> , CCCVd
		<i>Coleviroid</i>	<i>Coleus blumei viroid 1</i> , CbVd-1
		<i>Hostuviroid</i>	<i>Hop stunt viroid</i> , HpSVd
		<i>Pospiviroid</i>	<i>Potato spindle tuber viroid</i> , PSTVd

## XII OSNOVNE MERE SUZBIJANJA VIROZA BILJAKA (BAGI, F.)

Virusna oboljenja biljaka mogu da prouzrokuju značajne ekonomske gubitke, te se radi sprečavanja nastanka šteta preduzimaju mere za zaštitu biljaka od biljnih virusa. Za razliku od oboljenja biljaka koje prouzrokuju gljive-mikoza, protiv kojih se uspešno koriste sredstva za zaštitu biljaka – fungicidi, među kojima se nalaze i sredstva sa sposobnošću lečenja već zaraženih biljaka (kurativni fungicidi), protiv viroza ni do danas nisu razvijena sredstva koja bi imala širu primenu, a koja bi uspešno lečila zaražene biljke. Preduslovi za efikasnu zaštitu protiv biljnih oboljenja, prema tome i virusnih su:

- identifikacija prouzrokovača oboljenja
- poznavanje biologije i epidemiologije parazita
- razvoj strategije mera zaštite i stalna ocena uspešnosti preduzetih mera.

Usled nepostojanja efikasnih hemijskih sredstava za lečenje zaraženih biljaka, u strategiji suzbijanja virusnih oboljenja se u prvom planu nalaze preventivne mere koje sprečavaju ostvarenje virusnih infekcija. Mere za zaštitu od virusnih oboljenja se mogu grupisati prema različitim kriterijumima (Sastry i Zitter, 2014), pri čemu se pojedine mere često preklapaju i nadopunjuju obrazujući sistem mera za suzbijanje biljnih virusa:

- Primena sertifikacionih programa za proizvodnju bezvirusnog sadnog/semenskog materijala
- Fitosanitarne mere u sprečavanju virusnih infekcija
- Agrotehničke mere u prevenciji virusnih zaraza
- Unakrsna zaštita i zaštita satelitnim virusom
- Nepesticidne i pesticidne mere protiv vektora biljnih virusa
- Karantinske mere za sprečavanje širenja virusnih zaraza
- Oplemenjivanje biljaka tradicionalnim metodama otpornost prema virusima
- Transgena otpornost biljaka prema virusima prouzrokovačima viroza

### *Primena sertifikacionih programa/šema za proizvodnju bezvirusnog sadnog/semenskog materijala*

Ekonomski interesi savremenog sveta diktiraju potrebe za proširivanjem tržišta i liberalizacijom trgovinskog prometa robe i usluga, pa shodno tome i sadnog i semenskog materijala. S druge strane, sadni i semenski materijal može predstavljati izvore zaraza virusima, prouzrokovačima viroza, i izvore širenja drugih štetnih organizama. Iz tog razloga, ali i iz potrebe za kontinuiranim održavanjem kvaliteta sadnog i semenskog materijala razvijeni su sistemi proizvodnje i kontrole sadnog i semenskog materijala u vidu sertifikacionih šema za pojedine biljne vrste. Evropska i Mediteranska Organizacija za zaštitu bilja (OEPP/EPPO) na svom sajtu

(<https://archives.eppo.int/EPPOStandards/certification.htm>) objavila je sertifikacione šeme za gajene biljke kod kojih je najveći rizik za prenošenje oboljenja. Pravni okvir za proizvodnju i promet sadnog materijala na nivou Evropske Unije je iznesen u Direktivama koje se odnose na pojedine biljne vrste:



- Direktiva Saveta 66/401/EEC od 14 juna 1966 za stavljanje u promet semena krmnog bilja
- Direktiva Saveta 66/402/EEC od 14 juna 1966 za stavljanje u promet semena cerealijska
- Direktiva Saveta 2008/72/EC od 15 jula 2008 za stavljanje u promet sadnog materijala povrća, ne uključujući seme
- Direktiva Saveta 2008/90/EC od 29 septembra 2008 za stavljanje u promet sadnog materijala voćaka kao i sadnog materijala za osnivanje proizvodnje sadnog materijala
- Direktiva Saveta 68/193/EEC od 9 aprila 1968 za stavljanje u promet vegetativnog sadnog materijala vinove loze
- Direktiva Saveta 98/56/EC od 20 jula 1998 za stavljanje u promet sadnog materijala ukrasnih biljaka
- Direktiva Saveta 2002/53/EC od 13 juna 2002 o zajedničkom katalogu biljnih sorti gajenih biljaka u poljoprivredi
- Direktiva Saveta 2002/54/EC od 13 juna 2002 za stavljanje u promet semena šećerne repe
- Direktiva Saveta 2002/55/EC od 13 juna 2002 za stavljanje u promet semena povrća
- Direktiva Saveta 2002/56/EC od 13 juna 2002 za stavljanje u promet sadnog materijala krompira
- Direktiva Saveta 2002/57/EC od 13 juna 2002 za stavljanje u promet semena uljarica i biljaka za dobijanje vlakna
- Direktiva Saveta 1999/105/EC od 22 decembra 1999 za stavljanje u promet sadnog materijala šumskih vrsta

Ciljevi Direktiva su usaglašavanje sistema proizvodnje sadnog materijala u zemljama članicama, garantovanje slobodnog prometa kvalitetnog i zdravstveno kontrolisanog-zdravog sadnog materijala, prevencija unošenja i širenja štetnih organizama, garancija sortne čistoće biljnog materijala kao i određivanje jasnih uslova kvaliteta proizvođača-isporučioaca robe.

U Srbiji u vreme pisanja ovog udžbenika navedenu oblast regulišu Zakon o semenu poljoprivrednog bilja ("Službeni glasnik RS", broj 45/2005) kao i Zakon o sadnom materijalu voćaka, vinove loze i hmelja ("Službeni glasnik RS", broj 18/2005), koji su delom već usklađeni sa propisima EU.

Sertifikacione šeme za pojedine biljne vrste podrazumevaju jasna načela i tok proizvodnje testiranog sadnog materijala i predstavljaju sistem za proizvodnju vegetativnog sadnog materijala namenjenog za dalje umnožavanje ili prodaju, dobijenog od izvornog materijala nakon nekoliko faza umnožavanja, obezbeđujući sortnu ispravnost i zdravstveno stanje. Primena šeme sertifikacije ima za cilj da obezbedi sortno ispravan sadni materijal, bez virusa i trajno oslobođen ostalih patogena, a izdavanjem sertifikata se potvrđuje da je sadni materijal proizveden po određenoj proceduri, uz poštovanje usvojenih standarda, a kupcu se garantuje kvalitet.

Zakon o sadnom materijalu voćaka, vinove loze i hmelja (2005) definiše sledeće kategorije sadnog materijala:

- predosnovni
- osnovni ili bazni (u prometu označen etiketom bele boje)
- sertifikovani (etiketa plave boje)
- standardni (etiketa narandžaste boje).

EPPO sertifikacione šeme definišu kategorije sadnog materijala, uslove za održavanje sadnica odgovarajućih kategorija, propisuju načine i učestalost testiranja, metode za oslobađanje od virusnih infekcija i daju spisak štetnih organizama na koje je potrebno izvršiti testiranja po sertifikacionoj šemi.

Kategorije, a ujedno i koraci u dobijanju sertifikovanog sadnog materijala prema EPPO su sledeći:

- Kandidat biljke

- Predosnovne matične biljke – dobijaju se umnožavanjem kandidat biljaka i služe za proizvodnju predosnovnog sadnog materijala.

- Predosnovni sadni materijal –reprodukcioni materijal koji se proizvodi sa odgovornošću oplemenjivača ili njegovih zastupnika, i služi za proizvodnju osnovnog sadnog materijala, a testiran je po najnovijim međunarodnim standardima na prisustvo bolesti i štetočina. Održava se u strogim uslovima uz nemogućnost zaraze.

- Osnovne (bazne) matične biljke – dobijaju se sadnjom predosnovnog sadnog materijala ili u slučaju podloga u još jednom reprodukcionom ciklusu.

- Osnovni sadni materijal – reprodukcioni materijal koji je nastao iz predosnovnog sadnog materijala, služi za proizvodnju sertifikovanog sadnog materijala, proizvodi se u matičnim zasadima (objektima) pod kontrolom ovlašćene organizacije. U prometu je označen sertifikatom bele boje.

- Sertifikovane matične biljke – dobijene od baznog materijala i koriste se za proizvodnju sertifikovanog materijala.

- Sertifikovani sadni materijal – reprodukcioni materijal koji je nastao od osnovnog sadnog materijala namenjen za proizvodnju sertifikovanih sadnica ili za proizvodnju standardnog sadnog materijala. U prometu je označen sertifikatom plave boje.

- Standardni sadni materijal jeste reprodukcioni sadni materijal koji je nastao umnožavanjem materijala od sertifikovanih sadnica a namenjen je za proizvodnju standardnih sadnica. U prometu je označen sertifikatom narandžaste boje. Standardni sadni materijal koji je nastao umnožavanjem materijala od standardnih sadnica u prometu je označen sertifikatom narandžaste boje i posebnom oznakom S-A.

Među tehnikama za testiranja različitih kategorija sadnog materijala se nalaze testiranja na zeljastim i drvenastim indikator biljkama, serološke i molekularne tehnike dijagnostike. Najznačajnije metode za oslobađanje biljnog materijala od virusa su termoterapija, kultura tkiva, a manje značaja su hemoterapija, elektroterapija i krioterapija.

## *Termoterapija*

Termoterapija sadnog materijala se kao mera koristila još pre poznavanja prirode virusnih oboljenja. Podaci iz 1889. godine ukazuju, da su se sadnice šećerne trske na ostrvu Java potapale u vodu zagrejanu na 50-52 °C u trajanju od pola sata, jer su zapazili da takve sadnice u manjoj meri ispoljavaju simptome za koje se danas zna da su virusne prirode (Ten Houten et al., 1968). Ova mera predstavlja najefikasniji način oslobađanja biljnog materijala od virusa. Visina temperature i dužina izlaganja biljnog organa datoj temperaturi zavise kako od virusa, tako i od vrste biljke odnosno dela biljke koja se podvrgava terapiji. Znatno višim temperaturama se mogu izložiti delovi biljke koji su u fazi mirovanja, nego tkiva u vegetaciji. U slučaju krtola i kalem grančica u mirovanju temperature se kreću u rasponu od 35-54 °C, a vremenski period od nekoliko minuta do nekoliko sati (Hull, 2004). Za tretman se najčešće

koristi zagrejana voda, a u manjoj meri termoterapija vazduhom. U slučaju tretmana toplim vazduhom, uspeh se povećava sa povećanjem relativne vlažnosti. Tkiva koja su u razvoju se najčešće izlažu temperaturama između 35-40 °C tokom nekoliko nedelja.

Uspešnost tretmana je neophodno proveriti ponovljenim testiranjem na prisustvo virusa. Mehanizam eliminacije virusa iz biljnog tkiva putem povišenih temperature nije poznat, pretpostavlja se da dolazi do inaktivacije formiranih čestica i prekida umnožavanja (Hull, 2004).

U praksi se veoma često koristi kombinacija termoterapije sa kulturom meristema, odnosno uzima se vršni meristem biljaka koje su prethodno izlagane toplotnom tretmanu (Milošević et al., 2012).

### *Kultura meristema*

Kod brojnih virusa je utvrđeno da nisu prisutni u vršnim delovima izdanaka u razvoju, odnosno u meristemskom tkivu, iako se u drugim delovima biljnog tkiva može utvrditi prisustvo virusnih čestica (Hull, 2004; Milošević et al., 2012; Taskin et al., 2013). Dužina ovog dela vršnog meristema se u zavisnosti od domaćina i virusa obično kreće između 100 i 1000 µm (Faccioli i Marani, 1998). Ukoliko se u laboratorijskim uslovima iz nezaraženih ćelija biljaka uspe putem kulture tkiva dobiti nova jedinka, ona će biti bezvirusna. Smatra se da je odbrambeni mehanizam biljke preko mehanizma utišavanja gena (gene silencing) razlog za inhibiciju umnožavanja virusa u ovim delovima tkiva (Foster et al., 2002). Veličina fragmenta koji se prenosi na hranljivu podloge se razlikuje među biljnim vrstama, ali se verovatnoća za dobijanje bezvirusne biljke povećava sa smanjenjem fragmenta. Istovremeno, uspešnost kulture tkiva, tj. dobijanja nove jedinke se povećava sa povećanjem dimenzije fragmenta. Zbog toga samo deo dobijenih biljaka ovom tehnikom je dokazano bezvirusan. Hull (2004) navodi podatke da se kulturom tkiva-grupe ćelija koje ne spadaju u meristemsko tkivo iz zaraženih biljaka u nekim slučajevima takođe mogu dobiti bezvirusne jedinke.

### *Hemoterapija*

Kao što je već napomenuto, u praktičnoj primeni još uvek nema registrovanih hemijskih sredstava – viricida, koji bi bili pogodni za tretiranje biljaka *in vivo* radi suzbijanja virusnih oboljenja biljaka. Da bi hemijska supstanca bila pogodna za tu namenu, ona treba da inhibira umnožavanje virusa, širenje ili ispoljavanje simptoma virusnih oboljenja, a pri tome da bude dovoljno selektivna prema biljci domaćinu, da bude efikasna protiv više virusa i da ne bude štetna po životnu sredinu (Sastri i Zitter, 2014). U eksperimentalnim ispitivanjima ohrabrujuće rezultate su pokazali ribavirin (sinonim virazol), 2-tiouracil, tiazofurin, 5-fluorouracil i mikofenolna kiselina.

Ribavirin je dao pozitivne rezultate protiv virusa mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV) i virusa crtičastog mozaika krompira - *Potato virus Y*, PVY (Long and Cassells, 1986), protiv virusa nekrotične prstenaste pegavosti koštičavog voća -*Prunus necrotic ring spot virus*, PNRSV (Hansen, 1984), S i M virusa krompira -*Potato virus S*, PVS i *Potato virus M*, PVM (Griffiths et al., 1990). Efikasnost 2-tiouracila prema Y virusu krompira dokazali su Kassanis i Tinsley (1958), 5-fluorouracila protiv virusa mozaika duvana

Šutić et al. (1964), a tiazofurina i mikofenolne kiseline protiv virusa uvijenosti vinove loze 3 (Grapevine leafroll-associated virus 3, GLRaV-3) Panattoni et al. (2007).

Primena hemoterapije je uspješnija ako se koristi u kombinaciji sa termoterapijom i kulturom meristema (Hull, 2004).

## *Elektroterapija*

Cilj elektroterapije je da se pomoću strujnog kola izvrši degradacija virusnih čestica u vegetativnim organima biljaka i na taj način dobije bezvirusni sadni materijal (Sastry i Zitter, 2014). Ova tehnika još nije našla širu primenu, iako postoje pozitivni rezultati na eksperimentalnom nivou. Dužina tretmana, napon i jačina struje su promenljivi u zavisnosti od biljnog materijala. Lozoya-Saldana et al. (1996) su primenili struju jačine 15 mA u dužini od 5 minuta i utvrdili eliminaciju X virusa krompira (*Potato virus X*) iz vrhova izdanaka krompira od 60-100%. Hernandez et al. (1997b) su ovu tehniku primenili na belom luku i uspehli da ga oslobode od zaraze virusom žute patuljavosti crnog luka (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV) i virusa žute prugavosti praziluka (*Leek yellow stripe virus*, LYSV). Hormozi-Nejad et al. (2010) su isečke stabla pasulja izložili električnoj energiji jačine 5, 10 i 15 mA tokom 10 minuta, što je rezultovalo smanjenju zaraze virusom običnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic virus*, BCMV) od 37,2%, 45,5% i 71,9%. Izlaganje jačini struje od 15 mA je dalo najbolji rezultat u pogledu zaraze virusa, ali je procenat regenerisanih biljaka u tom tretmanu bio najmanji. Grupa egipatskih naučnika (Mahmoud et al., 2009) je kombinovala tehnike elektro- i hemoterapije, pošto su na zaraženo tkivo krompira sa Y virusom krompira (*Potato virus Y*, PVY) delovali prvo sa strujom jačine 5, 10 i 15 mA, a nakon toga primenili i ribavirin. Procenat uspešnosti u pogledu eliminacije virusa je u zavisnosti od jačine struje bila 66,7%, 90% i 100%. U slučaju da je primenjena samo elektroterapija bez dodatne hemoterapije, uspešnost je bila 53,7%, 72,7 i 87,5%.

## *Krioterapija*

Krioterapija podrazumeva tehniku eliminacije virusa iz biljnog tkiva kratkotrajnim izlaganjem vrhova izdanaka tečnom azotu (temperatura od -196 °C). Nakon tretmana iz preživelih biljnih ćelija meristemskog tkiva se putem kulture meristema dobija bezvirusna biljka. Uspeh povećava kombinacija termo- i krioterapije (Wang et al., 2008). Krioterapijom su dobijene bezvirusne biljke vinove loze, krompira, različitih citrusa, banane, maline, vrsta iz roda i *Prunus*, itd. (Sastry i Zitter, 2014).

## *Fitosanitarne mere u sprečavanju virusnih infekcija*

Proizvodnja i sadnja zdravog sadnog i semenskog materijala predstavlja osnovu za uspešnu i ekonomski profitabilnu biljnu proizvodnju. U cilju očuvanja zdravlja biljaka potrebno je preuzimati fitosanitarne higijenske mere kako pre zasnivanja, tako i tokom održavanja useva odnosno zasada. U ove mere spadaju uništavanje samoniklih biljaka, biljnih ostataka, zaraženih biljaka tokom vegetacije i dezinfekcijske mere.

## *Uništavanje samoniklih biljaka*

Samonikle biljke predstavljaju zeleni most na kojima se održavaju patogeni biljaka u periodima kada se domaćini-gajene biljke ne gaje na datoj površini i tokom perioda kada su nepovoljni uslovi za dalje širenje. Ove biljke su kao izvori zaraza od posebnog značaja za obligatne parazite, među kojima se nalaze i virusi. Zaostali korenovi ili delovi korena šećerne repe mogu predstavljati izvor zaraze virusa mozaika šećerne repe (*Beet mosaic virus*, BtMV), prošlogodišnje lukovice lukova predstavljaju mogući izvor virusa žute patuljivosti crnog luka (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV), a zaostali delovi korena vinove loze može predstavljati rezervoare virusa infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV) i virusa uvijenosti lista vinove loze 3 (*Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRaV-3 (Almeida et al., 2013).

## *Uništavanje biljnih ostataka*

Najveći broj biljnih virusa samo kratko može da se održi u mrtvim biljnim ostacima biljaka, te oni ne predstavljaju izvore zaraza. Kao što je međutim spomenuto u poglavlju „Ekologija i epidemiologija biljnih virusa“ kod virusa sa visokom sposobnošću održavanja „*in vitro*“ i biljni ostaci mogu predstavljati izvor zaraze. Među takvim virusima se nalaze virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV) i virus mozaika paradajza (*Tomato mosaic virus*, ToMV) (Jasnić, 1988). Biljni ostaci posebno predstavljaju opasnost u proizvodnji u zatvorenom prostoru, gde se često smenjuju domaćini navedenih virusa. Najefikasnija mera u sprečavanju takvih zaraza je promena zemljišta-suptsrata na kojem se biljke gaje, kao i dezinfekcije zemljišta pregrejanom vodenom parom. Biljni ostaci mogu biti značajni i kao suptstrat na kojem se održavaju vektori virusa.

## *Uništavanje zaraženih biljaka tokom vegetacije*

Uništavanje biljaka sa simptomima virusnih oboljenja predstavlja jednu od osnovnih fitosanitarnih mera u sprečavanju daljeg širenja oboljenja. Ova mera je naročito korisna u ranim fazama vegetacije i u slučaju relativno sporog širenja oboljenja. U slučaju starijih jednogodišnjih useva i kada je populacija vektora visoka, ova mera ne donosi zadovoljavajuće rezultate (Sastry i Zitter, 2014). Rano uništavanje biljaka ječma sa simptomima prugastog mozaika ječma (*Barley stripe mosaic virus*, BSMV) je smanjilo zarazu u odnosu na parcelu gde nije izvršena ova mera sa 85% na 12% (Inouye, 1962). Zink et al. (1957) su utvrdili da je višekratno uništavanje zaraženih biljaka u usevu salate doprinelo značajnom smanjenju zaraze useva od virusa mozaika salate (*Lettuce mosaic virus*, LMV). Prema Hamiltonu (1983) mera uništavanja zaraženih biljaka soje virusom mozaika soje (*Soybean mosaic virus*, SMV) je važna u serifikacionom procesu semenskih useva i proizvodnje zdravog semena za setvu. Broadbent et al. (1950) su merom uništavanja zaraženih biljaka krompira uspeli da smanje procenat zaraze Y virusom krompira (*Potato virus Y*, PVY), ali ne i virusa mozaika uvijenosti lišća krompira (*Potato leafroll virus*, PLRV).

Uništavanje zaraženih drvenastih biljaka koje predstavljaju izvor virusnih infekcija takođe predstavlja značajnu meru, pri čemu ova mera ima poseban značaj u proizvodnji

sadnog materijala. Za uspeh ove mere važni preduslovi su: relativno mali broj zaraženih stabala- izvora zaraze; sporo širenje virusne zaraze; pouzdani podaci o obimu zaraza i distribuciji zaraženih stabala; brz, pouzdan i jeftin način detekcije; operativnost za brz pregled i uništavanje (Hull, 2004; Sastry i Zitter, 2014). Kao jedan od najznačajnijih uspeha u uništavanju zaraženih biljaka se navodi primer mera zaštite protiv virusa zadebljalosti vrha banane (*Banana bunchy top virus*, BBTV) u istočnoj Australiji (Cann, 1952), kada su putem redovnog uništavanja zaraženih biljaka značaj oboljenja sveli na minimum u period za 10 godina. Dallot et al. (2004) su pratili efekat kontinuiranog uništavanja stabala breskve sa zarazom virusa šarke šljive (*Plum pox virus*, PPV) i sadnje zdravih stabala tokom 10 godina. Procenat zaraženih stabala u voćnjaku je tokom oglada smanjen, ali potpuna eliminacija virusa ovim putem nije uspela. Razlog za otkrivanje novozaraženih stabala i nakon preuzetih mera ovi autori vide u prenošenju virusa sa većih udaljenosti i u mogućnosti postojanja latentnih infekcija i drugim faktorima.

### *Dezinfekcijske mere*

Mere dezinfekcije predstavljaju efikasnu preventivnu meru pre svega kod virusa koji se veoma efikasno prenose mehanički, kao što su virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), virus mozaika paradajza (*Tomato mosaic virus*, ToMV) i drugi virusi. Jedna od osnovnih preventivnih mera je pranje ruku sapunom pre rada u usevu. Pušači posebno treba da obrate pažnju da nakon pušenja operu ruke, pošto se virus mozaika duvana može održati i u cigaretama. Pored ruku, ovi virusi se mogu održati i na odeći radnika, tako da je neophodno redovno pranje odeće deterdžentom u toploj vodi. Prema Broadbent i Fletcher-u (1963) virus mozaika duvana se na neopranoj odeći može održati i do tri godine.

Pored ruku i odeće potrebno je vršiti i redovnu dezinfekciju tehničkog materijala (Šutić, 1994). Potrebno je dezinfikovati alat i pribor koji se koriste u radu- makaze, noževe, pribor za obradu. Merama dezinfekcije se podvrgava i materijal koji služi u toplim lejama i staklarama (ramovi, nosači, pokrovna stakla, posude za klijanje semena, itd.). Kao što smo već istakli važna je i dezinfekcija zemljišta i susprata za proizvodnju. Za dezinfekciju alata i pribor, ramova i pokrovnih elemenata leja se koriste hemijska sredstva, kao što je etil alkohol, rastvor natrijum fosfata, natrijum hipohlorit, 4% formaldehid-formalin, itd. Fizička dezinfekcija se izvodi termički putem iskuvavanja, dok se zemljište tretira pregrejanom vodenom parom. Donald i Bonde (1954) su zapazili da se viroid vretenavosti krtola krompira (*Potato spindle tuber viroid*, PSTVd) prenosi pneumaticima traktora i utvrdili da pranje deterdžentom značajno smanjuje stepen prenošenja. Tokom kalemljenja neophodna je dezinfekcija kalemarskog alata, jer se i na taj način mogu prenositi biljni virusi (Smith, 1972).

Za dezinfekciju semena paradajza od virusa mozaika duvana preporučuje se da se seme paradajza pri vađenju iz plodova potopi u toku 5-6 časova u 10-20% rastvor  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  potom dobro ispere i osuši (Balaž et al., 2010). U slučaju semena paprike izlaganje trinatrijumfosfatu treba da je duže. U cilju eliminisanja unutrašnje-endogene zaraze seme paradajza treba povrdgnuti termičkoj dezinfekciji držanjem 24 sata na temperaturi od 85 C° (Balaž et al., 2010). Jasnić (1984) i Šutić (1994) kao sredstva za dezinfekciju semena paradajza i paprike navode i hlorovodoničnu kiselinu, kao i 2%-ni rastvora natrijum hidroksida. Ova dezinfekcija je uspešna protiv površinskih zaraza semena, dok se za

endogene zaraze semena paprike koristi termoterapija (Jasnić, 1984). Gooding (1975) pored navedenih hemikalija za dezinfekciju semena paradajza navodi i natrijum hipohlorit.

### *Agrotehničke mere u prevenciji virusnih zaraza*

Odabirom odgovarajućih agrotehničkih operacija možemo uticati na smanjenje intenziteta zaraze, pa čak i na potpunu eliminaciju virusnih infekcija.

### *Izbegavanje zaraze*

Glavni načini izbegavanja virusnih infekcija su obezbeđivanje prostorne razdaljine od izvora zaraze, izbor vremena setve i izbor vremena žetve.

Sa povećavanjem prostorne udaljenosti od izvora zaraze smanjuje se verovatnoća prenošenja virusa, čime se izbegavaju infekcije. Iz tih razloga se u propisima proizvodnje semena i sadnog materijala propisuju najmanje udaljenosti od potencijalnih izvora zaraze. Dobar primer ove mere je proizvodnja semenskog krompira, koja najbolje rezultate ostvaruje ukoliko se organizuje na višim nadmorskim visinama, bez blizine useva krompira u okolini i u okruženju šuma. Svi ti uslovi utiču na smanjenje verovatnoće prenošenja virusa putem lisnih vaši. Naravno, prostorna udaljenost je značajna ne samo u proizvodnji semena i sadnog materijala, nego i u komercijalnoj proizvodnji, ukoliko za to postoje uslovi. Usled usitnjenosti individualnih poseda, gajenja pojedinačnih stabala koštičavog voća i postojanja divljih *Prunus* vrsta u okruženju, u Srbiji je veoma teško obezbediti prostornu izolaciju od izvora virusa šarke šljive (*Plum pox virus*, PPV). Meru obezbeđivanja dovoljne prostorne udaljenosti je naročito teško sprovesti u praksi kod virusa sa širokim krugom domaćina, kao što je na primer virus mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV).

Minimalnu udaljenost od izvora zaraze je veoma teško odrediti, pošto kretanju vektora doprinose i vazдушna strujanja. Smatra se da je ova mera efikasnija za viruse koji se prenose na neperzistentan način, jer se tokom putovanja lisne vaši zadržavaju i na biljkama koje nisu domaćini virusa, i na njima „izgube“ viruse sa usnog aparata (Sastry i Zitter, 2014). U slučaju perzistentnog prenošenja prostorna udaljenost od izvora zaraze ima manji značaj u prevenciji zaraza.

Shepherd i Hills (1970) su utvrdili da se značajno smanjuje zaraza virusom mozaika šećerne repe (*Beet mosaic virus*, BtMV) ukoliko se obezbedi prostorna udaljenost od izvora zaraze od 10 milja (16 km). O značaju prostorne izolaciji u slučaju virusa mozaika salate (*Lettuce mosaic virus*, LMV), virusa bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), virusa žutog mozaika pasulja (*Bean yellow mosaic virus*, BYMV) i drugih virusa govore brojni literaturni podaci - Broadbent et al. (1951); Krstić et al., (2008); Hampton (1967).

Štete od virusnih infekcija su značajnije ukoliko se infekcija ostvari u ranim fazama razvoja. Nadalje, starije biljke su u nekim slučajevima i otpornije prema infekcijama a kretanje virusa u starijim biljkama sporije (Hull, 2004). Vreme setve treba prilagoditi vremenskoj promeni populacije vektora, odnosno odrediti vreme setve kojim se najviše izbegava poklapanje ranih fenofaza biljaka sa masovnom pojavom vektora. Jasnić et al. (1991) su utvrdili da se kasnom jesenjom setvom ozimih strnih žita smanjuje intenzitet zaraze sa virusom žute patuljavosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV). U Indiji se preporučuje gajenje suncokreta nakon kišne sezone, jer se time smanjuje verovatnoća

virusnih infekcija (Shirshikar, 2003). Izbegavanjem preklapanja vegetacije biljaka gajenih u plastenicima i u polju se može javiti period bez domaćina virusa i vektora (ukoliko nema korova domaćina i samoniklih biljaka), zahvaljujući čemu se može smanjiti rizik od infekcija. U delovima države Kalifornije u kojima se intenzivno gaji celer, je propisom obavezujuće da se do 6. decembra svake godine unište sve preostale biljke salate i celera na poljoprivrednim površinama i da se do 20. decembra zabranjuje setva nove generacije useva ovih biljaka (Koike et al., 2007). Time se sprečava održavanje virusa mozaika salate (*Lettuce mosaic virus*, LMV) i virusa mozaika celera (*Celery mosaic virus*, CeMV) u zaostalim biljkama posle žetve.

Pravovremenim prekidom vegetacije (izborom vremena žetve) semenskog useva krompira i uništavanjem nadzemnog dela biljaka krompira pre glavnog perioda leta lisnih vaši se izbegava zaraza virozama krompira i obezbeđuje zdrav sadni materijal za narednu vegetaciju (Balaž et al., 2010).

### *Uticao veličine parcele i gustine sklopa biljaka*

Veličina parcele utiče na intenzitet virusnih oboljenja ukoliko je izvor infekcije van parcele, odnosno ukoliko ga vektori šire iz okolnih izvora zaraze ka posmatranoj parceli. Uticaj veličine parcele zavisi i od pokretljivosti i sklonosti kretanja vektora. Prema Šutiću (1994) prve zaražene biljke se obično javljaju na ivici parcela, jer se vaši koje doleću zadržavaju pre svega na tim biljkama. Usled tog razloga biljke na malim parcelama postaju zaražene već pri prvim letovima insekta i štete na tim parcelama su značajnije. Prema istom autoru gušći sklop biljaka umanjuje štete od virusnih infekcija. Ovo potvrđuju i podaci Johnstona et al. (1982) koji su utvrdili da se pojava žutice šećerne repe smanjuje sa povećanjem gustine sklopa biljaka. Pojedinačne i krupnije biljke u ređem usevu jednogodišnjih biljaka su atraktivnije za lisne vaši, te je veća verovatnoća virusnih infekcija (Blencowe i Tinsley, 1951). Za razliku od ovih podataka Kargiotidou et al. (2014) su bezvirusne biljke sočiva gajenih radi daljeg oplemenjivanja u Grčkoj dobili upravo u veoma retkom sklopu biljaka.

Jones (2004) zaključuje da ekonomski prag šteta- uticaja virusnih infekcija na biljnu proizvodnju treba posmatrati kao rezultat složenog međuodnosa virusa, gajene biljke i tehnologije proizvodnje, na koji utiču faktori kao što su gustina sklopa, dužina izloženosti infekciji i mehanizam infekcije.

### *Suzbijanje korova*

Suzbijanje korova, domaćina virusa je agrotehnička mera koja se može uvrstiti među mere izbegavanja i smanjenje širenja virusnih infekcija. Mnogi virusi gajenih biljaka imaju širok krug domaćina među kojima se nalaze i korovske biljke. Korovi predstavljaju rezervoar virusa u kojima se virusi održavaju tokom perioda kada se ne gaje domaćini virusa i time druge preduzete preventivne mere protiv virusnih infekcija, kao što su mere prostorne i vremenske izolacije čine nedovoljno efikasnim. Naročito su značajne dvogodišnje i višegodišnje korovske biljke, gde virusi mogu da prezime i da se održavaju u delovima ovih biljaka, kao što su koreni, rizomi, lukovice i dr. tokom više godina. Tako na primer, u našim uslovima glavni izvor virusa mozaične kržljivosti kukuruza (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV) je korovska biljka divlji sirak u čijim rizomima se virus uspešno održava i tokom



zimskog perioda (Bagi, 2006). U Australiji je intenzitet pojave virusa na salati značajno smanjen sistematskim uništavanjem gorčike -*Sonchus oleraceus* (Stubbs et al. 1963).

Chen et al. (2013) navode da se vektor, leptirasta vaš *Bemisia tabaci* mnogo bolje hrani i brže povećava populaciju na korovu tatula (*Datura stramonium*) koja je zaražena virusom kovrdžavosti lista paradajza (*Tomato leaf curl virus*, TYLCV) nego na zdravim biljkama, što predstavlja vid uzajamnog povoljnog delovanja između vektora i virusa. Korovi mogu i na indirektan način doprineti širenju biljnih virusa, jer obezbeđuju hranu i životni prostor za održavanje i povećanje populacije vektora. Tako su Groves et al. (2002) utvrdili da se vektor virusa bronzavosti paradajza, trips *Frankliniella fusca* hrani na 28 različitih korova uključujući mišljakinju, maslačak, bokvicu, gorčiku i druge korovske vrste.

### *Plodored i ishrana biljaka*

Plodoredom se može smanjiti intenzitet pojave pre svega onih virusa koji se prenose organizmima u zemljištu. Dalmasso et al. (1972) su utvrdili da se gajenjem cerealijskih i mahunarki tokom 7 godina na zemljištima može iscrpeti populacija nematode *Xiphinema index*, vektora virusa infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV). Prema Milošević et al. (2006) plodored je jedna od najznačajnijih mera zaštite protiv virusa nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYSV), koji prenosi zemljišni patogen *Polymyxa betae*. Plodored je takođe značajna mera zaštite protiv virusa šuštavosti duvana - *Tobacco rattle virus*, TRV (Locatelli et al., 1978).

U poglavlju "Ekologija i epidemiologija biljnih virusa" obrađen je uticaj mineralne ishrane na epidemiologiju biljnih virusa. Generalno je mišljenje da su povećane doze azota povećavaju osetljivost biljaka prema virusnim infekcijama, kao i da su biljke gajene na plodnim zemljištima privlačnije za vektore (Šutić, 1994; Hull, 2004). Sa agronomskog stanovišta, odnosno težnje da se dobije što veći i kvalitetniji prinos gajenih biljaka, potrebno je obezbediti optimalne uslov za rast i razvoj biljaka putem izbalansirane ishrane prilagođene potrebama gajene biljne vrste.

### *Druge agrotehničke mere u cilju sprečavanja virusnih zaraza*

Radi sprečavanja virusnih zaraza gajenih biljaka koriste se i fizičke barijere, gajenje ivičnih biljaka i združeno gajenje biljaka.

Gajenje biljaka u zaštićenom prostoru primenom zaštite protiv prodora vektora u zaštićeni prostor predstavlja meru korišćenja fizičke barijere. Ova mera se međutim može primeniti i na otvorenom polju. U oblasti Mediterana se protiv vektora-leptirastih vaši i virusa kovrdžavosti lista paradajza (*Tomato leaf curl virus*, TYLCV) biljke štite pokrivanjem useva paradajza mrežom kroz koju insekti ne mogu prodrati (Cohen i Antignus, 1994). Efikasnost zaštitnih mreža protiv virusnih oboljenja je dokazana u usevima paprike, krompira, i drugih gajenih biljaka (Cohen i Marco, 1979; Zimmerman, 1979).

Setva redova biljaka druge vrste koje nisu atraktivne za vektore virusa ili nisu domaćini virusa na ivicama parcela ima za cilj da se zadrže ili odbiju vektore. Duriat et al. (1990) su utvrdili da se smanjuje intenzitet zaraze useva krompira ukoliko se parcela okružuje sa 10 redova kupusa ili slačice. Ove biljke su se pokazale efikasnijim od zaštite koju pruža kukuruz, pšenica ili raž. U slučaju prenošenja neperzistentnih virusa, vektori mogu da izgube svoju infektivnost na biljkama kupusa koje nisu domaćini virusa krompira, čime se sprečava

infekcija krompira. Slično ovom primeru, usev paprike se može štititi setvom ivičnih redova kukuruza, a šećerna repa redovima ječma ili slačice (Hooks i Ferreres, 2006). Dve gajene biljke se mogu sejati i u naizmeničnim redovima. Na primer, naizmeničnom setvom tri reda ječma i 12 redova kupusa je pojava virusa mozaika karfiola smanjena za 80% (Broadbent, 1957). Sličan efekat se može postići i združenim gajenjem biljaka, kao što su kukuruz i tikve, ili kukuruz i pasulj, što ima tradiciju i u Srbiji.

Gay et al. (1973) su ispitivali mogućnost korišćenja "mamac" biljaka koje privlače vektore, a na kojima se prenosioci virusa uništavaju sistemskim insekticidima. Hull (2004) međutim upozorava da se u slučaju neadekvatne primene insekticida postiže suprotan efekat od željenog, odnosno postoji mogućnost intenzivnijeg širenja vektora i virusa.

### *Unakrsna zaštita i zaštita satelitnim virusom*

Infekcija biljaka slabo patogenim (blagim) sojem određene vrste virusa može rezultovati sprečavanjem ili odlaganjem pojave simptoma izazvanih naknadnim infekcijama virulentnog soja iste vrste virusa. Ovu pojavu, nazvanu „unakrsna zaštita“ je prvi opisao McKinney (1929), nakon čega su usledili brojni eksperimenti kojima se ispitivala mogućnost šire primene unakrsne zaštite u praksi. Ohrabrujući rezultati primene unakrsne zaštite dobijeni su u zaštiti protiv virusa tristeza citrusa - *Citrus tristeza virus*, (CTV) na citrusima (Costa i Muller, 1980), protiv virusa mozaika duvana - *Tobacco mosaic virus*, (TMV) na paprici (Tanzi et al., 1986), virusa žutog mozaika pasulja - *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) na pasulju (Nakazono-Nagaoka, 2009), itd. Sastry i Zitter (2014) navode da je ova metoda primenjena i u zaštiti banane, krompira, papaje, vinove loze, jabuke, soje, paradajza, vrežastih biljaka, i drugih biljaka sa različitim nivoom uspešnosti. Bez obzira na uspehe u eksperimentalnim ispitivanjima unakrsne zaštite Hull (2004) navodi razloge zašto se ova mera ne koristi u značajnoj meri u praktičnoj primeni. Među najznačajnijim razlozima su što i blagi sojevi prouzrokuju smanjenje prinosa od 5-10% u odnosu na zdrave biljke; zaražene biljke predstavljaju izvor zaraze i za druge, veoma osetljive domaćine virusa; ovaj način zaštite može rezultovati nastajanjem još virulentnijih sojeva virusa; ne pruža zaštitu protiv drugih vrsta virusa, a mešane zaraze mogu prouzrokovati još veće štete; genom blagog soja se može rekombinovati sa drugim virusima i stvoriti nov virus.

Među više pretpostavki o mehanizmu unakrsne zaštite najveći broj autora naglašava mehanizam post-transkripcionog utišavanje gena (posttranscriptional gene silencing), pri čemu blagi soj pokreće odbrambeni mehanizam biljke, koji na taj način spremno dočekuje virulentniji soj koji naknadno zaražava biljku (Hull, 2004).

Zapaženo je da virus mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV) u prisustvu satelitnog RNK prouzrokuje samo blage simptome na zaraženoj biljci (Tien et al., 1987; Hull, 2004). Obim zaštite koji pružaju satelitni virusi i ribonukleinske kiseline u ogledima zavisio je od vremena ostvarivanja infekcije, od virulentnosti soja CMV i sorte paprike na kojima je ogled izveden. Slična ispitivanja sa virusom mozaika krastavca su izvedena i na duvanu, paradajzu i dinjama (Wu et al., 1989; Gallitelli et al., 1991). Veruje se da satelitna RNK sprečava replikaciju virulentnih sojeva virusa i ispoljavanje simptoma na biljkama. Ograničavajući faktor šire primene satelitnih virusa u praksi je njihova brza mutacija u nekrogene varijante koje mogu prouzrokovati značajne štete (Hull, 2004).

## *Mere protiv vektora biljnih virusa*

Po principima integralne biljne proizvodnje u merama zaštite protiv štetočina- vektora virusa neophodno je osloniti se pre svega na nepesticidne mere zaštite, dok se pesticidi koriste u slučaju prevazilaženja ekonomskog praga štetnosti pridržavajući se propisanih uslova i normi za primenu datog pesticida.

## *Nepesticidne mere protiv vektora biljnih virusa*

U okviru nepesticidnih mera protiv vektora koriste se feromoni, repelenti i atraktanti, biljna ulja, kontrola vektora predatorima i parazitima, korišćenje nehemijskih barijera protiv vektora i oplemenjivanje gajenih biljaka na otpornost prema vektoru.

Feromoni se pre svega primenjuju za praćenje brojnosti populacije i pojedinih stadijuma razvića insekata, ali u slučaju masovnog izlova se njihova primena može smatrati i načinom redukcije brojnosti vektora. Feromoni mogu doprineti smanjenju brojnosti populacije izazivanjem poremećaja u razmnožavanju insekata (Herrbach, 1992; Sastry i Zitter, 2014). Prema Gibson et al. (1984) feromoni su smanjili prenošenje Y virusa krompira (*Potato virus Y*, PVY) od strane vektora zelene breskvine vaši (*Myzus persicae*).

Isparljiva jedinjenja biljaka mogu ispoljavati repelentna svojstva u odnosu na vektore virusa. Bleeker (2009) je utvrdio da isparljiva jedinjenja gajenog paradajza predstavljaju faktor privlačenja vektora virusa iz roda *Begomovirus*. Intenzitet zaraze je smanjen kada je gajeni paradajz tretiran isparljivim jedinjenjima divljeg paradajza.

Pojavu da primena ulja smanjuje sposobnost prenošenja virusa kod lisnih vaši prvi su zabeležili Bradley (1956) i Bradley et al. (1962). Upotrebom ulja u ogledima smanjen je intenzitet virusnih zaraza na paprici, krastavcu, šećernoj repi, krompiru, ukrasnim i drugim biljkama (Sharma i Varma 1982; Sastry, 1984; Singh, 1992). Prema Sastry i Zitter (2014) tri grupe ulja se mogu koristiti za smanjenje virusnih infekcija: mineralna, silikonska i biljna ulja. Nedostatak upotrebe ulja je da imaju efekat samo u smanjenju prenošenja neperzistentnih virusa, dok ne ispoljavaju efekat u slučaju virusa koji se prenose na perzistentan način (de Wijs, 1980). Takođe ulja mogu ispoljiti negativan efekat na ekonomsku vrednost na kvalitet plodova. Nije u potpunosti razjašnjen mehanizam delovanja ulja u sprečavanju ostvarivanja virusnih zaraza. Pretpostavka je da negativno deluju na proces primopredaje čestica virusa od strane vektora, kao i na proces infekcije (Hull, 2004). Pored ulja primena masti i mleka takođe može smanjiti intenzitet virusnih zaraza. Kombinacijom ulja sa insekticidima se efekat tretiranja može značajno povećati.

U nepesticidne mere protiv vektora biljnih virusa se mogu ubrojiti i različite fizičke barijere, kao što su primena obojenih lepljivih polietilenskih navlaka (Zimmerman, 1979), primena aluminijumskog pokrova za zemljište koje odbija UV zračenje (Brown et al., 1993), primena plastičnog pokrova različitih boja i drugih pokrovnih materijala (Jones i Chapman, 1968), farbanje površine u srebrnu boju i drugih metoda odbijanja vektora.

U nepesticidne mere protiv vektora biljnih virusa spada i očuvanje i potpomaganje populacije predatora i parazita vektora (Hull, 2004).

## *Pesticidne mere protiv vektora biljnih virusa*

### Primena insekticida protiv vektora biljnih virusa

Primenom insekticida se smanjuje brojnost vektora i oštećenja gajenih biljaka, ali se dinamika prenošenja virusa značajno smanjuje samo u slučaju perzistentnog prenošenja virusa. Primena insekticida ne sprečava neperzistentno prenošenje virusa, jer je vreme koje je potrebno za prenošenje virusa kraće od vremena delovanja insekticida, te će vaš preneti virus bez obzira na insekticidni tretman. Primer razlike u efikasnosti sprečavanja prenošenja perzistentnih i neperzistentnih virusa su dva virusa krompira, odnosno virus uvijenosti lista krompira (*Potato leaf roll virus*, PLRV) i Y virus krompira (*Potato virus Y*, PVY). Širenje perzistentnog virusa PLRV se može značajno redukovati primenom insekticida, pošto je za prenošenje ovog virusa potrebna duža ishrana lisne vaši na biljci, a uginućem vaši koja je infektivna celog života se sprečava zaražavanje sledećih biljaka na kojima se vaš hrani. Za razliku od ovog primera, primenom insekticida protiv vaši vektora neperzistentnog PVY se ne postižu značajni rezultati, jer se virus prenosi brže od delovanja insekticida, a vaš brzo gubi sposobnost prenošenja virusa, te se njegovim uginućem ne postiže dalja prevencija širenja (Webley i Stone, 1972).

Kontaktne insekticidi u sprečavanju virusnih zaraza od strane vektora daju rezultate samo u slučaju česte primene, dok sistemični obezbeđuju dužu zaštitu. Redovna primena insekticida je ograničena dužinom karence, ograničenjem u broju primene tokom jedne vegetacije, potrebom za očuvanjem predatora i parazita vektora i drugim faktorima. Primena pesticida predstavlja dodatni trošak u proizvodnji a sve strožiji uslovi za produžavanje registracije i nove registracije aktivnih materija insekticida dovode do sužavanja izbora preparata za primenu, što predstavlja dodatni problem u suzbijanju vektora. Vreme tretiranja treba uskladiti sa rezultatima praćenja visine brojnosti i vremena leta vektora, o čemu podatke redovno daje Prognozno-izveštajna služba. U zatvorenom prostoru je neophodno pratiti kretanje vektora virusa putem klopki za vektore, a uporedo pratiti i populaciju predatora i parazita.

### Hemijsko suzbijanje vektora biljnih virusa u zemljištu

U suzbijanju svih vektora prednost treba pružiti nepesticidnim merama, što je u slučaju suzbijanja nematoda, gljiva i pseudogljiva još više izraženo usled visokih troškova i ekološkog rizika. Zbog toga se ova mera sprovodi pre svega u proizvodnji u zaštićenom prostoru i u slučaju useva sa visokom ekonomskom vrednošću. U proizvodnji u zaštićenom prostoru se može izvršiti fumigacija zemljišta preparatima koji su registrovani za datu namenu. Pored zaštićenog prostora fumigacija može dati pozitivne rezultate i pre sadnje vinove loze u suzbijanju nematode *Xiphinema index*, koja je vektor virusa infektivne degeneracije vinove loze -*Grapevine fanleaf virus*, GFLV (McKenry i Thomason (1974). Ogledi sa zalivanjem biljaka rastvorima fungicida ili aplikacijom fungicida u zemljište su dokazali mogućnost suzbijanja gljiva i pseudogljiva, vektora biljnih virusa (Sastry i Zitter, 2014).

## *Karantinske mere za sprečavanje širenja virusnih zaraza*

Meru sprečavanja unošenja i širenja organizama koji mogu prouzrokovati značajne štete na gajenim biljkama predstavlja i mera karantina. Usled sve intenzivnijeg međunarodnog prometa povećava se opasnost od prenošenja štetnih organizama sa kontinenta na kontinent, odnosno iz države u državu. U cilju prevencije usvajaju se i ažuriraju liste karantinskih štetnih organizama među kojima se nalaze i virusi, a na koje se vrši redovna kontrola od strane fitosanitarne inspekcije i ovlašćenih laboratorija.

U vreme pisanja ovog udžbenika na snazi je Pravilnik o listama štetnih organizama i listama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata (Sl. glasnik RS", br. 7/2010, 22/2012 i 57/2015). Datim pravilnikom štetni organizmi, pa i virusi su svrstani u nekoliko kategorija:

- Lista IA deo I: štetni organizmi za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno
- Lista IA deo II: štetni organizmi za koje je poznato da su prisutni na ograničenom području Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno
- Lista IIA deo II: štetni organizmi za koje je poznato da su prisutni na ograničenom području Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno, ako su prisutni na određenom bilju, biljnim proizvodima i propisanim objektima.

Takođe, radi sprečavanja intrudukcije i širenja štetnih organizama Pravilnik sadrži i sledeće liste

Lista IIIA: vrste bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata čiji je uvoz zabranjen u Republiku Srbiju

Lista IVA deo I: vrste bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata za koje su propisani specifični fitosanitarni uslovi pri uvozu

Lista IVA deo II: vrste bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata namenjenih prometu za koje su propisani specifični fitosanitarni uslovi prilikom premeštanja

Lista VA deo I: vrste bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata za koje je obavezan fitosanitarni pregled radi izdavanja biljnog pasoša

Lista VB deo I: vrste bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata za koje je pri uvozu obavezan fitosanitarni pregled koje mora da prati fitosanitarni sertifikat.

Liste se usklađuju sa Direktivama Evropske Unije u skladu sa domaćim naučnim saznanjima. O promenama liste razmatra Savet za zdravlje bilja formirano od strane Ministarstva poljoprivrede, dok Pravilnik donosi ministar poljoprivrede.

Takođe, Ministarstvo poljoprivrede svake godine donosi dokument- Program mera za datu godinu, koji obezbeđuje:

- 1) stalni nadzor nad biljem putem službenog procesa beleženja, prikupljanja i obrade podataka o prisustvu ili odsustvu štetnih organizama na bazi fitosanitarnih pregleda, praćenja, provere zdravstvenog stanja ili drugih procedura i na osnovu svih ostalih raspoloživih izvora. Stalni nadzor sprovodi se na svim biljnim vrstama čije je gajenje od značaja za Republiku Srbiju ili pojedine regione, šumskim područjima i javnim površinama na bazi pripreme i dostavljanja izveštaja o prisustvu štetnih organizama;
- 2) poseban nadzor nad štetnim organizmima, propisan ovim programom, sprovodi se u utvrđenom vremenskom periodu, radi otkrivanja štetnih organizama ili utvrđivanja osobenosti njihove populacije ili utvrđivanja granice područja u kome su prisutni ili odsutni.

Radi obezbeđivanja kontrole i sledljivosti pošiljaka biljaka, proizvođači i distributeri biljnog materijala se upisuju u registar, dok pošiljku prati fitosertifikat, odnosno biljni pasoš.

Izdavanje ovog dokumenta je regulisano Pravilnikom o fitosanitarnom pregledu bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata i o biljnom pasošu (Službeni glasnik Republike Srbije”, broj 23/12). Ovim pravilnikom bliže se propisuje način stavljanja u promet bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata u zaštićeno područje, unutar tog područja i kroz zaštićeno područje; uslovi za obavljanje fitosanitarnog pregleda, način obavljanja fitosanitarnog pregleda, kao i povremenog fitosanitarnog pregleda i rokovi za njihovo sprovođenje; sadržina, obrazac biljnog pasoša po vrstama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata, način izdavanja biljnog pasoša, sadržina i način vođenja evidencije i obrazac evidencije; uslovi pod kojima se može izdati zamena biljnog pasoša i način izdavanja zamene biljnog pasoša; način i rokovi za prijavljivanje promena, odnosno stavljanja u promet u zaštićeno područje, kao i način upotrebe biljnog pasoša.

Biljni pasoš je službena etiketa, isprava ili druga službena oznaka kojom se potvrđuje da bilje i biljni proizvodi koji se premeštaju odnosno stavljaju na tržište unutar teritorije Republike Srbije ispunjavaju propisane fitosanitarne zahteve, i izdaje se nakon obavljenog fitosanitarnog pregleda.

Ovaj sistem se u uslovima jedinstvenog tržišta Evropske unije primenjuje od 1993. godine. Biljni pasoš predstavlja dokaz da su bilje i biljni proizvodi koji se premeštaju sa mesta proizvodnje zdravstveno ispravni, a u slučaju izbijanja zaraze osigurava sledljivost do izvora zaraze.

### *Mera eradikacije*

Ukoliko se na određenu teritoriju introdukuje novo virusno oboljenje, preduzimaju se mere eradikacije, odnosno uništavanja izvora zaraza. Ova mera se može odnositi na pojedinačne biljke, pošiljke biljaka, a teritorijalno na pojedine parcele ili regione. Verovatnoća uspeha je veća ukoliko ga je potrebno izvesti na manjem području. Uspeh je često ograničen usled postojanja većeg broja domaćina virusa na datoj površini. Primeri uspešne eradikacije se često vezuju za ostrvske zemlje koje su izolovanije i zaštićenije od novih introdukcija virusa. Dobar primer su mere preduzete na Kipru, gde je eradikacija sprečila širenje virusa žute kovrdžavosti lišća paradajza, *Tomato yellow leaf curl virus*, TYLVC (Sastry i Zitter, 2014).

U Kanadi je virus šarke šljive (*Plum pox virus*, PPV) prvi put utvrđen 2000. godine u državi Ontario. U sledećih osam godina Kanada je izdvojila 143,6 miliona dolara za program eradikacije ovog oboljenja.

### *Oplemenjivanje biljaka tradicionalnim metodama*

Usled nepostojanja efikasne hemijske zaštite protiv virusnih oboljenja, oplemenjivanje biljaka na otpornost prema virusima je od posebnog značaja. Oplemenjivanje prema fitopatogenim virusima može imati za cilj sprečavanje ostvarenja infekcija, sprečavanje razvoja oboljenja, stvaranje hipersenzibilne reakcije kod biljaka ili tolerantnost. Otpornost stvorena oplemenjivanjem može biti horizontalna (koja pruža zaštitu protiv svih sojeva jednog virusa) ili vertikalna koja obezbeđuje otpornost samo prema pojedinim sojevima. Otpornost takođe može biti monogenog ili poligenog karaktera (Horváth i Gáborjányi, 1999).

## *Otpornost prema ostvarenju infekcija*

Ovaj vid otpornosti se zasniva na stvaranju osobina koje sprečavaju infekciju od strane vektora. Najčešće se postiže putem ukrštanja sa divljim srodnicima, čime se dobija zadebljala kutikula, veća maljavost listova ili druge osobine. Gunasinghe et al. (1988) su utvrdili da su pojedini genotipovi soje otporni prema virusu mozaika soje (*Soybean mosaic virus*, SMV), zahvaljujući visokoj maljavosti listova, a time i otpornosti prema vašima *Aphis citricola*, *Myzus persicae* i *Rhopalosiphum maidis*, pošto maljavost sprečava ishranu vaši na listovima. Amin (1985) je utvrdio otpornost arahisa prema virusu bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), koja se bazira na opornosti sorte prema tripsu, vektoru virusa.

## *Otpornost kao rezultat sprečavanja razvoja oboljenja*

Ovaj tip otpornosti predstavlja sprečavanje replikacije i širenje virusa u biljnom tkivu i stvaranje nasledne otpornosti prema svim poznatim sojevima jednog virusa. Najčešće se bazira na prisustvu jednog gena.

Gen paradajza Tm pruža zaštitu od virusa mozaika paradajza (*Tomato mosaic virus*, ToMV), soja TM-O putem sprečavanja replikacije čestica i time pojave sitemičnih simptoma na biljkama (Horváth i Gáborjányi, 1999). U slučaju otpornih genotipova krompira prema virusu uvijenosti lišća krompira (*Potato leaf roll virus*, PLRV) sprečeno je širenje čestica virusa u floemu, što dovodi do manje uspešnog usvajanja virusa od strane vektora pri ishrani (Barker i Harrison, 1986). Širenje virusa u biljnom tkivu je sprečeno i u slučaju otpornih genotipova kukuruza prema virusu mozaične kržljivosti kukuruza, *Maize dwarf mosaic virus* – MDMV (Lei i Agrios, 1986).

Smatra se da virusna infekcija u biljnom tkivu pokreće odbrambeni mehanizam i niz biohemijskih reakcija u kojima ulogu ima i salicilna kiselina (SA). Kao rezultat ovih procesa nastaju jedinjenja kao što su etilen, jasmenska kiselina, protooksid azota, protein sistemin i drugi koji imaju ulogu u odbrambenoj reakciji biljke. Ovaj vid otpornosti je definisan i kao SAR (Systemic acquired resistance), odnosno sistemično stečena otpornost (Hull, 2004).

## *Otpornost putem stvaranja hipersenzibilne reakcije*

U slučaju hipersenzibilne otpornosti se nakon ostvarenja infekcije razvija brza lokalna nekroza, tj. izumiranje (nekroze) susednih ćelija oko mesta prodora virusa u biljnu ćeliju. Ovaj tip reakcije prouzrokuje lokalizaciju, odnosno sprečavanje daljeg širenja virusa u biljnom tkivu. Najčešće se zasniva na jednom genu otpornosti. Pored lokalnih nekroza može se razviti i sistemična nekroza, kada zaražena biljka izumire i više ne predstavlja izvor oboljenja za naredne infekcije.

Poznat je veći broj gena krompira koji protiv različitih virusa obezbeđuju lokalnu hipersenzitivnost. Tako prema Y virusu krompira (*Potato virus Y*, PVY) ovu reakciju obezbeđuje gen Ny, u slučaju X virusa krompira (*Potato virus X*, PVX) to su geni Nx i Nb, kod S virusa krompira (*Potato virus S*, PVS) gen Ns, a kod M virusa krompira (*Potato virus M*, PVM) gen Na. Gen NI rezultuje sistemičnom nekrozom u slučaju infekcije virusom uvijenosti lišća krompira (*Potato leaf roll virus*, PLRV) tako da nije pogodan za rad u

oplemenjivanju. Kod paprike su identifikovani geni odgovorni za hipresenzitivnu reakciju prema virusu mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV), virusu mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), Y virusu krompira (*Potato virus Y*, PVY) i drugim virusima (Horváth i Gáborjányi, 1999).

## *Tolerantnost*

U slučaju nedostatka gena koji pružaju potpunu otpornost prema virusnim infekcijama, pribegava se stvaranju tolerantnosti prema virusima. Tolerantne biljke se zaražavaju virusima, ali reaguju blažim simptomima i manjim smanjenjem prinosa. Istovremeno, virus se umnožava u biljkama, te one predstavljaju izvor novih infekcija. Zahvaljujući recesivnim genima  $r_{m1}$  i  $r_{m2}$  sorta duvana Ambalema je tolerantna prema virusu mozaika duvana -*Tobacco mosaic virus*, TMV (Hull, 2004). Geni koji obezbeđuju tolerantnost su ugrađeni u ječam protiv virusa žute patuljavosti ječma -*Barley yellow dwarf virus*, BYDV (Jin et al., 1998); u papriku protiv virusa mozaika krastavca- *Cucumber mosaic virus*, CMV (Lapidot et al., 1997); salatu protiv virusa mozaika salate – *Lettuce mosaic virus*, LMV (Redondo et al., 2001) i brojne druge biljke. U regionima sa visokom pojavom virusa šarke šljive (*Plum pox virus*, PPV) pribegava se gajenju tolerantnih sorti šljive i drugih gajenih biljaka, domaćina virusa.

## *Vegetativna otpornost*

Vegetativna otpornost se zasniva na uticaju otpornih podloga na povećanje opšte otpornosti nakalemljenih delova biljaka prema virusnim zarazama (Šutić, 1994). Ovaj autor je korišćenjem otpornih podloga magriva i crnog trna dobio pozitivne rezultate u vidu isčezavanja simptoma šarke šljive kod osetljivih plemki. Vegetativna otpornost je zapažena i kod nekih zeljastih biljaka, kao što je kalemljena tikva. Vulić et al. (2011) opisuju poseban vid otpornosti prema virusu šarke šljive, koju nazivaju sektorijalna otpornost, a koja se ispoljava izostankom simptoma na delovima krune i skeletnih grana stabla šljive.

## *Transgena otpornost biljaka prema virusnim oboljenjima*

U momentu pisanja ovog udžbenika (2015/16) u Srbiji je na snazi zakon iz 2009. godine, kojim su zabranjeni promet, prodaja i gajenje genetički modifikovanih organizama (GMO). Na nivou EU krajem 2014 je usvojena nova direktiva koja propisuje odlučivanje o gajenju GMO biljaka na nivo država članica. Od pojave prvih genetski modifikovanih proizvoda do danas se vode diskusije genetičara, agronoma, tehnologa, ekonomista, pravnika i celokupne javnosti o etičkim, zdravstveno-bezbedonosnim, ekološkim, ekonomskim, pravnim i drugim aspektima gajenja GMO biljaka i prometovanja proizvoda dobijenih od njih.

Transgena otpornost na viruse se prema poreklu gena na kojima se zasniva, može podeliti na dve kategorije (Kavanagh i Spillane, 1995; Nagl, 2003):

- Geni uneseni u biljku ne potiču od patogena, kao što su geni za sintezu antitela ili antiviralnih proteina.



- Otpornost poreklom iz patogena, koja se zasniva na činjenici da ako se transgen, poreklom iz patogena, ili njegov produkt, ispolje u biljnoj ćeliji u nefunkcionalnoj formi, u prevelikoj količini ili u neodgovarajućem stadijumu replikacije virusa, mogu da inhibiraju infekciju transformisane biljke datim patogenom.

Iako mnogi mehanizmi otpornosti poreklom iz patogena nisu u potpunosti razjašnjeni, ova otpornost bi se mogla podeliti u dve klase (Dempsey et al., 1998, Nagl, 2003):

- Otpornost kao rezultat ispoljavanja (ekspresije) virusnog proteina

Prvi primer transgene otpornosti na viruse putem ekspresije gena za virusni protein bila je transformacija duvana ubacivanjem gena za protein omotača virusa mozaika duvana (TMV) (Powell Abel et al., 1986). Kod transformisanih biljaka je došlo do nakupljanja proteina virusnog omotača u listovima, a inokulisane biljke sa TMV nisu pokazivale simptome zaraze, ili su se oni javili kasnije u znatno manjoj meri. Što se tiče mehanizma ove otpornosti, smatra se da prisustvo proteina virusnog omotača u transgenim ćelijama onemogućava dekapidaciju virusa i vezivanje ribozoma za virusnu RNK (Beachy et al., 1990; Reimann-Philipp i Bechy, 1993). Pored toga, prisustvo proteina omotača u ćelijama delimično onemogućuje međucelijski transport virusa (Bendahmane et al., 2002).

Drugi sistem transgene otpornosti putem ispoljavanja virusnog proteina, predstavlja unošenje nefunkcionalnih gena za proteine kretanja, čime se onemogućuje vezivanje virusnih čestica za plazmodezme, (Beck et al., 1994), kao i ometanje međucelijskog transporta i kretanje kroz sprovodne sudove (Seppaenen et al., 1997; Nagl, 2003).

- Otpornost na osnovu RNK

Za ispoljavanje transgene otpornosti nije uvek potrebna ekspresija unetog svojstva, već se kao glavni faktor javlja homologija između sekvence transgena i virusne RNK (Guo et al., 1999). Ovaj tip otpornosti je vezan za pojavu utišavanja gena ("gene silencing"), pod kojom se podrazumeva delimičan ili potpun nedostatak ispoljavanja (ekspresije) gena, do čijeg je ispoljavanja ranije dolazilo, ili bi u nedostatku utišavanja gena moglo doći (Bruening, 1998). Postoje dva tipa utišavanja gena na osnovu homologije: (i) transkripciono utišavanje gena (TGS), koje podrazumeva interakciju gena koji imaju homologne sekvence promotora, i (ii) post-transkripciono utišavanje gena (PTGS), koje podrazumeva razgradnju određene sekvence RNK u citoplazmi, pri čemu su geni koji stupaju u interakciju homologni u sekvenci produkta transkripcije, odnosno iRNK (Kooter et al., 1999; Di Serio et al., 2001; Nagl, 2003).

Transgena otpornost na osnovu RNK je posledica post-transkripcionog utišavanja gena, bez obzira na orijentaciju unešenog fragmenta (Goodwin et al., 1996; Waterhouse et al., 1998; Nagl, 2003). Iako mehanizam utišavanja nije u potpunosti razjašnjen, smatra se da u njemu glavnu ulogu ima formiranje kratkih dvolančanih RNK, koje zatim učestvuju u razgradnji informacione RNK (Waterhouse et al., 2001; Vazquez et al., 2002).

## *Gajene biljaka sa transgenom otpornošću prema fitopatogenim virusima*

Biotehnoškim metodama, kao rezultat ispoljavanja virusnog proteina dobijene su otporne biljke prema virusu mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*, AMV), kod paradajza, graška, duvana i lucerke; prema virusu mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV) u slučaju tikvi, duvana, krastavca, paprike, paradajza; prema virusu infektivne degeneracije vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV) kod vinove loze; prema Y, X i S virusu

krompira kod krompira, itd. (Sastry i Zitter, 2014). Ovim biotehnološkim postupkom stvorene su prema virusima otporne biljke ječma, pasulja, salate, pirinča, soje, šećerne trske, slatkog krompira, suncokreta i drugih biljaka.

Otpornost prema virusima korišćenjem RNK virusa dobijena je kod pšenice i ječma (prema virusu prugastog mozaika ječma, *Barley stripe mosaic virus*, -BSMV), paprike (prema virusu mozaika krastavca, *Cucumber mosaic virus*, -CMV), duvana (prema virusu mozaika duvana, *Tobacco mosaic virus*, TMV i prema virus šuštavosti duvana, *Tobacco rattle virus*, TRV), itd. Na ovaj način stvorene su otporne biljke prema virusima i kod paradajza, kukuruza, kasave, citrusa, graška i drugih biljaka (Sastry i Zitter, 2014).

Putem biotehnologije dobijeni su genotipovi gajenih biljaka koji su otporni prema virusima čime se eliminišu štete od pojedinih virusa i obezbeđuje stabilan prinos. Prema podacima Gonsalves-a (2004) proizvodnja papaje je na Havajima spašena putem gajenja genetski modifikovanih biljaka otpornih prema virusu prstenaste pegavosti papaje (*Papaya ringspot virus*, PRSV). U periodu od 1992 do 1998 proizvodnja ovog voća na Havajima se usled šteta od virusnog oboljenja smanjila sa 25 000 na 12 000 tona, ali je 2001 opet dostigla raniji nivo zahvaljujući transgenim sortama papaje (Murphy, 2011).

Genotipovi šljive otporne na šarku šljive dobijene su i genetičkim inženjeringom (Vulić et al., 2011). Transgeni klon C-5 pokazao je potpunu poljsku otpornost na ovaj virus tokom osam, odnosno 10 godina istraživanja (Malinowski et al., 2006.; Kamenova et al., 2010).

Na afričkom kontinentu dnevni obrok oko 800 miliona ljudi zavisi od prinosa krtolaste biljke kasave, koja je glavni izvor ugljenih hidrata za stanovništvo. Gubici u prinosu ove biljke od virusnih oboljenja i glad koja je rezultat smanjenja prinosa se upoređuju sa pustošenjem koju je plamenjača krompira prouzrokovala u Irskoj tokom XIX veka. Taylor et al. (2012) u okviru projekta nazvanog VIRKA rade na razvoju GM useva namenjenog afričkom kontinentu koji bi umanjio ljudske gubitke prouzrokovane gubicima u hrani.

Obezbeđivanjem otpornosti prema virusima, drugim štetnim organizmima, kao i abiotičkim faktorima, primena biotehnologije može omogućiti stabilniju i ekonomski povoljniju biljnu proizvodnju. I pored tih prednosti i ispitivanja o bezbednosti transgenih biljaka pre stavljanja u promet postoji zabrinutost, pa i oštro protivljenje u vezi primene biotehnologije u pogledu uticaja GM useva na prirodnu sredinu i biodiverzitet; zagađenja genima (širenje gena putem polena GM biljaka); toksičnosti GM biljaka usred promenjenog metabolizma; zdravstvene bezbednosti, alergenosti GM hrane, i drugih aspekata (Seralini et al., 2012; Sastry i Zitter, 2014).

### XIII POSEBNA BILJNA VIRUSOLOGIJA (BAGI, F.)

U okviru ovog dela udžbenika virusi će se obrađivati prema sistematici koja je prikazana u poglavlju Nomenklatura i klasifikacija virusa, pri čemu će se detaljnije govoriti o ekonomski najznačajnijim virusima prouzrokovateljima viroza gajenih biljaka.

#### EKONOMSKI ZNAČAJNIJI BILJNI VIRUSI ČIJI JE GENOM SAČINJEN OD DVOSPIRALNE RNK

##### *Virus hrapave patuljivosti kukuruza (Maize rough dwarf virus, MRDV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Reoviridae*  
Rod *Fijivirus*

##### *Rasprostranjenost*

Južna Amerika: (Argentina), Azija (Kina, Izrael, Iran, Južna Koreja). Evropa: Nemačka, Grčka, Italija, Norveška, Francuska, Češka Republika, Španija, itd. Nema pouzdanih podataka o pojavi virusa u Srbiji (Dovas et al., 2003; Ortiz et al., 2014; EPPO, 2015).

##### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika 70 nm. Genom je sačinjen od 10 segmenata dvospiralne RNK označenih sa S1-10 (Brunt et al., 1996). Ima dvostruki omotač, odnosno proteinski omotač sa ovojnicom i sa izraštajima na površini čestica. Proteinski omotač virusa sastavljen je od različitih proteina.

##### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa su pored kukuruza i druge biljke iz familije *Poaceae*, kao što su korovi obična svračica (*Digitaria sanguinalis*), veliki muhar (*Echinochloa crus-galli*), obični ljulj (*Lolium perenne*), lepljivi muhar (*Setaria verticillata*) i drugi. Prema Šutiću (1995) u eksperimentalne domaćine virusa se mogu ubrojiti i pšenica, ječam i ovas.

##### *Patogeneza*

Prenosi se cikadama *Delphacodes propinqua*, *Dicranotropis hamata*, *Laodelphax striatellus*, *Javasella pellucida*, *Sogatella vibix* na perzistentan način. Umnožava se u vektoru i zadržava se u njemu i nakon presvlačenja. Mehanički je virus prenet samo eksperimentalno (Louie i Abt, 2004).

##### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

U slučaju ranih zaraza kukuruza dolazi do zaostajanja u porastu, patuljivosti i izostanka prinosa (Lovisol, 1971). Na donjim listovima se mogu pojaviti i izraštaji-enacije. Dovas et al. (2003) među simptome ubrajaju i smanjivanje dimenzija klipova i crvenilo listova. U slučaju kasnijih infekcija nema značajnog zaostajanja u porastu, te su enacije glavni simptom oboljenja na tim biljkama.

#### *Mere suzbijanja*

U glavne mere suzbijanja se ubrajaju uništavanje korova-domaćina virusa, smanjenje populacije vektora i setva tolerantnih hibrida kukuruza. Antignus et al. (2008) su primenom insekticida u Izraelu suzbili vektora *Laodelphax striatellus* i povećali prinos kukuruza za 22-59%.

#### *Virus tumoralnih rana (Wound tumor virus, WTV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Reoviridae*

Rod *Phytoreovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Utvrđen je na teritoriji Severne Amerike.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima izometrijske čestice, prečnika oko 70 nm. Genom virusa je ds RNK, koja je raspoređena u 12 fragmenata. Ima dvodelni proteinski omotač, kojeg sačinjava sedam vrsta proteina (Reddy i MacLeod, 1976). Spoljašnji kapsid ima triangulacioni broj T=13, a unutrašnji T=2 (Hulo et al., 2011).

#### *Krug domaćina*

Može se javiti na predstavnicima 20 porodica dikotiledonih biljaka (Black, 1970). Najčešći domaćini su ljubičasta detelina (*Trifolium incarnatum*) i žuti kokotac (*Melilotus officinalis*).

#### *Patogeneza*

Prenosi se cikadama *Agalliopsis novella*, *Agallia constricta* i *A. quadripunctata* na perzistentan način. Umnožava se u vektoru i zadržava nakon presvlačenja. Može se preneti jajnim leglima na sledeće generacije vektora (Brunt et al., 1996).

#### *Simptomatologija*

Na detelini se javlja abnormalno proširivanje lisnih nerava sa naličja lista i formiranje tumora u osnovi bočnih korenova. U ređim slučajevima se mogu javiti tumori i na stablu.

#### *Mere suzbijanja*

Uništavanje korova- domaćina virusa i suzbijanje vektora predstavljaju osnovne mere suzbijanja.

## EKONOMSKI ZNAČAJNIJI BILJNI VIRUSI ČIJI JE GENOM SAČINJEN OD JEDNOSPIRALNE POZITIVNE (+) RNK

### *X virus krompira (Potato virus X, PVX)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Alphaflexiviridae*

Rod *Potexvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Rasprostranjen je širom sveta gde se gaji krompir. U našoj zemlji virus zaražava veoma mali procenat biljaka i nema ekonomski značaj (Milošević, 2009).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima končaste čestice, dužine 515 nm i prečnika (širine) 13 nm (Brandes, 1964; Slika XIII.1.). Genom je sačinjen od ss (+) RNK, na 5' kraju ima kapu od metilgvanozina, a na 3' kraju poliadenilni rep (Hulo et al., 2011). Proteinski omotač čini 94% mase čestice, sačinjen je od jednog polipeptida organizovanog u 1270 proteinskih podjedinica.



Slika XIII.1. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Potexvirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Zaražava preko 240 vrsta biljaka iz 16 porodica (Koenig i Lesemann, 1989). Najznačajniji su domaćini iz porodice *Solanaceae*, krompir, paradajz i duvan.

#### *Patogeneza*

U prirodi se prenosi pre svega mehanički- dodirrom zdravih i obolelih biljaka, kao i aktivnošću čoveka. Prema podacima Lange-a (1978) gljiva *Synchytrium endobioticum* može biti vektor virusa. Walters (1952) navodi da skakavac *Melanoplus diferencialis* može preneti virus. Virus može biti prenet i vilihom kosicom.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi variraju u zavisnosti od soja virusa, genotipa biljke i ekoloških uslova.

Na listovima krompira prouzrokuje blag mozaik, ili je latentan. Na duvanu prouzrokuje šarenilo ili nekrotičnu pegavost, a na paradajzu mozaik i blago zaostajanje u porastu. Na navedenim biljkama se virus često nalazi u mešanim zarazama sa drugim virusima (Koenig i Lesemann, 1989). Spada u umereno štetne viroze, na krompiru prouzrokuje smanjenje virusa od 10-20% (Koenig i Lesemann, 1989). Nasuprot ovom podatku, Milošević (2009) navodi da neki sojevi mogu prouzrokovati gubitke i do 50%.

### *Mere suzbijanja*

Sadnja zdravih krtola krompira. Higijenske mere u cilju sprečavanja mehaničkog prenošenja virusa. Prostorna udaljenost između parcela krompira i parcela pod duvanom i paradajzom.

## *Pepino mozaik virus (Pepino mosaic virus, PepMV)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Alphaflexiviridae*

Rod *Potexvirus*

### *Rasprostranjenost*

Afrika (Južnoafrička Republika), Amerika (Kanada, Čile, Meksiko, Peru, SAD), Azija (Sirija), Evropa (Austrija, Belgija, Bugarska, Kipar, Danska, Francuska, Nemačka, Mađarska, Italija, Španija, Velika Britanija, itd.) (EPPO, 2015).

Radi sprečavanja introdukcije i širenja virusa na teritoriji Evropske unije, Evropska komisija je donela odluku o stavljanju pepino mozaik virusa na A2 Alert listu (no 369, 2004/200/EC)

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima končaste čestice dužine 510 nm, širine 12,5 nm (Koenig et al., 1989). Proteinski omotač je sagrađen od jednog polipeptida. Genom je jednodelan, ss (+) RNK sa poliadenimnim završetkom na 3' kraju. Utvrđeno je više sojeva virusa, originalni izolat iz Peru-a (LP), evropski (EU), američki (US1 i US2) i čileanski (CH2) (Hanssen i Thomma, 2010).

### *Krug domaćina*

Virus je prvo izolovan sa vrste *Solanum muricatum*, biljke "pepino", po čemu je virus i dobio ime. U Evropi je od ovog virusa najviše ugrožen paradajz, a osetljive biljke prema ovom virusu su i druge biljke iz porodice *Solanaceae* krompir, patlidžan i duvan. Sa ovim virusom je veštački zaražen i krastavac (Brunt et al., 1996). Utvrđen je na tatuli, kao i na drugim korovskim vrstama (Cordoba et al., 2004; EPPO, 2015; Blystad et al., 2015).

### *Patogeneza*

Nije poznat vektor virusa. Lako se prenosi mehanički putem direktnog kontakta obolelih i zdravih biljaka, kao i aktivnošću čoveka. Na semenu je detektovan u niskom procentu (Krinkels, 2001). Postoji mogućnost da oprašivači bumbari (iz roda *Bombus*) imaju ulogu u prenošenju virusa (Hanssen i Thomma, 2010).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na paradajzu simptomi podsećaju na oštećenja od herbicida. Vršni deo biljaka zakržljava. Liske su sužene i klobučave, sa žutim pegama i mrljama, može doći i do pojave nekrotičnih promena. Na plodovima se javlja mramravost ili "tigrasta" prugavost (Spencea et al., 2006). Mrke pruge se mogu pojaviti i na stablu. Simptomi variraju u zavisnosti od uslova spoljašnje sredine. Spencea et al. (2006) navode da usled promena na plodovima virus prouzrokuje značajan gubitak u kvalitetu paradajza, te se zaraženi plodovi svrstavaju u niže klase kvaliteta, što se negativno odražava na ekonomičnost proizvodnje. Prema podacima de Buck i Stijger-a (2002) postoji sinergizam između pepino mozaik virusa i gljivičnog oboljenja-verticilioznog uvenuća, što dovodi do još značajnijih ekonomskih gubitaka.

### *Mere suzbijanja*

Pošto se virus prenosi mehaničkim putem, mere higijene u proizvodnji predstavljaju osnovu uspešne zaštite. Preporučuju se uklanjanje zaraženih biljaka, ograničenje ulaza u zaštićeni prostor i kretanja u njemu, dezinfekcija ruku, odeće i alata. Kutije u koje se pakuju ubrani plodovi paradajza se ne smeju premeštati sa zaraženih u nezaražene delove zaštićenog prostora. Isto to se odnosi i na cevi i druge delove sistema za navodnjavanje. Pre zasnivanja proizvodnje ili između ciklusa proizvodnje važna je dezinfekcija celog zaštićenog prostora. U Španiji je utvrđeno da korovi mogu predstavljati bezsimptomne domaćine virusa, te je važno njihovo uništavanje. Na veća rastojanja se virus može proširiti semenom, te je zdravo i dezinfikovano seme važan preduslov u prevenciji. Radi sprečavanja introdukcije i širenja ovog virusa u Republiku Srbiju, Ministarstvo Poljoprivrede je donelo Naredbu o sprovođenju fitosanitarnih pregleda radi otkrivanja virusa mozaika pepina, kao i o merama koje se preduzimaju u slučaju štetnog organizma (Službeni Glasnik RS, 54, 2011). Poseban nadzor u usevu paradajza za ovaj virus je predviđen i Pravilnikom o utvrđivanju programa mera zaštite zdravlja bilja za 2015. godinu.

### *Virus brazdavosti stabla jabuke (Apple stem grooving virus, ASGV)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Capillovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Afrika: Egipat, Maroko, Južnoafrička Republika. Amerika: Brazil, Kanada, SAD. Azija: Kina, Indija, Izrael, Severna Koreja, itd. Evropa: Austrija, Belgija, Bosna i Hercegovina, Hrvatska, Mađarska, Srbija, Francuska, Rumunija, itd. Australija: Novi Zeland, Australija (EPPO, 2015). Verovatno je rasprostranjen svuda gde se jabuka gaji (Yoshikawa, 2000).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima končaste čestice dužine oko 620 nm, širine 12 nm (Slika XIII.2). Genom je jednodelni ss (+)RNK, koji čini oko 5% mase čestice. Proteinski omotač je sačinjen od jednog polipeptida (Yoshikawa i Takahashi, 1992).



Slika XIII.2. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Capillovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćin je jabuka, a može se javiti i na drugim drvenastim biljkama iz porodice *Rosaceae*, kao što su kruška, japanska kruška (Shim et al., 2004). Clover et al. (2003) su utvrdili soj virusa na biljci kivi. Utvrđen je i u pojedinim ukrasnim biljkama (Tang et al., 2010). Soj virusa koji je nekada smatran posebnim virusom *Citrus tatter leaf virus* je

izolovan sa citrusa i ljiljana. Eksperimentalno je prenet i na druge biljne vrste na kojima često nema simptoma.

#### *Patogeneza*

Prenosi se kalemljenjem, ne prenosi se putem vektora. Eksperimentalno je prenet semenom korova pepeljuge (Brunt et al., 1996).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Prvo je opisana na jabuci sorte Virginia Crab, na kojoj prouzrokuje brazdavost stabla, formiranje mrkih linija na stablu i nepravilno srastanje podloge i plemke (Slika XIII.3.). Na drugim genotipovima jabuke često izostaje ispoljavanje simptoma (Németh, 1986). Postoje podaci da u slučaju kalemljenja zaražene plemke na podlogu *Malus sieboldii* ili *Malus sieboldii* var. *arborescens* virus prouzrokuje simptome u kruni jabuke (uvijanje listova, naboranost i nekroza listova), pri čemu je tip simptoma nazvan "apple top working disease" (Yanase, 1983; Brakta et al., 2013). Takođe prouzrokuje nepravilno srastanje kalemljenog pupoljka kod citrusa. Prema Lovisolo et al. (2003) virus može prouzrokovati i nateklost plodova mandarina. Cambell et al. (1963) su utvrdili sa virus može smanjiti rod Zlatnog delišesa i za 30%, dok su Maxim et al. (2004) dokazali da su zaražena stabla niža i manjeg prečnika krune od zdravih.



Slika XIII.3. Simptom virusa brazdavosti stabla jabuke na Virginia crab (Foto: Paunović)  
*Mere suzbijanja*

Pošto se prenosi putem kalemljenja, osnova uspešne zaštite je korišćenje zdravstveno kontrolisanog sadnog materijala. EPPO sertifikacione šeme za jabuku i krušku nalažu testiranje sadnog materijala i za ovaj virus- testove inokulacije na zeljastim i drvenastim indikator biljkama, serološke i molekularne tehnike (EPPO, 1999). Virus se uspešno može



eliminirati iz kalem grančica jabuke putem termoterapije, držanjem na 30 °C tokom 36 dana (De Sequeira i Posnette, 1969). James (2010) je virus eliminirao putem hemoterapije, kombinacijom kvercetina i ribavirina.

### *Virus naboranosti borovnice (Blueberry scorch virus, BLScV)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Carlavirus*

#### *Rasprostranjenost*

Severna Amerika (Kanada, SAD), Evropa (Italija, Poljska). Prema podacima EPPO, virus je lokalno prisutan na teritoriji Evropske unije, te je svrstan na A2 alert listu (EPPO, 2014).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima končaste čestice, dužine oko 690 nm, širine 14 nm, koje sadrže jednodelni ss (+) RNK genom (Slika XIII.4.). Proteinski omotač je sastavljen od jednog proteina.



Slika XIII.4. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Carlavirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Virus je izolovan sa različitih vrsta roda *Vaccinium*, odnosno različitih vrsta borovnice (EPPO, 2005).

#### *Patogeneza*

Na veće udaljenosti se prenosi zaraženim sadnicama borovnice. Ovu mogućnost povećava postojanje zaraženih biljaka koje ne ispoljavaju simptome. Ne prenosi se dodiranjem zaražene i zdrave biljke. Tokom vegetacije se može preneti lisnom vaši borovnice (*Ericaphous fimbriata*) na neperzistentan način (Bristow et al., 2000).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi variraju u širokom rasponu, od potpunog izostanka vidljivih promena, do nekroze i izumiranja biljaka. Može doći do delimične ili potpune nekroze cvetova, listova i izdanaka. Među simptome se ubraja i ivična hloroza listova. Prepoznavanje uzroka otežava i veoma dug latentni period, koji može iznositi i do dve godine (EPPO, 2005). Sa povećanjem proizvodnje borovnice u Evropi predviđa se povećanje značaja virusa. Uvozom sadnica iz Severne Amerike, gde je oboljenje značajno rasprostranjeno, se povećava opasnost od introdukcije, pri čemu nema pouzdanih procena u kojoj meri virus može ugroziti prirodne populacije borovnice.

### *Mere suzbijanja*

Navođenje virusa na EPPO A2 alert listi ukazuje na potrebu zdravstvene kontrole sadnica borovnice pri međunarodnoj razmeni. EPPO preporučuje uvođenje patogena u sertifikacione šeme pri proizvodnji sadnog materijala. Po američkim podacima, kulturom meristema i termoterapijom se mogu dobiti biljke bez prisustva ovog virusa (Postman, 1997). Uništavanje zaraženih biljaka i vektora mogu smanjiti brzinu širenja virusa u polju. Ministarstvo poljoprivrede RS je propisalo meru posebnog nadzora za ovaj virus, što je predviđeno Pravilnikom o utvrđivanju programa mera zaštite zdravlja bilja.

## *M virus krompira (Potato virus M, PVM)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Carlavirus*

### *Rasprostranjenost*

Rasprostranjen je širom sveta. Prisutan je i u Srbiji, ali je rasprostranjenje ovog virusa manje od drugih viroza krompira (Milošević, 2009).

### *Fizičke i hemijske karakteristike*

Ima končaste čestice dimenzija 650x12 nm (Wetter, 1972). Nukleinska kiselina, jednodelna ss (+) RNK čini 6% mase virusne čestice.

### *Krug domaćina*

Virus ima uzan krug domaćina, pri čemu je glavni domaćin krompir. Utvrđen je i na drugim biljkama iz porodice *Solanaceae*, kao što je razvodnik pomoćnica –*Solanum dulcamara* (Perry i McLane, 2011) i *Solanum jasminoides* (Verhoeven et al., 2006).

### *Patogeneza*

Virus se održava i na veće udaljenosti širi zaraženim sadnim materijalom. Tokom vegetacije se širi lisnim vašima na neperzistentan način i mehanički. Među vektore se ubrajaju *Myzus persicae*, *Aphis frangulae*, *A nasturtii* i *Macrosiphum euphorbiae* (Wetter i Völk, 1960).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

U zavisnosti od soja virusa i sorte krompira, simptomi variraju u širokom rasponu od jedva primetnog mozaika i kašikastog uvijanja listova (sorta King Edward), do oštrih simptoma zaostajanja u porastu, jakog mozaika, naboranosti i uvijanja listova (Wetter, 1972). Chrzanowska (1976) navodi i pojavu simptoma nekroze stabla. Veoma često se virus nalazi na krompiru u mešanim zarazama, naročito sa S virusom krompira. Virus može smanjiti prinos i do 30% (Milošević, 2009).

### *Mere suzbijanja*

Kao i u slučaju drugih viroza krompira, osnova mera prevencije je sadnja zdravog sadnog materijala koji se dobija strogim pridržavanjem sertifikacionih šema (EPPO, 1999a). Kassanis (1957) je uspeo da dobije biljke oslobođene od virusa putem kulture meristema. Ribavirin je u hemoterapiji dao pozitivne rezultate protiv M i S virusa krompira –*Potato virus S*, PVS i *Potato virus M*, PVM (Griffiths et al., 1990). Usled neperzistentnog prenošenja

virusa, suzbijanje vektora ne pruža dovoljnu zaštitu od infekcije virusom. Važna je prostorna udaljenost gajenja semenskog krompira. Radi izbegavanja mehaničkog prenošenja izvršiti dezinfekciju oruđa i smanjiti kretanje kroz usev.

### *S virus krompira (Potato virus S, PVS)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Carlavirus*

#### *Rasprostranjenost*

Raširen je širom sveta.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima končaste čestice veličine 650x12 nm. Genom je jednodelna ss (+) RNK. Kao i drugi virusi iz roda *Carlavirus* na 3' kraju imaju poliadenilni završetak, a na 5' kraju kapu od metilgvanozina (Hulo et al., 2011). Kapsid je sagrađen od jedne vrste proteina.

#### *Krug domaćina*

Prirodni domaćin virusa je krompir.

#### *Patogeneza*

Virus se održava u krtolama krompira, a tokom vegetacije se širi vašima na neperzistentan način. Izolati se razlikuju po uspešnošću prenošenja sa vaši *Myzus persicae* (Wetter i Völk, 1960). Virus se prenosi i mehanički.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Spada u umereno štetne viruse krompira, pošto smanjuje prinos do 20% (Brunt et al., 1996). Simptomi se ispoljavaju u vidu blage hloroze, talasavosti ivice liske i naboranosti lisne površine (Wetter, 1971). Na nekim sortama nema jasnog ispoljavanja simptoma.

#### *Mere suzbijanja*

Poklapaju se sa merama zaštite navedene kod M virusa krompira.

### *Virus mozaika hmelja (Hop mosaic virus, HpMV)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Carlavirus*

#### *Rasprostranjenost*

Smatra se da se sadnim materijalom raširio širom sveta. Postoje dokazi o njegovoj prisutnosti u Evropi, Aziji, Severnoj Americi i Australiji (Brunt et al, 1996).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Kao i ostali pripadnici roda *Carlavirus*, i ovaj virus ima končaste čestice, dimenzija 651 x 13,8 nm. Jednolančana + RNK čini između 5-7% mase virusne čestice, proteinski omotač je sačinjen od jedne vrste belančevine (Adams i Barbara, 1980).

### *Krug domaćina*

Najčešći domaćin virusa je hmelj, ali je opisan i na koprivi, mišljakinji, bokvici i drugim korovskim biljkama (Pethybridge et al., 2008).

### *Patogeneza*

Održava se u biljkama u polju, a na veće udaljenosti se širi zaraženim sadnim materijalom. Još nije istražen značaj korova domaćina, kao izvora virusnih zaraza (Pethybridge et al., 2008). Tokom vegetacije se sa zaraženih na zdrave biljke širi lisnim vašima na neperzistentan način. Među njima su značajni *Phorodon humuli*, *Macrosiphum euphorbiae* i *Myzus persicae* (Barbara i Adams, 1981). Prenosi se i mehaničkim dodiranjem (Šutić, 1995).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na savremenim genotipovima hmelja se ne ispoljavaju simptomi oboljenja. Na ranije gajenim sortama tipa Golding se ispoljavaju simptomi u obliku zaostajanja u porastu, mozaika, hloroze i prosvetljavanja lisnih nerava, kao i uvijanja liske. Zaražene biljke donose nizak prinos i prevremeno izumiru. Pored domaćina, na ispoljavanje simptoma u značajnoj meri utiče soj virusa. Virus prouzrokuje značajno smanjenje prinosa.

### *Mere suzbijanja*

EPPO standard (1998) propisuje testiranje i sertifikacionu šemu proizvodnje zdravog sadnog materijala, što je osnova uspešne proizvodnje. Uništavanjem zaraženih biljaka se usporava širenje virusa u zasadu. Zbog neperzistentnog prenošenja virusa insekticidni tretman protiv vektora ne daje zadovoljavajući rezultat. Povećavanjem prostorne udaljenosti novih od starih zasada hmelja doprinosi smanjenju širenja virusa (Pethybridge et al., 2002).

## *Virus mozaika nerava crvene deteline (Red clover vein mosaic virus, RCVMV)*

Red Tymovirales

Fam. Betaflexiviridae

Rod Carlavirus

### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen u Severnoj i Južnoj Americi, Evropi (Nemačka, Holandija, Srbija), Aziji (Indija), Africi (Južnoafrička Republika) (Šutić, 1995; Freeman, 2008).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima končaste čestice dimenzija 645 x 12 nm. Jednolančana (+) RNK čini 6,25% mase virusne čestice, proteinski omotač je sačinjen od jednog proteina, koji je organizovan u 2000 proteinskih podjedinica (Varma, 1970).

### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa pripadaju rodovima *Trifolium* (detelina), *Medicago* (lucerka), *Melilotus* (kokotac), *Lathyrus* (grahorice), *Pisum* (grašak), *Lens* (sočivo) i *Cicer* (leblebija), a u krugu eksperimentalnih domaćina se nalaze vrste iz porodica *Amaranthaceae*,

*Chenopodiaceae*, *Fabaceae* i *Solanaceae* (Brunt, 1996; Larsen et al., 1996; Larsen i Myers, 1998).

#### *Patogeneza*

Virus se održava u višegodišnjim domaćinima iz familije *Fabaceae*. Tokom vegetacije se prenosi lisnim vašima (*Acyrtosiphon pisum*, *Therioaphis ononidis*, *Myzus persicae*, *Cavariella aegopodii* i *C. theobaldi*) na neperzistentan način (Varma, 1970). Prenosi se i mehanički. Freeman (2008) navodi da u mehaničkom prenošenju virusa ulogu ima mehanizacija koja prolazi kroz usev, a na livadama i životinje koje su na ispaši. Prema podacima Šutića (1995) u Srbiji nije utvrđeno da se virus prenosi semenom deteline, dok Varma (1970) i Freeman (2008) opisuju ovaj način prenošenja.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Hloroza nerava, mozaik, pojava mozaične crtičavosti listova i zaostajanje u porastu. Virus spada u umereno štetne viruse. Virus negativno utiče na porast biljke, čime se smanjuje prinos lisne mase. Zaražene biljke su osetljivije na izmrzavanje i fuzarioznu trulež korena (Šutić, 1995). Khan i Singh (1997) su na grašku utvrdili da virus značajno smanjuje broj cvetova, mahuna, zrna i prinos po biljci. Alconero et al. (1986) su zapazili da virus utiče na smanjenje životne snage i životnog veka useva crvene deteline.

#### *Mere suzbijanja*

Hemijsko suzbijanje vektora ne pruža visoku efikasnost u prevenciji infekcije, te se preporučuje prostorna udaljenost od starijih deteliništa i uništavanje korova domaćina virusa. Freeman (2008) savetuje što manji broj prolaza mehanizacije kroz usev radi sprečavanja mehaničkog prenošenja. Preporučuje se i dekontaminacija mehanizacije i opreme. Parcele sa visokim procentom zaraze treba uzorati. Khan et al. (1978) opisuju otporne genotipove crvene deteline koje poseduju dominantni gen otpornosti RC protiv ovog virusa.

### *Virus jamičavosti stabla jabuke (Apple stem pitting virus (ASPV))*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Foveavirus*

#### *Rasprostranjenost*

Južna Amerika (Brazil, Argentina), Azija (Kina, Indija, Južna Koreja, Liban, Tajvan), Evropa (Letonija, Turska) (EPPO, 2015). Prema Brunt et al. (1996) virus je rasprostranjen i u Australiji i Severnoj Americi. Paunović et al. (2000) su ovaj virus u Srbiji pronašli u visokom procentu: u 25 od 30 testiranih stabala kruške, 9 od 15 testiranih stabala jabuke i 8 od šesnaest ispitanih stabala dunje.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine 800 nm i širine oko 12 nm (Slika XIII.5.). Genom ovog predstavnika roda *Foveavirus*-a je jednodelna ss (+)RNK koja se na 3' kraju završava poliadenilnim repom, dok je 5' kraj zaštićen kapom od metilgvanozina. Proteinski omotač je sagrađen od jednog proteina. Prema Akinbade et al. (2012) postoje značajne genetske varijacije unutar populacije patogena.



Slika XIII.5. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Foveavirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Domaćini virusa su jabuka, kruška, dunja i japanska dunja -*Chaenomeles japonica* (EPPO, 2015). Prema Brunt et al. (1996) prirodni domaćini su i biljke iz roda *Crataegus* i *Sorbus*.

#### *Patogeneza*

Virus se održava u zaraženim stablima i prenosi se putem kalemljenja i zaraženim sadnim materijalom. Ne prenosi se vektorom, mehaničkim dodirrom, semenom ili polenom.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Jabuke kalemljene na podlogu Virginia crab ili *Malus sieboldi* zaostaju u porastu. Dolazi do nekroze, pucanja kore i stvaranje udubljenja-jamica ispod kore, odnosno jamičavosti stabla (Slika XIII.6.). Plodovi jabuke su sitniji i mogu biti izbrazdani. Na krušci dolazi do žućenja nerava, dok je *Crataegus* bezsimptomni domaćin. Na osnovu simptoma oboljenja na krušci prouzrokovanih ovim virusom bolest se naziva žutilo nerava kruške - Pear vein yellows disease (Rossini et al., 2010). Takođe prouzrokuje epinastiju jabuke, nekrotičnu prstenastu pegavost i crvenilo listova kruške i kamenitost plodova kruške (Slika XIII.7.). Na dunji prouzrokuje deformaciju plodova (Paunović, 1997). Na brojnim sortama jabuke i kruške virus ne prouzrokuje vidljive simptome. Paunović et al. (1999) su dokazali da izolat virusa koji je prouzrokovao simptome kamenitosti plodova krušaka pripada vrsti *Apple stem pitting virusa*.



### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja bezvirusnog sadnog materijala u skladu sa sertifikacionim šemama, redovna zdravstvena kontrola korišćenjem molekularnih tehnika (Klerks et al., 2001; Kundu, 2003; Dhir et al., 2009) i korišćenje metoda termoterapije i kulture meristema.

## *Virus hlorotične lisne pegavosti jabuke (Apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Trichovirus*

### *Rasprostranjenost*

Verovatno je rasprostranjen širom sveta. Informacije o prisustvu virusa postoje iz Afrike (Alžir, Maroko, Južnoafrička Republika, Tunis), Južne Amerike (Brazil, Urugvaj), Severne Amerike (SAD, Kanada), Azije (Kina, Indija, Kazahstan, Južna Koreja, itd), Evrope (Grčka, Mađarska, Nemačka, Srbija, Rusija, Španija, Velika Britanija itd.), Australije (Šutić, 1995; EPPO, 2015). Prvi nalaz u Crnoj Gori je objavljen od 2014. godine (Zindović, et al., 2014).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Čestice su končaste dimenzija 640-760 x 12 nm (Yoshikawa, 2001; Hulo et al., 2011; Slika XIII.8.). Genom virusa je ss (+) RNK, sa poliadenilnim 3' krajem. Proteinski omotač je sagrađen od jednog proteina.



Slika XIII.8. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Trichovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa su jabuka, kruška, dunja, breskva, šljiva, trešnja, kajsijska, i druge *Prunus* i *Crataegus* vrste, japanska dunja, jarebika -*Sorbus aucuparia* (EPPO, 2015).

### *Patogeneza*

Virus se održava u zaraženim stablima. Glavni način širenja je kalemljenjem i putem sadnog materijala. Prema podacima Fritzsche i Kegler-a (1968) virus je prenet nematodama, ali ovaj nalaz kasnije nije potvrđen. Na eksperimentalne domaćine se može preneti mehaničkim inokulacijama.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Opisan je veći broj sojeva virusa, koji se razlikuju po simptomima koje prouzrokuju, pri čemu oni zavise i od vrste i sorte domaćina. Na brojnim sortama jabuke ne prouzrokuju

simptome, dok na drugima prouzrokuje hlorotične pege i hlorozu listova, jamičavost stabla i kržljivost (Slika XIII.9.). Na listovima dunje se javljaju hlorotične prstenaste pege, a na lišću kruške mozaik i prstenasta prošaranost. Na kajsiji takođe prouzrokuje mozaik i prstenaste pege, dok se na breskvi može pojaviti tamnozeleno šarenilo listova (Brunt et al., 1996). Prema Németh-u (1979) virus može prouzrokovati lažnu šarku ili rozetavost na kajsiji, pucanje kore, lažnu šarku i inkompatibilnost podloge i plemke na šljivi i druge simptome (Slika XIII.10.). Pri proceni štetnosti pored vidljivih simptoma treba uzeti u obzir i promene u metabolizmu i uticaj na prinos na biljkama gde nema upadljivih simptoma bolesti.



Slika XIII.9. Simptom virusa hlorotične lisne pegavosti jabuke na *Malus platicarpa* (Foto: Paunović)



Slika XIII.10. Simptom virusa hlorotične lisne pegavosti jabuke na šljivi (Foto: Jevremović)

#### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja i prometovanje zdravog sadnog materijala proizvedenog po sertifikacionim šemama (EPPO 1999, 2000, 2000a) predstavljaju osnovnu preventivnu meru protiv ovog virusa. Usled dužine bioloških testova i niskog titra virusa u tkivu koji ograničava uspešnost seroloških tehnika, preporučuje se testiranje matičnih stabala molekularnim tehnikama (Watpade et al., 2012).

#### *Virus šarenila lista trešnje (Cherry mottle leaf virus, CMLV)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Trichovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Podaci o rasprostranjenju potiču iz Severne Amerike (SAD, Kanada), Afrike (Južnoafrička Republika), Evrope (Belgija, Italija, Poljska, Rumunija), Azije (Kina) (Brunt et al., 1996; Ma et al., 2014).



#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Kao pripadnik roda *Trichovirus*, ovaj virus ima končaste čestice, dimenzija 760 x 10,2 nm. Proteinski omotač je sačinjen od jednog polipeptida.

#### *Krug domaćina*

Prvo je opisan na trešnji, ali prema podacima Mekuria et al. (2013) javlja se i na breskvi, a postoji mogućnost da zaražava i druge vrste iz roda *Prunus*. Kajsija, kao i veći broj sorti trešnje i breskve su domaćini virusa koji ne ispoljavaju simptome (Németh, 1979; James and Mukerji, 1993).

#### *Patogeneza*

Virus se održava u zaraženim stablima i širi se kalemljenje i zaraženim sadnim materijalom. Tokom vegetacije se širi putem grinje *Eriophyes inaequalis*.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus na listovima trešnje prouzrokuje nepravilno hlorotično šarenilo i deformaciju listova, pri čemu su promene najviše izražene na vršnom lišću (Brunt et al., 1996). Porast mladara je smanjen, a usled skraćanja internodija može doći do rozetavosti. Simptomi na višim temperaturama postaju maskirani (Németh, 1979). Na zaraženim stablima se formiraju sitni i bezukusni plodovi. Mekuria et al. (2013) su dokazali da virus prouzrokuje krastavost plodova breskve.

#### *Mere suzbijanja*

Uništavanje zaraženih stabala i proizvodnja zdravog sadnog materijala predstavljaju osnovnu meru zaštite. Suzbijanje vektora doprinosi sprečavanju širenja. Divlja *Prunus* vrsta, *P. emarginata* predstavlja osnovno životno stanište vektora, te se smatra da uništavanje ovih biljaka može doprineti smanjenju zaraza virusom.

### *Virus mozaika breskve (Peach mosaic virus, PcMV)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Trichovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Utvrđen je u SAD i Meksiku (EPPO, 2015). U Evropi se nalazi na A1 listi karantinskih parazita. U Srbiji se takođe nalazi na listi IA deo 1, odnosno među štetnim organizmima za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije i čije je unošenje i širenje zabranjeno.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice, dimenzija između 640-760 nm dužine i oko 10-12 nm širine (Hulo et al., 2011). Genom je ss (+) RNK. Omotač virusa je sagrađen od jednog proteina.

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćin je breskva, a utvrđen je i na kajsiji, šljivi, bademu, japanskoj trešnji i drugim *Prunus* vrstama (Gispert et al., 1998; EPPO, 2015).

### *Patogeneza*

Vektor virusa je grinja *Eriophyes insidiosus* (Oldfield et al., 1995; Gispert et al., 1998). Dovoljna je samo jedna jedinka grinje da prenese virus. Grinje se lako prenose vazdušnim strujama prenoseći virus na veća rastojanja (Németh, 1979). Na veće udaljenosti virus se širi i zaraženim sadnim materijalom.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi oboljenja su umanjeno formiranje lisne površine, šarenilo, deformacija listova u vidu suženosti i kovdržavosti, smanjenje porasta i rozetavost (James et al., 2006). Oboljenje često ima akutnu fazu, sa vrlo izraženim simptomima oboljenja, koji se vremenom ublažuju i bolest prelazi u hroničnu fazu. Simptomi zavise i od soja i sorte domaćina (Németh, 1979). Zaražena stabla se kasnije bude tokom proleća. Simptomi se mogu javiti i na laticama cvetova u vidu šarenila. Na plodovima se javljaju deformacije u vidu ispupčenja i ulegnuća i gube ekonomsku vrednost.

### *Mere suzbijanja*

Mera karantina treba da spreči introdukciju patogena u državu. Neophodna je proizvodnja zdravog sadnog materijala prema sertifikacionim šemama. Suzbijanje vektora u državama gde je virus prisutan je korisna mera za sprečavanje daljeg širenja. U SAD su sprovodili eradikativne mere radi uništavanja zaraženih stabala. U delovima države SAD, gde je virus opšte rasprostranjen u proizvodnji su uvedene tolerantne sorte breskve.

## *A virus vinove loze (Grapevine virus A, GVA)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Betaflexiviridae*

Rod *Vitivirus*

### *Rasprostranjenost*

Prema Martelli et al. (2001) utvrđen je u Aziji (Bliski Istok, Kina), Evropi (Italija), Africi (Južnoafrička Republika) i Severnoj Americi (SAD-Kalifornija) i Australiji. Baza podataka CABI (2015) navodi podatke i o prisustvu u Južnoj Americi. Pretpostavlja se da je usled intenzivnog prometa sadnog materijala virus prisutan u svim oblastima gajenja vinove loze. Kuzmanović et al. (2003) iznose podatak o prisustvu virusa u Srbiji. Kostadinovska (2014) prvi put opisuje virus u Makedoniji.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Končaste čestice su dimenzija 800 x 12 nm (Slika XIII.11.). Sadrže jednodelnu ss (+) RNK koja na 5'kraju ima kapu od metilgvanozina, a 3' kraje se završava poliadenilnim repom (Hulo et al., 2011). Nukleinska kiselina čini oko 5% mase čestice. Proteinski omotač je sačinjen od jednog polipetida (Minafra et al., 1997).



Slika XIII.11. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Vitivirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Jedini prirodni domaćin virusa je vinova loza.

### *Patogeneza*

Virus se održava u zaraženim čokotima, a glavni način širenja je putem kalemljenja. U prirodi je zabeleženo i prenošenje virusa pomoću štitastih vaši iz roda *Pseudococcus* (*P. longispinus* i *P. affinis*), i roda *Planococcus* (*P. ficus* i *P. citri*) na poluperzistentan način (Rosciglione i Castellano, 1985). Prema Fortusini et al. (1997) virus se prenosi i insektom *Neopulvinaria innumerabilis*, dok Zorloni et al. (2006) kao vektora navode *Heliococcus bohemicus*. Vektor gubi sposobnost prenošenja nakon presvlačenja (La Notte et al., 1997).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus prouzrokuje jamičavost i brazdavost stabla i naboranosti kore (rugose wood). Ranije se smatralo da je virus povezan i sa simptomima uvijenosti lišća, ali su Milne et al. (1984) i Conti i Milne (1985) utvrdili da je A virus vinove loze povezan sa simptomima jamičavosti, dok su virusi roda *Closterovirus* odgovorni za uvijanje listova. Kompleks promena prouzrokovan ovim virusom je opisan i kao Kober brazdavost stabla (Kober stem grooving), koja se smatra jednim od oboljenja iz kompleksa oboljenja stabla i kore. Na nekim sortama i podlogama virus ne prouzrokuje vidljive promene. Prema podacima iz Italije virus je odgovoran za gubitke u prinosu grožđa od 5-22% (Martelli et al., 2001).

### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja i promet zdravstveno testiranih sadnica proizvedenih po sertifikovanim šemama (EPPO, 1998a) predstavljaju osnovu zaštite protiv ovog virusa. Martelli et al. (2001) navode da je u preko 70% jedinki insekata- vektora u oblasti Mediterana utvrđeno prisustvo virusa, te je teško sprečiti širenje virusa. Suzbijanje vektora je važna, ali je teško sprovodljiva mera, pošto insekti prezimljavaju ispod kore drveta, gde teško dopire insekticid, a zaštićeni su i navlakom od voska. Termoterapija, krioterapija i termoterapija su uspešne metode u dobijanju bezvirusnog sadnog materijala vinove loze (CABI, 2015). Nisu utvrđeni geni otpornosti unutar roda *Vitis*, te se radi na stvaranju transgene otpornosti prema virusa (Saldarelli et al., 2000; Buzkan et al., 2001; Martelli et al., 2001).

## *Virus mrljavosti vinove loze (Grapevine fleck virus, GFkV)*

Red *Tymovirales*

Fam. *Tymoviridae*

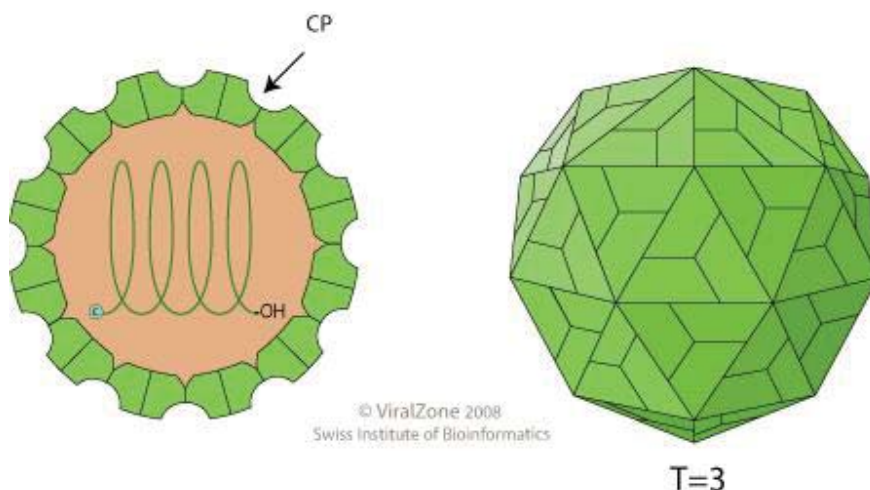
Rod *Maculavirus*

### *Rasprostranjenost*

Raširen je u Južnoj Americi. Utvrđen je i u Evropi, Severnoj Americi, Aziji i Australiji (Koklu et al., 1998; Constable i Rodoni, 2011; Fajardo et al., 2012; Kanuya et al., 2012; Immanuel, 2015). Kuzmanovic et al (2003) su opisali virus u Srbiji, a Kostadinovska et al. (2014) su opisali virus u Makedoniji.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika 30 nm (Sabanadzovic et al., 2000; Slika XIII.12.). Genom virusa je ss (+) RNK, koji se karakteriše veoma visokim sadržajem citozina (Sabanadzovic et al., 2001). Triangulacioni broj kod ovog virusa je 3 (Hulo et al., 2011). Proteinski omotač je sačinjen od jednog tipa polipeptida.



Slika XIII.12. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Maculavirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Jedini prirodni domaćin virusa je vinova loza, pri čemu je osetljiva i evropska i američka loza.

### *Patogeneza*

Virus se nalazi u floemu biljaka i isključivo se prenosi kalemljenjem i zaraženim sadnim materijalom. Sporo se širi u biljnom tkivu i potrebno je i do 12 meseci da se raširi sa mesta infekcije do izdanaka biljke. Ova informacija je važna sa stanovišta detekcije virusa.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus je dobio ime po mrljama- nepravilnim pegama (Slika XIII.13.), koje se javljaju na listovima zaraženih biljaka (Constable i Rodoni, 2011). Na nekim sortama i podlogama

vinove loze virus ne izaziva vidljive promene, iako je prisutan u biljci. Simptomi su najupadljiviji na *Vitis rupestris*. Na mladim listovima dolazi i do prosvetljavanja nerava koje na starijim prelazi u mozaik. Stariji listovi se deformišu i uvijaju naviše. Simptomi se ispoljavaju tokom proleća, dok se tokom toplih leta povlače. Virus prouzrokuje zaostajanje mladara u porastu, na podlozi 420A zapaženo je zaostajanje porasta od 51%, a na Kober 5BB od 37%. Virus utiče na smanjenje količine i kvaliteta prinosa (Constable i Rodoni, 2011).



Slika XIII.13. Simptom virusa mrljivosti vinove loze (Foto: Kuzmanović)

#### *Mere suzbijanja*

Osnovna mera zaštite je proizvodnja i promet zdravstveno testiranih sadnica proizvedenih po sertifikovanim šemama (EPPO, 1998a). Preporučuje se uklanjanje zaraženih biljaka iz vinograda.

#### *Virus žutog mozaika postrne repe (Turnip yellow mosaic virus, TYMV)*

Red *Tymovirales*  
Fam. *Tymoviridae*  
Rod *Tymovirus*

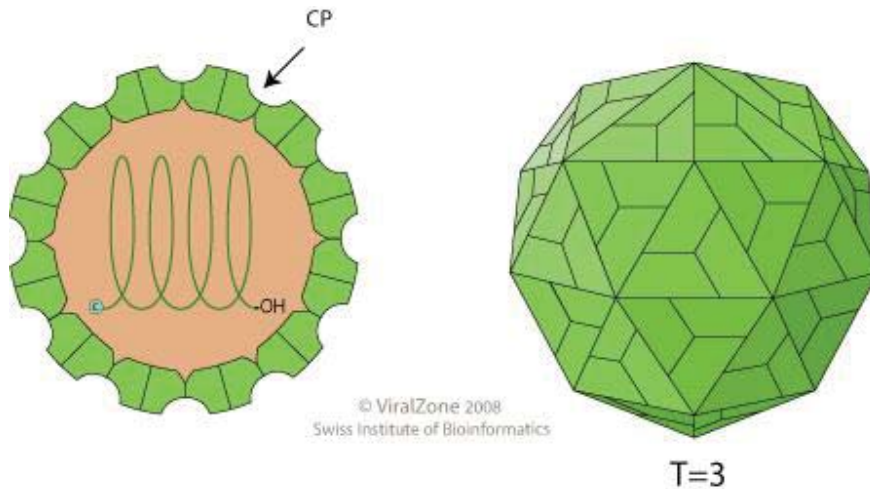
#### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen u Evropi, Aziji, Australiji (Brunt et al., 1996; Kirino et al., 2008), a opisan je i u Kanadi (Stobbs et al., 1998).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virusne čestice su izometrijskog oblika, prečnika oko 28 nm (Slika XIII.14.). Sadrže ss (+) RNK, čiji se 3' kraj završava strukturom koja je oblika transportne RNK (Hulo et al., 2011), a

5' kraj se završava kapom od metilgvanozina. Triangulacioni broj proteinskog omotača je 3. Protein čini oko 65% mase čestice.



Slika XIII.14. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Tymovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa su biljka iz porodice *Brassicaceae* (Matthews, 1980).

#### *Patogeneza*

U Evropi se prenosi insektima iz roda *Phyllotreta* (buvači) i *Psylloides* (lisne buve) i vrstom *Phaedon cochleariae* (slačicina zlatica). U Australiji je kao vektor opisan tvrdokrilac iz roda *Pedilophorus*. Virus se prenosi mehanički (Kirino et al., 2008). Prenosi se semenom vrsta *Camelina sativa*- obični lanik (Hein, 1984), *Brassica nap*- repica, *Alliama petiolata*- češnjača (Špak et al., 1993) i *Arabidopsis thaliana*-aradiopsis (de Assis Filho i Sherwood, 2000). Vicchi et al. (2011) su utvrdili prenošenje i putem semena kineskog kupusa. Prema Carter-u (1973) pravokrilci *Leptophyes punctatissima* i *Chorthippus bicolor* mogu imati ulogu u prenošenju virusa.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus prourokuje značajne promene na hloroplastima biljaka na kojima se javlja intenzivno žućenje i deformacije. Simptom može biti i prosvetljavanje nerava, pojava hlorotičnih pega na listovima i nekrotična pegavost (Kirino et al., 2008). Prema EPPO (1998b) ovaj virus nema veći ekonomski značaj u Evropi.

#### *Mere suzbijanja*

Preventivnu meru protiv ovog virusa predstavlja uništavanje insekata vektora, uz pridržavanje mera za očuvanje populacije pčela. Pošto je utvrđeno prenošenje semenom, preporučuje se setva zdravog semena. Genetski modifikovana uljana repica je imala manje gubitke u lisnoj masi nakon infekcije ovim virusom u odnosu na nemodifikovane useve (Špak et al., 1991).

## *Virus mozaika stočnog graška (Cowpea mosaic virus, CPMV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Comovirus*

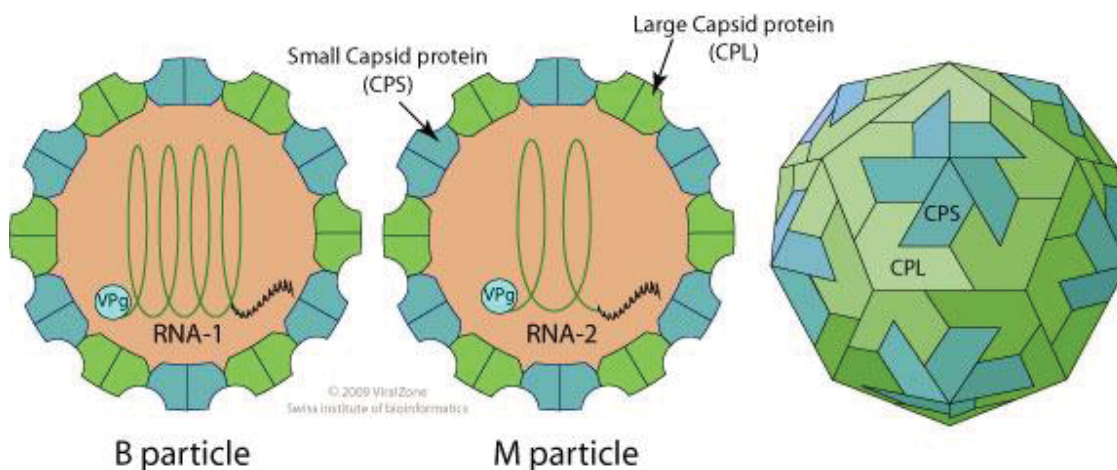
### *Rasprostranjenost*

Utvrđen u Aziji (Iran, Filipini) Africi (Nigerija, Kenija, Tanzanija, Togo, itd.), Americi (Kuba). U SAD je opisan, ali nema široko rasprostranjenje (Brunt et al., 1996; van Kammen et al., 2001).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus je izometrijskog oblika, prečnika 28 nm (Slika XIII.15.). Ima podeljen genom, koji se sastoji od dve (RNK1 i RNK2) ss (+) RNK. Obe nukleinske kiseline imaju poliadenilni završetak na 3' kraju i VPg (protein vezan za genom) na 5' kraju (Hulo et al., 2011). Centrifugiranjem se mogu izdvojiti tri vrste čestica: B (donja) komponenta, koja sadrži čestice sa većim fragmentom virusne RNK (veća molekulska težina), M (srednja) komponenta sa česticama sa manjim fragmentom RNK i T (vršna) komponenta sa praznim česticama bez virusne RNK.

O virusu je bilo detaljno reči u poglavlju koji se odnosi na građu virusa, pri čemu je ovaj virus poslužio za primer građe izometrijskih virusa. Kapsid je sastavljen od dve vrste proteina, velikog sa molekulskom težinom od 42 kD, i malog sa molekulskom težinom od 22 kD po proteinskoj podjedinici. Kapsid je formiran od 60 proteinskih podjedinica.



Slika XIII.15. Šematski prikaz građe čestica virusa mozaika stočnog graška (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Opisan je na stočom grašku (*Vigna unguiculata*). Domaćini virusa su iz familije *Fabaceae*, između ostalih i soja.

### *Patogeneza*

Prenosi se insektima tvrdokrilcima pri čemu su poznati insekti iz porodice *Chrysomelidae*: *Ootheca mutabilis*, *Paraluperodes quaternus*, *Ceratoma variegata*, *C. ruficornis*, *C. trifurcata*, *Diabrotica balteata*, *D. undecimpunctata howardi*, *D. virgifera*, *Acalymma vittatum*, kao i insekat iz familije surlaša (*Curculionidae*): *Nematocerus acerbus* (van Kammen et al., 2001). Gilmer et al. (1974) su utvrdili prenošenje semenom stočnog graška od 1-5%, ali kasnija istraživanja taj podatak nisu potvrdila. Kod veštačkih inokulacija se može preneti i mehaničkim putem.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Prouzrokuje mozaik, smanjenje površine lisne mase i umanjeno cvetanje zaraženih biljaka. Na stočnom grašku su utvrđene štete i do 95%, na soji ne prouzrokuje značajne gubitke (van Kammen et al., 2001).

### *Mere suzbijanja*

Pored uništavanja vektora preporučuje se gajenje otpornih sorti stočnog graška koje su stvorene u regionima Afrike, gde redovno postoji visoki intenzitet zaraze ovim virusom.

## *Virus mozaika tikve (Squash mosaic virus, SqMV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Comovirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus je zaraženim semenom prenet širom sveta (Campbell, 1971). Utvrđen je u Africi (Maroko, Egipat), Južnoj Americi (Brazil, Argentina, Čile), Severnoj Americi (Kanada, SAD), Evropi (Grčka, Češka, Italija, Holandija), Aziji (Kina, Izrael, Japan, Jemen), Novom Zelandu, itd. (Jossey i Babadoost, 2008; Svoboda i Leisova-Svobodova, 2011; Ali et al., 2012; EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus je izometrijskog oblika, prečnika oko 30 nm, pri čemu prečišćena virusna suspenzija sadrži tri tipa čestica različitih masa (T, M i B). Genom je organizovan u vidu dve odvojene nukleinske kiseline koje se nalaze u česticama M i B. U čestici B nukleinska kiselina RNK1 čini 35% mase čestice, a u čestici M RNK2 čini 27%. Čestica T ne sadrži nukleinsku kiselinu (0% sadržaj nukleinske kiseline). Na 5' kraju RNK se nalazi genom-vezani protein (VPg), a na 3' kraju poliadenilni rep. Virus kodira tri strukturalna proteina (Brunt et al., 1996).

### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini su biljke iz porodice *Cucurbitaceae*, tikve, dinja, krastavac i druge vrežaste biljke.

### *Patogeneza*

Virus se na neperzistentan način prenosi insektima- zlasticama *Acalymma trivittata*, *A thiemei thiemei*, *Diabrotica undecimpunctata*, *D. bivittula* i fitofagnim bubamarama *Epilachna*



*chrysolina*, *E. paenulata*, a dokazano je da ga može preneti i vrsta *D. barberi*. Virus se prenosi semenom različitih *Cucurbita* vrsta, pri čemu procenat zaraze semena zavisi kako od vrste biljke, tako i soja virusa. Stepent zaraze semena se kreće od 1-94% (Grogan et al., 1959; Campbell, 1971; Alvarez i Campbell, 1978). Virus se može preneti mehanički pri veštačkim inokulacijama.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na tikvama, krastavcu, dinji i drugim biljkama iz porodice *Cucurbitaceae* prouzrokuje sistemični mozaik, prstenaste pege i deformacije listova u obliku bradavičavosti i pojave enacija. Na plodovima simptomi variraju od sitnih hlorotičnih površina do izraženih deformacija. Virus značajno smanjuje masu i veličinu ploda, broj i masu formiranog semena, kao i kljijavost semena (Powell i Schlegel, 1970).

#### *Mere suzbijanja*

Usled prenošenja putem semena, veoma je važna setva zdravog semena. Mogućnosti korišćenja insekticida protiv vektora su ograničene usled redovnog branja plodova i obaveze pridržavanja karenci. Uništavanjem korova na ivicama parcela se smanjuje broj insekata koji prelaze na gajene biljke (Nameth et al., 1986). Naseljavanje vektora na biljke se može onemogućiti i pokrivanjem biljaka mrežama. Preporučuje se i uništavanje zaraženih biljaka. Pang et al. (2000) su utvrdili da su transgene biljke dobijene biotehnoškim postupcima otporne prema virusu mozaika tikve.

### *Virus šarenila mahuna pasulja (Bean pod mottle virus, BPMV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Comovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je utvrđen u Južnoj Americi (Brazil, Ekvador, Peru), Severnoj Americi (Kanada, SAD) i Aziji (Iran) (EPPO, 2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice, prečnika oko 30 nm. Kao i prethodni predstavnici roda *Comovirus*, i virus šarenila mahuna pasulja ima tri tipa čestica, pri čemu B i M komponenta sadrže nukleinske kiseline (Semancik, 1972). Ima dvodelni genom u vidu dve ss (+)RNK. Nukleotidni niz u nukleinskim kiselinama je u potpunosti određen (Di et al., 1999). Na 5' kraju RNK se nalazi genom-vezani protein, a na 3' kraju poliadenilni rep (Giesler et al., 2002). Sve tri čestice imaju istu proteinsku strukturu, pri čemu se sastoje od 60 proteinskih podjedinica, a svaka od njih sadrži veći (41 kDa) i manji (22 kDa) protein. Protein čini 63% čestice B, 70 % čestice M, odnosno 100% mase čestica T.

#### *Krug domaćina*

Ima ograničeni krug domaćina unutar porodice *Fabaceae*, pri čemu su najznačajniji pasulj i soja (Semanić, 1972).

### *Patogeneza*

Virus se prenosi tvrdokrilcima: *Ceratoma trifurcata*, *Diabrotica balteata*, *D. undecimpunctata howardii*, *Colaspis flavida*, *C. lata*, *Epicauta vittata*, *Epilachna varivestis* (Semancik, 1972). Ne prenosi se semenom. Prema Wei et al. (2012) virus se prenosi i mehanički prilikom kretanja mehanizacije u polju.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Rane zaraze virusom prouzrokuju znatno veće štete. Simptomi oboljenja su izraženi mozaik, šarenilo i deformacije mahuna pasulja i soje, a promene se javljaju i na semenjači (Brunt et al., 1996). Simptomi su uočljiviji tokom prvog dela vegetacije soje, a u kasnijem delu se teže uočavaju. Prema Giesler et al. (2002) virus može prouzrokovati i nekrozu vrha biljaka i kašnjenje u sazrevanju. Zaraza semena gljivama iz roda *Phomopsis* je intenzivnija na biljkama koje su obolele od virusa. Wei et al., (2012) navode da virus prouzrokuje značajno smanjenje količine i kvaliteta soje. U SAD je utvrđeno smanjenje prinosa između 10 i 40%. Smanjenje prinosa je veće ukoliko se prouzrokovatelj nalazi u mešanoj infekciji sa virusom mozaika soje.

### *Mere suzbijanja*

Ne sme se sejati seme koje ispoljava simptome – promenu boje na semenjači. Preporučuje se suzbijanje vektora u početnom delu vegetacije. Ugradnjom gena za proteinski omotač virusa stvorene su transgene sorte soje koje su otporne na virusno oboljenje (Di et al., 1996). Gajenje GMO biljaka je zabranjeno na teritoriji Republike Srbije.

## *Virus prstenaste pegavosti duvana (Tobacco ringspot virus, TRSV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Nepovirus*

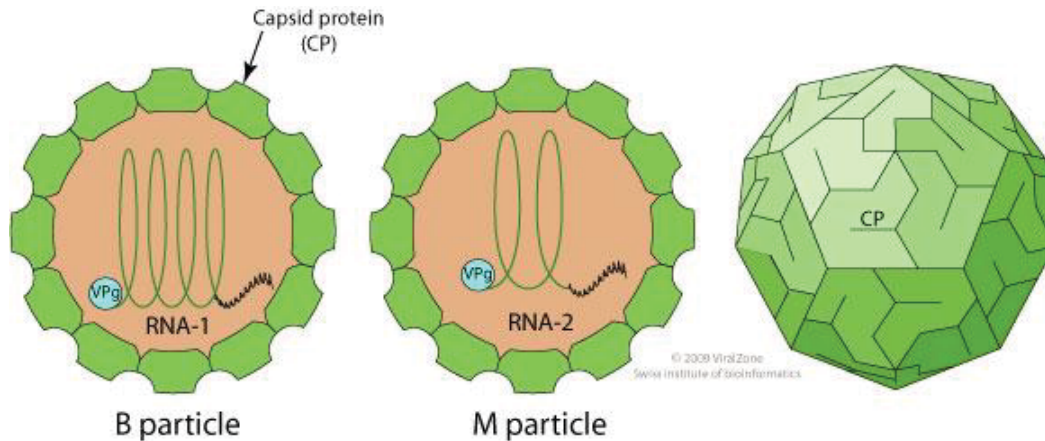
### *Rasprostranjenost*

Prema Evropskoj organizaciji za zaštitu bilja ovaj virus je svrtstan u A2 listu (EPPO, 2015), odnosno među parazite koji su lokalno prisutni na teritoriji EU i čije je prisustvo neophodno kontinuirano pratiti. U Srbiji virus je svrtan među štetne organizme za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno (Lista IA deo I). Patogen je poreklom iz Severne Amerike, a prisutan je u Africi (Egipat, Maroko, Nigerija, Kongo), Južnoj Americi (Brazil, Čile, Venecuela), Aziji (Kina, Indija, Indonezija, Tajvan, Saudijska Arabija, itd.) i Australiji. U Evropi je opisan u Mađarskoj, Italiji, Litvaniji i drugim zemljama.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika oko 28 nm, ima tri tipa čestica, pri čemu najlakša (T) ne sadrži nukleinsku kiselinu (Slika XIII.16.). Virus ima segmentirani, dvodelni ss (+)RNK genom pri čemu je RNK 1 odgovorna za replikaciju i širenje virusa iz ćelije u ćeliju, dok je kraća RNK 2 odgovorna za sintezu proteinskog omotača i za prenošenje virusa putem nematoda (Hernandez et al. 1997a). Visser i Bol (1999) smatraju da RNK 2 kodira dva nestrukturana proteina, pri čemu je protein od 40 kDa odgovoran za prenošenje od strane

nematode *Paratrichodorus pachydermus*, a protein od 32,8 kDa za prenošenje drugim vrstama nematoda. 5' kraj obe RNK se završava vezanim proteinom, a 3' poliadenilnim krajem (Hulo et al., 2011). Proteinski omotač ima 60 proteinskih podjedinica.



Slika XIII.16. Šematski prikaz virusa iz roda *Nepovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Virus ima širok krug domaćina, napada kako drvenaste tako i zeljaste biljke. Domaćini potiču iz 17 porodica biljaka (Stace-Smith, 1985). Među domaćine spadaju duvan, paradajz, krastavac, soja, paprika, bundeva, gladiola, petunija, muškatala, jasen, zova, kupina, jabuka, trešnja, borovnica, vinova loza i druge biljke (EPPO, 2015). Među domaćinima virusa ima i biljnih vrsta iz spontane flore (Aboughanem-Sabanadžović et al., 2014).

#### *Patogeneza*

Virus se prenosi nematodama, a postoje podaci i o neperzistentnom prenošenju od strane lisnih vaši (*Aphis gossypii*, *Myzus persicae*), tvrdokrilaca (duvanov buvač *Epitrix hirtipennis*), skakavca (*Melanoplus* spp.) i grinja (rod *Tetranychus*) (Stace-Smith, 1985). Među nematodama kao vektor se najčešće navodi vrsta *Xiphinema americanum*, a spominje se i *Paratrichodorus pachydermus* (Stace-Smith, 1985; Visser i Bol, 1999). Širca et al. (2007) su u Sloveniji dokazali da je vrsta *Xiphinema rivesi* prenosilac virusa. Vektor prestaje da bude infektivan nakon presvlačenja i ne prenosi virus na potomstvo. Prenosi se polenom i semenom nekih domaćina, kao što su soja i krastavac.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Suzbijanje otežava činjenica da se u prirodi javljaju zaražene biljke bez ispoljenih simptoma. U slučaju ranih zaraza soje dolazi do izumiranja vrha biljke. Bočni pupoljci također nekrotiraju, listovi su zakržljali i uvijeni, a na stablu se uočavaju nekrotične pruge. Zaražene biljke formiraju manje mahune koje su zakržljale (Demski i Kuhn, 1989). Na duvanu virus prouzrokuje prstenaste pege na listovima i opštu zakržjalost. Na krastavcu pored prstenastih pega na listovima dovodi i do deformacije plodova na kojima se javljaju bradavičasta ispupčenja. Na vinovoj lozi prouzrokuje skraćenos internodija i smanjen porast.

Na borovnici se javlja zakržljalo i izumiranje stabla, a na kupinama smanjeno formiranje plodova i njihova usitnjenost (EPPO, 2015a).

#### *Mere suzbijanja*

Iako je virus utvrđen u Evropi, smatra se da se radi o pojedinačnim slučajevima u kojima su se simptomi javili na uvoznom sadnom materijalu, te se virus još nije značajnije nastanio na starom kontinentu. Širenje virusa u Evropi otežava i odsustvo glavnog vektora, nematode *Xiphinema americanum*. Ohrabruje i podatak da se evropski nalazi virusa uglavnom odnose na jednogodišnje ukrasne biljke. Zbog svega navedenog karantinski pregledi i stalni monitoring predstavljaju osnovnu preventivnu meru protiv ovog virusa. Proizvodnja sadnog materijala vinove loze i drugih domaćina po sertifikacionim šemama su takođe važna mera. Preporučuje se kontrola zdravstvenog stanja semenskih useva soje i setva kontrolisanog zdravog semena. Na osnovu Pravilnika o utvrđivanju programa mera zaštite zdravlja bilja za 2015. godinu sprovodi se poseban nadzor u borovnici u proizvodnim zasadima borovnice, koji obuhvata laboratorijsko testiranje na prisustvo virusa prstenaste pegavosti duvana. U slučaju pojave oboljenja potrebno je obavestiti fitosanitarnu inspekciju i preuzeti mere eradikacije.

### *Virus crne prstenaste pegavosti paradajza (Tomato black ring virus, TBRV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Nepovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Prisutan je na teritoriji Evropske Unije (Francuska, Holandija, Norveška, Poljska, Rumunija itd.). Rasprostranjen u Aziji (Indija, Japan, Turska). Pojedinačni nalazi na uvoznim pošiljkama utvrđeni su u Africi (Kenija), Severnoj Americi (Kanada, SAD), Južnoj Americi (Brazil) (EPPO, 2015a). U Srbiji je virus svrstan među štetne organizme za koje nije poznato da su prisutni i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno (Sl. glasnik RS", br. 7/2010, 22/2012, 57/2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika 28 nm. I ovaj virus ima tri tipa čestica, B, M i T. Genom se sastoji od dve segmentirane ss (+) RNK. U slučaju nekih izolata utvrđeno je i postojanje satelitnih RNK (Fritsch et al., 1984), koji mogu uticati na ispoljavanje simptoma (Borodyenko et al., 2011). Proteinski omotač se sastoji od 60 proteinskih podjedinica. Opisano je više sojeva ovog virusa na duvanu, breskvi, vinovoj lozi i drugim domaćinima.

#### *Krug domaćina*

Prvi put je opisan na paradajzu, odakle potiče i ime virusa, ali pored ove gajene biljke parazitira veliki broj mono- i dikotiledonih biljaka. Može zaraziti kako zeljaste, tako i drvenaste domaćine. Utvrđen je na vinovoj lozi, šećernoj repi, duvanu, krompiru, lucerki, luku, salati, celeru, kupusu, pasulju, bagremu, zovi, trešnji, breskvi, kajsiji, bademu, brojnim ukrasnim vrstama (Murant, 1970). U praksi je najznačajniji na malinama, ribizli, jagodi,

breskvi i njima srodnim voćnim vrstama (EPPO, 2015a). Među domaćinima se nalazi i veći broj korovskih vrsta.

#### *Patogeneza*

Virus se prenosi nematodama *Longidorus elongates* i *L. attenuates*, pri čemu su kao vektori efikasne i odrasle jedinke i larve. Nematode gube sposobnost prenošenja nakon presvlačenja i ne prenose virusne čestice na naredne generacije. Postoje specijalizacija između pojedinih sojeva virusa i vrste nematode koja prenosi dati soj (Taylor i Murant, 1969), što se objašnjava razlikama u serološkim karakteristikama proteinskih omotača različitih sojeva (EPPO, 2015a). Virus se uspešno prenosi polenom i semenom različitih domaćina, pri čemu procenat prenošenja zavisi od domaćina i soja virusa (procenat zaraze semena se kreće između 10 i 100%).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Zaražene biljke se na parceli najčešće javljaju u oazama koje se vremenom povećavaju. Biljke unutar ovih zona se slabije razvijaju i zakržljavaju. Simptomi oboljenja se javljaju u vidu nekrotičnih pega, hlorotičnih prstenastih pega, šarenila, zaostajanja u porastu, deformacije listova i žutila nerava (Brunt et al., 1996). Na zaraženim biljkama malina i jagoda se najčešće javljaju prstenaste pege i prošaranost listova. Na krompiru se javljaju crne nekrotične pege na listu (Harrison, 1957). Na breskvi nastupa zakržljavanje, žučenje listova, skraćivanje internodija, kao i jamičavost stabla (Németh, 1979; Šutić, 1995). Simptomi su redovno jasnije uočljiviji u početnom delu vegetacije, tokom leta se ublažavaju. Mogu se javiti i bezsimptomne zaraze gajenih biljaka i biljaka iz spontane vegetacije. EPPO (2015a) ovaj virus svrstava među manje štetne viruse, ali može biti ekonomski štetan na bobičastom voću i breskvi.

#### *Mere suzbijanja*

Mere karantina i monitoringa su osnova zaštite protiv ovog virusa. Tokom 2015 godine se prema odluci Ministarstva poljoprivrede sprovodi poseban nadzor maline na teritoriji Republike Srbije na prisustvo ovog virusa. Proizvodnja sadnog materijala biljaka na kojima je virus najznačajnij (*Rubus*, *Ribes*, *Fragaria*, *Prunus*) po sertifikacionim šemama takođe spada u preventivne mere zaštite. U regionima gde je virus prisutan treba izbegavati premeštanje zemlje i sadnog materijala, jer se time prenosi i nematoda, vektor virusa. Korišćenje nematocida je važna mera na parcelama gde su vektor i virus utvrđeni. Uništavanje korova-domaćina virusa i setva zdravog semena su takođe važni (EPPO, 2015a). Kaiser (1980) je dokazao da se ovaj virus može eliminisati iz krtola krompira putem termoterapije sa toplim vazduhom (37 °C tokom 3-6 nedeelja).

### *Virus prstenaste pegavosti maline (Raspberry ringspot virus, RpRSV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Nepovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je prisutan u evroazijskom i mediteranskom regionu. Prema pravilniku o listama štetnih organizama i listama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata ("*Sl. glasnik RS*",

br. 7/2010, 22/2012 i 57/2015) ovaj virus spada u Listu IA deo I, odnosno među organizme za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije. Prema klasifikaciji Evropske organizacije za zaštitu bilja ovaj virus spada u Alert 2 listu (EPPO, 2015a). Prisutan je Evropi (Francuska, Letonija, Norveška, utvrđen u Belgiji, Češkoj, Finskoj, Bugarskoj, Luksemburgu, Poljskoj, Nemačka, Sloveniji, Rusiji, Grčkoj i drugim evropskim zemljama. U Aziji je opisan u Kazahtsanu, azijskom delu Ruske Federacije i Turskoj (EPPO, 2015a). U SAD, Kanadi i nekim južnoameričkim državama se takođe nalazi na karantinskim listama.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Spada u izometrijske viruse sa prečnikom čestice od 28 nm. Po masi čestice se mogu razdvojiti u tri komponente (B, M i T čestice). Genom je segmentiran u dve ss (+) RNK, označene kao RNK 1 i RNK 2 (Wetzel et al., 2006). U M česticama se nalazi RNK 2. U slučaju B čestica Murant et al. (1972) opisuju B1 tip čestica koje sadrže jednu RNK 1 i B2 tip čestica koje sadrže dve RNK 2 molekula. Proteinski omotač ima triangulacioni broj 1 i sastoji se od 60 proteinskih podjedinica (Murant, 1978).

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćin virusa je malina, a važni domaćini su i jagoda i trešnja. Opisan je i na ogrozdu, vinovoj lozi i ribizli, ali na njima nema veći značaj. Virus može parazitirati gajene i korovske biljke iz 14 porodica dikotiledonih biljaka, a takođe i neke monokotiledone (EPPO, 2015a). Roca et al. (1986) navode da je ovaj virus široko rasprostranjen u Grčkoj na usevu artičoke.

#### *Patogeneza*

Škotski soj virusa se najuspešnije prenosi nematodom *Longidorus elongatus*, dok je u slučaju engleskog soja i soja trešnja to vrsta *L. macrosoma* (Taylor i Murant, 1979; Wetzel i Krczal, 2007). Prema Jones et al. (1994) nematoda *Paralongidorus maximus* prenosi ovaj virus na vinovu lozu. Prenosi se semenom većeg broja biljaka domaćina, što omogućava širenje virusa na veće udaljenosti. Virusom zaraženo seme se obrazuje i na biljkama koje nisu ispoljavale simptome. Takođe, virus se može proširiti i zaraženim sadnim materijalom.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi variraju u zavisnosti od osetljivosti sorte i soja virusa. Zaražene biljke se najčešće javljaju u oazama usled lokalnog širenja nematoda u zemljištu. Kod veoma osetljivih zaraženih genotipova maline skoro svi izdanci izmrzavaju tokom zime. Oni koji ipak prežive imaju usporen dalji porast, formiraju uvijene listove i izumiru od vrha izdanka. Na manje osetljivim sortama maline se na listovima formiraju hlorotične prstenaste ili hrastolike šare, hlorotične pege ili mrežavost.

Kod jagode simptomi variraju od hlorotičnih preko nekrotičnih pega do zakžljavanja i izumiranja biljaka. Listovi na zaraženim stablima trešnje su sitniji, uži, sa grubom nazubljenošću. Na naličju listova se mogu obrazovati enacije. Wetzel i Krczal (2007) navode da soj trešnje ovog virusa može prouzrokovati izumiranje stabala trešnje, dok soj na vinovoj lozi prouzrokuje samo blage promene i ne utiče značajno na prinos. Na zaraženim biljkama ukrasne biljke narcis nema vidljivih simptoma (EPPO, 2015a).

### *Mere suzbijanja*

Unutar Evropske Unije cilj je sprečiti prenošenje zaraženog sadnog materijala u regione gde virus još nije rasprostranjen. U Srbiji se sprovodi poseban nadzor u malini da bi se obezbedio kontinuirani monitoring biljaka na prisustvo virusa. Proizvodnja i distribucija sertifikovanog sadnog materijala je cilj radi smanjenja rizika od oboljenja. Korišćenje nematocida, uništavanje zaraženih biljaka i korova-domaćina su mere za umanjeње šteta.

## *Virus šarenila lista borovnice (Blueberry leaf mottle virus, BLMoV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Nepovirus*

### *Rasprostranjenost*

Kao i prethodno obrađeni virus, i ovaj se u Srbiji nalazi na IA deo I listi štetnih organizama, a u EPPO klasifikaciji na A2 listi. U Evropi su prijavljeni nalazi iz Mađarske, Bugarske i Portugala, a u Severnoj Americi iz SAD i Kanade (Jaswal, 1990; EPPO, 2015a).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Izometrijski virus, prečnika između 28-30 nm, sa tri tipa čestica, T, M i B. Dvodelni ss (+) RNK genom se nalazi u česticama M i B (Ramsdell i Stacey-Smith, 1983).

### *Krug domaćina*

Domaćin virusa je borovnica. Pojednini sojevi mogu parazitirati vinovu lozu.

### *Patogeneza*

Iako spada u rod *Nepovirus*, nije utvrđeno prenošenje putem nematoda (Ramsdell i Stacey-Smith, 1983). Virus se prenosi polenom borovnice pomoću pčela sa zaražene na zdravu biljku (Childress i Ramsdell, 1987). Takođe je utvrđeno prenošenje polena sa virusnim česticama sa pčele na pčelu. Prenosi se kalemljenjem vinove loze. Otkrivanje zaraženih biljaka otežava dugi, četvorogodišnji latentni period nakon infekcije, tokom kojeg se ne ispoljavaju simptomi oboljenja. Utvrđeno je prenošenje semenom borovnice i vinove loze, ali je u praksi najvažniji način širenja putem zaraženog sadnog materijala (EPPO, 2015a).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus prouzrokuje izumiranje stabla borovnice. Novoformirani izdanci su zakržljali, kratkih internodija sa deformisanim listovima na kojima se javlja šarenilo (Martin et al., 2012). Može doći do potpunog izostanka prinosa. BLMoV-NY soj virusa na vinovoj lozi prouzrokuje skraćenje internodija i deformaciju listova.

### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja i promet zdravog sadnog materijala i uništavanje zaraženih biljaka su najvažnije mere suzbijanja. Nije dovoljno otkloniti nadzemni deo obolelih biljaka, jer će sa novoizraslih stabala pčele i dalje prenositi zaraženi polen. U Srbiji se u okviru posebnog nadzora zdravstvenog stanja borovnice vrši monitoring i na prisustvo ovog virusa.

## *Virus rozetastog mozaika breskve (Peach rosette mosaic virus, PRMV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Nepovirus*

### *Rasprostranjenost*

Ovaj virus je kako u Evropskoj Uniji, tako i u Srbiji svrstan na A1 listu karantinskih parazita. Radi se u virusu koji je opisan u Severnoj Americi (USA i Kanada), a pojedinačnih nalaza je bilo samo u Egiptu i Turskoj (Stobbs i Van Schagen, 1996; Ramsdell i Gillett, 1998; EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Multikomponenti izometrijski virus sa T, M i B česticama prečnika 28 nm (Dias i Cation, 1976). Genom je dvodelan, čestice M i B sadrže po jednu ss (+) RNK (Lammers et al., 1999).

### *Krug domaćina*

Glavni domaćin virusa je američka vinova loza *Vitis labrusca*, ali su neke sorte *V. vinifera*, kao i neki hibridi vinove loze takođe osetljive. Domaćini virusa su i breskva, vrsta borovnice *Vaccinium corymbosum*, kao i neke korovske vrste (*Taraxacum officinale* (maslačak), *Solanum carolinense* i *Rumex crispus* (kiseljak) (EPPO, 2015a).

### *Patogeneza*

Glavni vektor virusa je nematoda *Xiphinema americanum*, ali postoje i pojedinačni nalazi o prenošenju putem nematode iz roda *Criconemoides* (Klos et al., 1966; Ramsdell i Gillett, 1998). Dokazano je da se može preneti semenom vinove loze (sorta Konkord) i maslačka (Ramsdell i Myers, 1978). Prenosi se kalemljenjem i zaraženim sadnim materijalom.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na breskvi prouzrokuje duži period mirovanja voćaka, mozaik, hlorotično šarenilo listova i skraćenost internodija što prouzrokuje pojavu rozetavosti. Liske su naborane i znatne sitnije. Na vinovoj lozi takođe prouzrokuje skraćenje internodija, zatim savijanje stabla i deformaciju listova. Zaražena vinova loza nakon zimskog mirovanja kasnije kreće u odnosu na zdrave čokote, a zapaža se kašnjenje i u cvetanju. Usled savijanja lastara čokot dobija oblik kišobrana (Ramsdell i Gillett, 1998). Utiče na količinu i kvalitet prinosa. U SAD su zabeležene štete na sorti Konkord i do 50% (EPPO, 2015a). Na borovnici prouzrokuje smanjenje i deformaciju lisne površine, te listovi dobijaju srpast oblik.

### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja i promet sertifikovanog, zdravog sadnog materijala i karantinske mere predstavljaju osnovu za sprečavanje introdukcije i širenja virusa. Za potrebe karantina se kontinuirano razvijaju molekularne tehnike koje omogućuju detekciju ovog (Lee et al., 2015), kao i drugih virusa. Uništavanje korova domaćina virusa i suzbijanje nematoda (Ramsdell et al., 1983) su mere za ublažavanje daljeg širenja virusa.



## *Virus infektivne degeneracije vinove loze (Grapevine fanleaf virus, GFLV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

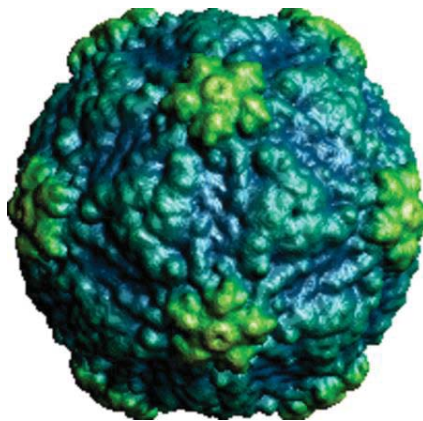
Rod *Nepovirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen širom sveta (Martelli et al., 2001a; EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus je izometrijskog oblika, sa tri tipa čestica (T, M i B). Sve čestice imaju prečnik oko 30 nm (Martelli et al., 2001a; Slika XIII.17.). Genom je dvodelna ss(+) RNK. Proteinski omotač je sagrađen od jedne vrste proteina, sastavljen je od 60 proteinskih podjedinica (triangulacioni broj T=1).



Slika XIII.17. Model čestice virusa infektivne degeneracije vinove loze (slika ustupljena ljubaznošću Viperdb2 sajta, Carillo-Tripp et al., 2009)

### *Krug domaćina*

Domaćin virusa je vinova loza. Veštačkim inokulacijama se može preneti na eksperimentalne domaćine.

### *Patogeneza*

Virus se raširio u sve regione gajenja vinove loze putem zaraženog sadnog materijala. Prenosi se i kalemljenjem. Za lokalno širenja virusa odgovorna je pre svega nematoda *Xiphinema index*, a kao povremeni vektor se navodi i *X. italiae* (Cohn et al., 1970; van Zyl et al., 2012). Prema Lázár et al. (1990) virus se prenosi semenom vinove loze, te sejanci mogu biti zaraženi.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi obuhvataju morfološke i hromatske promene (Maliogka et al., 2015). Virus je dobio ime po promenama na liskama zaražene vinove loze, koje gube karakterističan oblik za

datu sortu, pa nastaju promene u obliku koje se kreću od peršunavosti do lepezavosti listova, odnosno potpunog nestajanja režnjeva. Na listovima se mogu obrazovati i enacije. Usled hipoplazije dolazi do skraćivanja internodija na lastarima vinove loze, što prouzrokuje približavanje kolenaca i njihovo spajanje (dvojna kolena). Lastari često imaju nepravilan „cik-cak“ porast. Može doći i do abnormalnog grananja i pljosnatog oblika preseka stabla. Delovanjem virusa nastaje i posebna patološka tvorevine u tkivu ksilema, „endovaskularni kordon“, koji predstavlja zdrvenjenu traku tkiva u sudovima. Formira se manji broj grozdova koji su rehuljavi, sa proređenim sitnim bobicama. Bobice neravnomerno sazrevaju. Sadržaj šećera u bobicama je umanjen. Hromatske promene se najčešće karakterišu žutim mozaikom ili žućenjem listova, koje je izraženije tokom proleća, nego u kasnijem delu vegetacije. Kod zaraženih čokota koren je slabije razvijen i sa manjim brojem žilica. Gubici u prinosu zavise od sorte, soja virusa i ekoloških činilaca i mogu biti umereni (5-10%) do veoma visoki (preko 90%). Virus smanjuje uspešnost srastanja podloge i plemke, kao i ukorenjivanje sadnica (Martelli et al., 2001a). Usled prenošenja nematodama, zaražene biljke se u vinogradu često javljaju u oazama koje se postepeno povećavaju.

#### *Mere suzbijanja*

Osnovni, a ujedno i najefikasniji način zaštite protiv oboljenja je proizvodnja i prometovanje zdravog sadnog materijala proizvedenog po preporučenim sertifikacionim šemama (EPPO, 1998a). U slučaju vinove loze uspešno se koriste i metode eliminacije virusa- termoterapija, kutura meristema i druge metode (Gambino et al., 2009). Godine 1962 obrazovan je Međunarodni savet za proučavanje viroza i virozama sličnih oboljenja (ICVG- International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine) sa ciljem da proučava prirodu oboljenja i zakonodavne vlasti savetuje o mogućim merama za umanjenje šteta u vinogradarskoj proizvodnji (Maliogka et al., 2015).

Fitosanitarne mere, kao što je vađenje zaraženih čokota zajedno sa korenom, sprečavanje prenošenja zemljišta sa parcele na parcelu, suzbijanje vektora-nematoda, plodored i druge mere smanjuju dinamiku širenja oboljenja i obim šteta (Dalmasso et al., 1972; McKenry i Thomason, 1974; Almeida et al., 2013). Komar et al. (2008) preporučuju unakrsnu zaštitu, odnosno inokulaciju biljaka sa blagim sojevima virusa kao meru za umanjenje šteta.

Usled neuspeha u pronalaženju gena otpornosti unutar roda *Vitis* i dugog procesa tradicionalnog oplemenjivanja svetska istraživanja su usmerena ka biotehnoškim metodama oplemenjivanja i stvaranja transgene otpornosti prema virusima (Fuchs, 2003; Sastry i Zitter, 2014). Istovremeno, usavršavaju se tehnike detekcije koje omogućavaju bržu kontrolu sadnog materijala vinove loze na ovaj i druge viruse i veću sigurnost u prometovanju zdravog sadnog materijala (Čepin et al., 2010; Martelli, 2014).

### *Virus mozaika gušarke (Arabis mosaic virus, ArMV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Nepovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je utvrđen na svim kontinentima. U Evropi je utvrđen u većem broju zemalja, između ostalog i u Srbiji. U Srbiji se virus nalazi na listi IA deo II, odnosno ubraja se u štetne

organizme za koje je poznato da su prisutni na ograničenom području Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno (Sl. Glasnik RS 57/2015). U SAD je na karantinskoj listi, ali je 2013 utvrđen i u toj državi (Celebi-Toprak et al., 2013).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus sa izometrijskim česticama prečnika oko 30 nm. Ima tri sedimentacione komponente, odnosno postoje čestice T, M i B. Genom je dvodelan i sastoji se od ss (+) RNK. RNK se nalazi u M, odnosno B česticama (Lopez-Fabuel et al., 2013). Proteinski omotač čini samo jedan protein.

#### *Krug domaćina*

Virus ima širok krug domaćina. Među gajenim biljkama najznačajniji je na jagodi, hmelju, malini, vinovoj lozi, ali je opisan i na šećernoj repi, celeru, gladioli, rebarbari, trešnji, breskvi i salati (EPPO, 2015a). Utvrđen je i na zovi i brojnim drugim biljkama iz spontane vegetacije, koje mogu predstavljati izvor zaraze.

#### *Patogeneza*

Dokazano se prenosi nematodom *Xiphinema diversicaudatum*. Na veće udaljenosti virus dospeva zaraženim sadnim materijalom hmelja, vinove loze, maline i drugih domaćina koji se vegetativno ramnožavaju. U slučaju drugih biljaka prenosi se semenom (Murant, 1970a).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi viroze su mozaik i šarenilo listova, zasotajanje biljaka u porastu, a u nekim slučajevima i formiranje enacija. Postoji mogućnost i latentnih infekcija, bez ispoljavanja simptoma. Na malini se najčešće ispoljava žutilo listova i zakržljalost, a na jagodi mozaik, žutilo i naboranost liske. Može prouzrokovati značajne štete na malini i jagodi (EPPO, 2015a). Prema izveštaju Evropske Agencije za bezbednost hrane (European Food Safety Agency, EFSA) postoji mogućnost lokalnog širenja patogena unutar teritorije EU, pri čemu predstavlja srednju potencijalnu opasnost po proizvodnju vinove loze (EFSA, 2013).

#### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja i promet zdravog sadnog materijala i mere za suzbijanje vektora su najvažnije preventivne mere. Komar et al. (2008) su i u slučaju ovog virusa dobili povoljne rezultate metodom unakrsne zaštite na vinovoj lozi. U Srbiji se u 2015. godini sprovodi poseban nadzor u malini na prisustvo ovog parazita.

### *Virus uvijenosti lišća trešnje (Cherry leaf roll virus, CLRV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Nepovirus*

#### *Rasprostranjenost*

U Srbiji se virus nalazi na listi IA deo I, odnosno pripada štetnim organizmima za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno. Utvrđen je na teritoriji EU na različitim drvenastim biljkama, ali ne i na

malini (EPPO, 2015a). Opisan je i na drugim kontinentima: Africi (Egipat), Severnoj Americi (SAD, Kanada), Južnoj Americi (Čile), Aziji (Kina, Sirija), Australiji. Virus je opisan na teritoriji bivše Jugoslavije (Štefanac, 1969).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Kao i kod predhodnih predstavnika roda *Nepovirus*, možemo razlikovati tri tipa izometrijskih čestica (T, M i B) i dvodelni, segmentirani genom u vidu dve ss (+) RNK (Eastwell et al., 2012). Prečnik čestica je 28 nm (Jones, 1985). Proteinski omotač je sastavljen od 60 proteinskih podjedinica (T=1).

#### *Krug domaćina*

Najvažniji domaćini virusa su malina i trešnja. Opisan je i na drugim vrstama roda *Prunus* i *Rubus*, kao i na borovnici i orahu. Sporednim nalazom se smatra detekcija na jabuci (Woo et al., 2012; EPPO, 2015). Brojne divlje drvenaste vrste predstavljaju domaćine ovog virusa, kao što su breza, brest i zova (Németh, 1979; Jones, 1985; von Bargen et al., 2009). Utvrđen je i na ukrasnoj biljci hortenziji (Veerakone et al., 2012). Izolati sa različitih vrsta biljaka pripadaju različitim sojevima koji se serološki značajno razlikuju.

#### *Patogeneza*

Iako virus pripada rodu *Nepovirus*, za čije vrste je karakteristično da se prenose nematodama, novija ispitivanja nisu dokazala ranije podatke o prenošenju virusa nematodama (Jones, 1985). Smatra se da je prenošenje polenom i zaraženim semenom predstavlja glavni način širenja tokom vegetacije. Dokazano je prenošenje semenom bresta, breze, rebarbare, zove, oraha, itd (Rumbou et al., 2009). Širi se polenom maline. Veoma je važno saditi zdrav sadni materijal maline, jer se usled brzog širenja polena ceo malinjak može zaraziti u kratkom roku i prouzrokovati značajne gubitke. Na drugim domaćinima značajan način širenja virusa je i putem kalemljenja.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Zaražene biljke maline su zakržljale, listovi na plodonosnim izdancima su sitni, deformisani, sa izraženim hlorotičnim šarenilom ili prstenastom pegavošću. Na trešnji virus prouzrokuje izumiranje stabla u roku od pet godina nakon infekcije (Németh, 1979), a u slučaju kombinovane infekcije sa virusom nekrotične prstenaste pegavosti koštičavog voća taj period može biti i kraći. Zaražena stabla trešnje kasnije kreću u vegetaciju i kasnije cvetaju. Listovi se uvijaju na gore i deluje kao da pate od nedostatka vode, iako su tvrde konzistencije. Na pojedinim sortama (Early Rivers) dolazi do crvenila listova, dok se na drugim (sorta Bing) obrazuju prstenaste pege i enacije.

#### *Mere suzbijanja*

Usled prenošenja virusa polenom mere zaštite se ograničavaju na proizvodnju i prometovanje zdravog sadnog materijala proizvedenog po propisanim sertifikovanim šemama (EPPO, 1994; 2000). U Srbiji se po nalogu Ministarstva poljoprivrede sprovodi poseban nadzor u malini na prisustvo ovog virusa.

## *Virus prstenaste pegavosti paradajza (Tomato ringspot virus, ToRSV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Podfam. *Comovirinae*

Rod *Nepovirus*

### *Rasprostranjenost*

Poreklo patogena je Severna Amerika, odakle se sadnim materijalom proširio i u druge krajeve sveta. U većini slučajeva podaci o pojavi oboljenja na drugim kontinentima se vezuju za uvozne pošiljke iz Severne Amerike, pri čemu se patogen dalje ne širi, ili se širi samo lokalno usled nedostatka vektora, nematode *Xiphinema americanum* (Stace-Smith, 1984). U Srbiji je karantinski parazit (lista IA deo I), a u EU je na listi A2. Pored brojnih podataka iz Severne Amerike parazit je opisan u Africi (Egipat, Togo), Aziji (Kina, Iran, Japan, Pakistan, Južna Koreja), Australiji, Evropi (Hrvatska, Francuska, Litvanija, Rusija, itd.). U mnogim Evropskim zemljama je izvršena uspešna eradikacija. Jordović et al. (1972) su ovaj virus na malini opisali na prostoru bivše Jugoslavije.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Tipičan predstavnik roda *Nepovirus*. Prečnik izometrijskih čestica (komponenti T, M i B) je 28 nm. Genom je segmentiran u obliku dvodelne ss (+) RNK (Walker et al., 2015).

### *Krug domaćina*

Posедуje širok krug domaćina. U prirodi najčešće zaražava drvenaste i ukrasne biljke. Domaćini virusa su malina, vinova loza, breskva, trešnja i druge *Prunus* vrste, crna ribizla, ogrozd, borovnica, jagoda, jabuka, muškatla, hortenzija, gladiola, jasen, paradajz, duvan i paprika (Moini, 2010; Sokhansanj et al., 2012; EPPO, 2015a). Mnogi korovi, kao što je maslačak i mišljakinja mogu predstavljati izvor zaraze (EPPO, 2015a).

### *Patogeneza*

Pored vrste *Xiphinema americanum* kao vektori virusa su u SAD identifikovani *X. rivesi* i *X. californicum* (Stace-Smith, 1984; Brown, 1989; Širca et al., 2007). Utvrđeno je prenošenje virusa polenom muškatile, kao i prenošenje semenom paradajza, duvana, vinove loze i maslačka. Prenosi se i kalemljenjem. U malinjaku se obolele biljke obično javljaju u oazi, čija dimenzija se usled sporog prenošenja nematodama godišnje povećava za oko 2 m u prečniku (EPPO, 2015a).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus značajno smanjuje rast izdanaka maline (Freeman et al., 1975). Simptomi na listovima su u vidu hlorotičnih prstenastih pega. Virus u značajnoj meri utiče na količinu i kvalitet maline (Daubeny et al., 1975). Prinos zaraženih biljaka se prepolovljuje, a gubici u trećoj godini zaraze dostižu i do 80%.

Na vinovoj lozi oboljenje povećava osetljivost na izmrzavanje, pa tokom zime dolazi do značajnijeg izmrzavanja pupoljaka. Izdanci zaostaju u porastu, a na listovima se javlja šarenilo i prstenasta pegavost. Grozdovi su rehljavu sa znatno manjim bobicama (Martelli, 2014a). Na floemu stabla se javlja nekrotična jamičavost (Uyemoto, 1975). Lunden et al.

(2010) opisuju simptom prosvetljavanja nerava listova. Na zaraženom paradajzu simptomi su u vidu uvijanja liske i nekrotičnih prstenova na listovima. Na lisnim drškama i plodovima se takođe mogu javiti nekrotične promene (EPPO, 2015a).

Na breskvi se javljaju svetlo zelene i žute pega na listovima, duž glavnog i bočnih lisnih nerava. Plodovi mogu biti manjih dimenzija i deformisani. Neki sojevi virusa prouzrokuju jamičavost stabla breskve i drugih *Prunus* vrsta.

#### *Mere suzbijanja*

Sprovođenje karantinskih mera, stalni monitoring i poseban nadzor na prisustvo oboljenja predstavljaju osnovnu preventivnu meru. U ovu grupu mera spada proizvodnja i promet zdravog sadnog materijala. Uništavanje korova domaćina eliminiše izvor infekcija. U slučaju pojave oboljenja uništavanje vektora nematoda ublažava širenje i štete.

### *Virus zupčavosti lista trešnje (Cherry rasp leaf virus, CRLV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

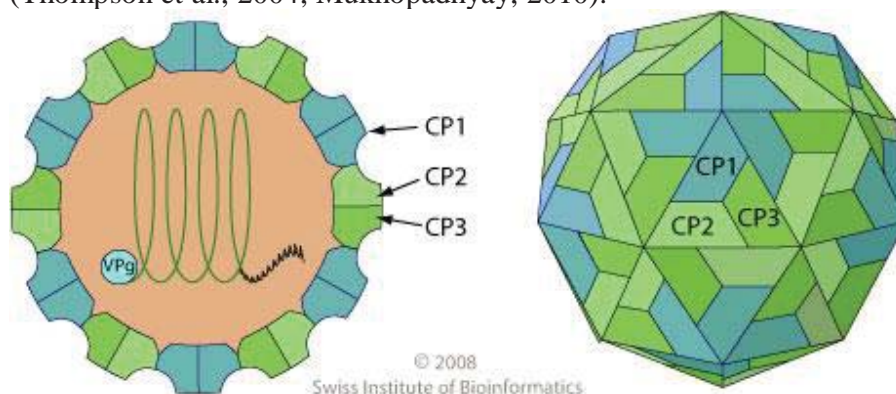
Rod *Cheravirus*

#### *Rasprostranjenost*

Kako u Evropskoj Uniji, tako i u Srbiji virus spada među štetne organizme za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji EU odnosno Republike Srbije i čije je unošenje i širenje zabranjeno. Osnovno područje rasprostranjenja virusa je Severna Amerika, a evropski podaci se odnose na zaražene pošiljke koje su otkrivene radom karantinskih službi. Pored SAD i Kanade, virus je utvrđen i u Kini (EPPO, 2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika oko 30 nm (Slika XIII.18.). Ima tri tipa čestica (T, M i B) od kojih čestice M i B sadrže po jednu ss (+)RNK (Stace-Smith i Hansen, 1976). Na 5' kraju ima protein vezan za genom (VPg), dok se 3' kraj završava poliadenilnim završetkom. U genomu su kodirani tri proteina omotača virusa (CP1, CP2 i CP3), kao i protein koji reguliše premeštanje virusa („movement protein“- MP). Čestica ima pseudo-3 triangulacioni broj (Thompson et al., 2004; Mukhopadhyay, 2010).



Slika XIII.18. Šematski prikaz građe čestice virusa šuštavosti lista trešnja (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Glavni domaćini virusa su trešnja, breskva, jabuka i malina. Utvrđeni su i domaćini virusa bez simptoma, kao što su prirodno zaražene biljke korova, maslačak i bokvica (EPPO, 2015a).

### *Patogeneza*

Virus se u prirodi sporo širi, pošto je vektor virusa nematoda *Xiphinema americana*. Prenosi se zaraženim sadnim materijalom (Stace-Smith i Hansen, 1976). Može se preneti semenom korova, ali ne i trešnje (Hansen et al., 1974).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Tipičan simptom na trešnji su enacije, u obliku zupčastih izraštaja kao na turpiji (engleski „rasp“). Formiraju se pre svega na donjim delovima krune, a obrazuju se između bočnih lisnih nerava sa naličja lista. Kako trešnja, tako i breskva zaostaju u porastu i imaju kraće internodije. Zaraženo stablo trešnje postaje osetljivije na mraz (Stace-Smith i Hansen, 1976). Na jabukama nastupa uvijanje listova koje podseća na simptome nedostatka vlage (EPPO, 2015a). Plodovi imaju spljošten oblik i deformisanu strukturu (James et al., 2000). Na malini se često ne ispoljavaju simptomi. Virus u Severnoj Americi prouzrokuje značajne štete.

### *Mere suzbijanja*

Pridržavanje mera karantina i sadnja zdravog sadnog materijala predstavljaju glavne mere zaštite, u koje spadaju i uništavanje korova i vektora-nematoda.

## *Torrado virus paradajza (Tomato torrado virus, ToTV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

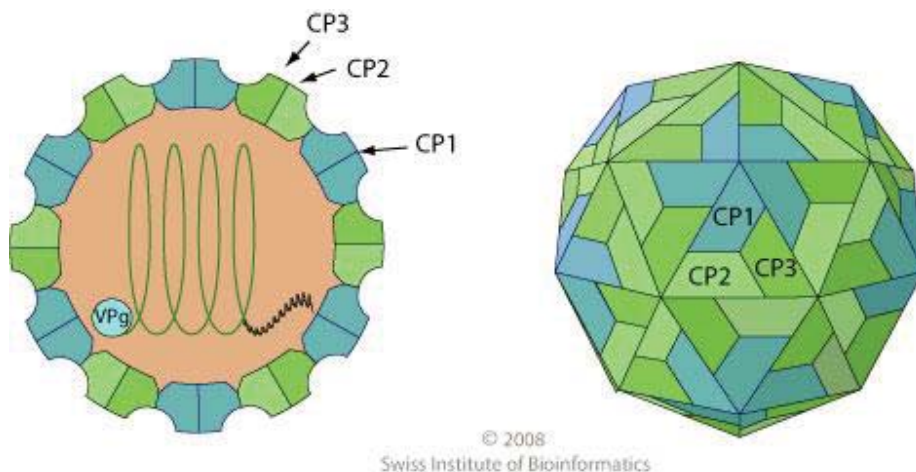
Rod *Torradovirus*

### *Rasprostranjenost*

Ovaj virus se nalazio na EPPO alert listi u periodu od 2009-2013. Nakon toga je izbrisan sa liste, pošto se pokazalo da u tom periodu nije bilo potrebnih intervencija za sprečavanje unošenja virusa na teritoriju EU. Simptomi nove viroze su utvrđeni u Španiji 2001. godine, a virus je opisan kao torrado virus paradajza 2007. godine. U Evropi je još utvrđen u Italiji, Francuskoj, Mađarskoj i Poljskoj (Alfaro-Fernández et al., 2008; 2009; 2010; Davino et al., 2010; Takács et al., 2012; EPPO, 2015). Takođe je potvrđen u Južnoj Americi (Kolumbija) i Australiji (EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika 28 nm (Verbeek et al., 2007; Slika XIII.19.). Genom je segmentiran u dva tipa čestica istih dimenzija koje sadrže po jednu ss (+) RNK (RNK 1 i RNK 2). Obe ribonukleinske kiseline imaju za genom vezani protein na 5', odnosno poliadenilni kraj na 3' kraju. Tri proteina koje ulaze u sastav proteinskog omotača su kodirani u RNK 2 (Verbeek et al., 2007; Hulo et al., 2011).



Slika XIII.19. Šematski prikaz građe čestica torrado virusa paradajza (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

U prirodnim zarazama virus je utvrđen na paradajzu i na korovima – štiru, pepeljugi, slezu, lobodi, troskotu, pomoćnici i crvenoj koleničici. Veštačkim inokulacijama je prenet na papriku, plavi patlidžan i na neke korovske biljke (Alfaro-Fernández et al., 2008; EPPO, 2015).

#### *Patogeneza*

Virus se prenosi leptirastim vašima *Bemisia tabaci* i *Trialeurodes vaporariorum* na poluperzistentan način (Amari et al., 2008; Navas-Castillo et al., 2011; Verbeek et al., 2014). Na veće udaljenosti može dospeti zaraženim rasadom paradajza. Korovi domaćini mogu predstavljati izvor zaraza.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Zaražene biljke izgledaju kao da ih je zahvatio plamen. U osnovi liske se javljaju nekrotične pege iz kojih nekrotirano tkivo ispada. Na stablu i na plodu nekroza je u vidu linija i pega. Plodovi se deformišu i nemaju ekonomsku vrednost. Usled sve veće štetnosti i rasprostranjenja vektora virusa, postoji mogućnost daljeg povećanja ekonomskog značaja virusa (Gomez et al., 2012).

#### *Mere suzbijanja*

Sadnja zdravog rasada paradajza, uništavanje korova domaćina virusa, uništavanje vektora i monitoring na pojavu oboljenja predstavljaju glavne preventivne mere zaštite.

### *Virus nekroze crne maline (Black raspberry necrosis virus, BRNV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Nije svrstan u rod

#### *Rasprostranjenost*

Smatra se da je raširen širom sveta, gde se vrste iz roda *Rubus* gaje. U Evropi je utvrđen u Francuskoj, Nemačkoj, Italiji, Holandiji, Poljskoj i drugim zemljama). Utvrđen je u Severnoj Americi (Kanada, SAD) i Australiji (Jones, 1979; 1988; CABI, 2015).



### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika 30 nm (Martin et al., 2013). Genom je dvodelan, ribonukleinske kiseline se nalaze u odvojenim česticama. Obe nukleinske kiseline imaju protein vezan za genom na 5', odnosno poliadenilni rep na 3' kraju (McGavin et al., 2010). Proteinski omotač je sastavljen od tri tipa proteina (Hulo et al., 2011).

### *Krug domaćina*

Napada biljke iz roda *Rubus*.

### *Patogeneza*

Na veće udaljenosti se širi zaraženim sadnim materijalom, čemu umnogome doprinose zaražene biljke bez simptoma. Za širenje tokom vegetacije su odgovorne lisne vaši, *Amphorophora agathonica* u Severnoj Americi, odnosno *A. idaei* (velika malinina vaš) u Evropi (Jones, 1988). Prenošenje se vrši na poluperzistentan način.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus može prouzrokovati značajne štete i na malini i crnoj malini (Daubeny et al., 1970; Jones, 1979). Usled virusne infekcije dolazi do izumiranja vrha izdanaka, što je praćeno šarenilom ili mozaikom listova (Jones, 1988). Na mnogim sortama gajenih *Rubus* vrsta nema ispoljavanja simptoma, pa tako ni na nekim sortama maline i crne maline, zatim na *R. laciniatus*, *R. armeniacus*, *R. ursinus* i nekim hibridima maline (Martin et al., 2013). Virus zaražava i korov običnu gorčiku (*Sonchus arvensis*), na kojoj se ne ispoljavaju simptomi. U Velikoj Britaniji na nekim novozasnovanim zasadima utvrđene su stoprocentne zaraze. U državi Oregon, SAD ovaj virus je jedan od glavnih prouzrokovaca izumiranja zasada crne maline (Halgren et al., 2003).

### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja i promet zdravog sadnog materijala je neizostavna mera u suzbijanju i ove viroze. Oplemenjivanje na otpornost prema lisnim vašima se pokazalo veoma efikasnim u prevenciji virusnih infekcija kod maline, ali u slučaju crne maline još nema uspeha (Martin et al., 2013). Protiv ovog virusa se uspešno sprovodi mera termoterapije biljnih delova (Jeon et al., 2010; Cheong et al., 2014). U Srbiji se sprovodi poseban nadzor za prisustvo ovog parazita u malini.

## *Virus latentne prstenaste pegavosti jagode (Strawberry latent ringspot virus, SLRSV)*

Red *Picornavirales*

Fam. *Secoviridae*

Nije svrstan u rod

### *Rasprostranjenost*

U Srbiji se ovaj virus nalazi na lista IA deo I, odnosno svrstava se među štetne organizme za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno (Sl. glasnik RS", br. 7/2010, 22/2012, 57/2015). U EPPO regionu patogen je svrstan na A2 alert listu (EPPO, 2015a). Smatra se da je u EU prisutan, ali

je područje rasprostranjenja ograničeno. Opisan je u Belgiji, Češkoj, Finskoj, Francuskoj, Mađarskoj, Rumuniji, Španiji, itd. U Aziji postoji podatak o prisustvu virusa u Turskoj, Indiji i Izraelu. Utvrđen je i u Severnoj Americi (SAD, Kanada), Australiji i Africi (Egipat).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika oko 30 nm (Murant, 1974). Genom sačinjavaju dve ss (+) RNK (RNK 1 i RNK 2), a proteinski omotač je sastavljen od dva polipeptida (Mayo et al., 1974; Tzanetakis et al., 2006). Virus je prvo bio svrstan u rod *Nepovirus*, a nakon toga u rod *Sadwavirus*. Usled razlika sa ostalim članovima ovih rodova od 2005. godine nije svrstan ni u jedan rod (Tzanetakis et al., 2006).

#### *Krug domaćina*

Virus ima veoma širok krug domaćina: zaražava jagodu, malinu, kupinu, crvenu i crnu ribizlu, trešnju, breskvu, šljivu, celer, peršun, ljljane, ružu, vinovu lozu, masline, zovu, borovnicu, itd. (Tang et al., 2013; Woo i Pearson, 2014).

#### *Patogeneza*

Virus se prenosi nematodom *Xiphinema diversicaudatum* (Lamberti et al., 1986). Na veće udaljenosti se prenosi zaraženim sadnim materijalom. Prema Murant-u (1974) prenosi se semenom celera i mišljakinje, i drugih biljaka.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na mnogim domaćinima virus ne prouzrokuje vidljive promene, odakle i potiče naziv virusa. Na pojedinim sortama jagode i maline prouzrokuje različit stepen mozaika, šarenila i prstenaste pegavosti listova. Na ruži takođe prouzrokuje prstenastu pegavost lista. Spada u manje štetne viroze.

#### *Mere suzbijanja*

Zdrav sadni materijal proizveden prema sertifikovanim šemama jagode, suzbijanje nematoda i uništavanje zaraženih biljaka predstavljaju glavne mere zaštite (EPPO, 1994a). U Srbiji se 2015. godine sprovodi poseban nadzor u malini na prisustvo ovog virusa.

### *Virus nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (Beet necrotic yellow vein virus, BNYVV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Benyviridae*

Rod *Benyvirus*

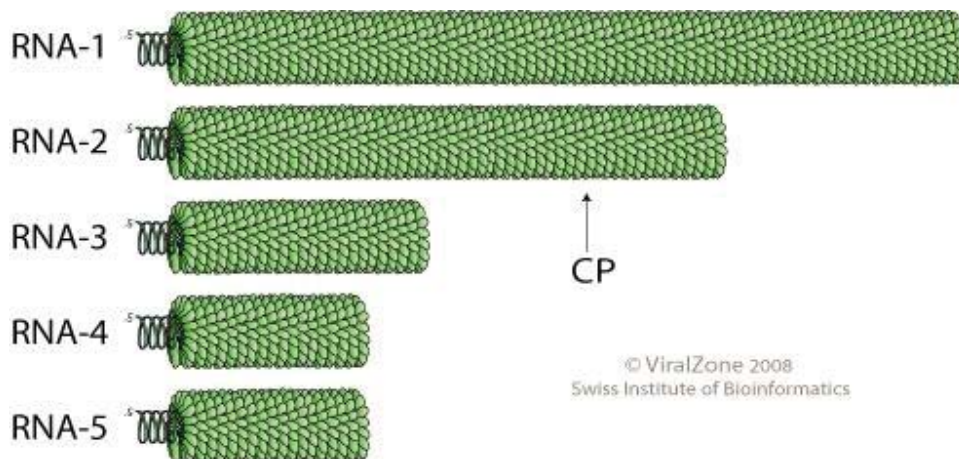
#### *Rasprostranjenost*

Virus je raširen u svim regionima gajenja šećerne repe u Evropi (EPPO, 2015). Prisutan je i u Severnoj Americi (veći broj država SAD), Južnoj Americi (Brazil), Africi (Egipat, Maroko) i Aziji (Kina, Iran, Japan, itd.). Ovaj virus je rasprostranjen i na našim njivama (Krstić i Tošić, 1990; Jasnić et al., 1999).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima štapičaste čestice sa podeljenim genomom (Slika XIII.20.). U zavisnosti od soja virusa broj čestica je četiri ili pet (Koenig et al., 1997), pri čemu je širina čestica 20 nm, a dužina od

80-390 nm. Izolati koji poseduju i petu nukleinsku kiselinu su patogeniji od izolata sa četiri RNK (Tamada, 2002). Svaka čestica sadrži po jednu ss (+) RNK, koji su označeni kao RNK 1-5. RNK 1 i 2 sadrže gene za replikaciju, proteinski omotač i kretanje virusa iz ćelije u ćeliju, dok su RNK 3, 4 i 5 odgovorne za prenošenje virusa vektorom i prouzrokovanje oboljenja. Sve ribonukleinske kiseline imaju kapu od metilgvanozina na 5' kraju i poliadenilni kraj na 3' završetku. Proteinski omotač je sačinjen od jednog polipeptida.



Slika XIII.20. Šematski prikaz građe čestica virusa nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Vrsta *Beta vulgaris* predstavlja glavnog domaćina virusa. Javlja se na šećernoj repi, stočnoj repi, cvekli, blitvi, a domaćin virusa je i spanać (EPPO, 2015a). Prema EPPO (2015) virus je opisan na korovima vodopoji (*Cichorium intybus*), posuncu (*Heliotropium europaeum*) i širokolisnoj bokvici (*Plantago major*).

#### *Patogeneza*

Vektor virusa je predstavnik carstva *Protozoa*, fitopatogeni mikroorganizam *Polymyxa betae* (Ciafardani, 1991). Čestice virusa se tokom nepovoljnih uslova sredine održavaju u trajnim sporama vektora, koje se nalaze u zemljištu nakon raspadanja tkiva obolelih biljaka. Trajne spore *P. betae* na dotad nezaražene parcele mogu dospeti i grudvama zemlje na točkovima mehanizacije, delovima mašina za obradu zemljišta, vodom ili muljem iz šećerana nakon pranja korena, kao i stajnjakom (Heijbroek, 1988). Trajne spore vektora se u zemljištu mogu održati veoma dugo- po nekim podacima čak i do 15 godina (Milošević et al., 2006). Trajne spore nakon aktiviranja obrazuju zoospore koje zaražavaju koren domaćina i time ujedno vrše infekciju domaćina virusom. Tokom vegetacije se formiraju nove generacije zoospora, koje dalje prenose virusne čestice na zdrave biljke. Nema dokaza o umnožavanju virusa u vektoru (Abe i Tamada, 1986). Kisela i vlažna zemljita pogoduju vektoru, pa ujedno i širenju virusa. Virus se može preneti semenom u slučaju da se među semenom nalaze nečistoće- grudvice zemlje (EPPO, 2015a).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus prouzrokuje takozvanu „rizomaniju“ zaraženih biljaka. Već iz tog naziva oboljenja se može zaključiti o intenzivnim promenama na korenu šećerne repe i drugih domaćina. Koren zaostaje u porastu, izdužuje se i formira veliki broj bočnih korenova, po kojima je ovaj simptom nazvan i „bradatost“ (Slika XIII.21.). U osnovi bočnih korenova se stvaraju sitni tumori. Na preseku zaraženog korena uočava se promena boje sprovodnih sudova u žuto mrku do mrku boju. Listovi su svetlije boje, sa izduženom lisnom drškom, suženi i uspravnog položaja (Slika XIII.22.). Žućenje, a zatim nekroza listova duž lisnih nerava je relativno redak simptom, iako je oboljenje po tome dobilo svoj naziv (EPPO, 2015a). Oboljenje se na polju često javlja u oazama, pre svega na udubljenim mestima, u kojima se duže zadržava voda, što odgovara vektoru virusa. U poglavlju o ekonomskom značaju biljnih viroza je već rečeno o visokim štetama koje je ovaj virus prouzrokovao kako kod nas, tako i u svetu (Jasnić et al., 2006). Štete mogu dostići i do 60-70% smanjenja prinosa korena i preko 4 % digestije (Šutić i Milovanović, 1980; EPPO, 2015a). Strausbaugh et al. (2008) su dokazali da su gubici u periodu od žetve pa do prerade, odnosno u intervalu dok izvađeni koren „čeka“ preradu od strane šećerane znatno veći u slučaju zaraženosti virusom nekrotičnog žutila nerava šećerne repe. Ovaj podatak je značajan uzimajući u obzir činjenicu da zbog preradnih kapaciteta šećerane u Srbiji postepeno otkupljuju slatki koren, te su se dešavale godine (2014) kada je koren i po nekoliko meseci stajao na prizmi. Mou et al. (2012) su utvrdili značajne gubitke prouzrokovane na spanaću, pri čemu je intenzitet oboljenja i ekonomska štetnost zavisila od soja virusa i genotipa spanaća.



Slika XIII.21. Simptomi virusa nekrotičnog žutila nerava šećerne repe na korenu (Foto: Stojšin)



Slika XIII.22. Simptom žućenja šećerne repe usled zaraze virusom nekrotičnog žutila nerava šećerne repe (Foto: Neher)

### *Mere suzbijanja*

Usled postojanosti vektora u zemljištu višegodišnji plodored je jedna od najznačajnijih mera zaštite protiv virusa (Milošević et al., 2006). Prema Blunt et al. (1992) gubici se smanjuju ranijom setvom šećerne repe, ali je ova mera u praksi često ograničena nepovoljnim uslovima za setvu u rano prolećnom periodu. Usled visokih troškova više u teoretske, nego u praktične mere zaštite spadaju proizvodnja šećerne repe iz rasada, promena pH vrednosti zemljišta i fumigacija parcele radi uništavanja vektora.

Do pred kraj XX veka, vršeno je uzorkovanja zemljišta sa parcela na kojima se planiralo gajenje šećerne repe da bi se putem setve „mamac-biljaka“ ispitalo prisustvo vektora i virusa

(Beemster i de Heij, 1987). U slučaju odsustva virusa na parcele su se sejale na virus osetljive, ali prinodne sorte, dok u slučaju pozitivnog rezultata su se sejale tolerantne sorte šećerne repe. Ova praksa je zahvaljujući intenzivnom oplemenjivačkom radu izgubila u značaju.

Kao najefikasnija mera u zaštiti protiv ove viroze se pokazalo gajenje otpornih genotipova šećerne repe. Jedan od vidova otpornosti protiv rizomanija je tolerantnost, kod koje genotipovi sadrže i do sto puta nižu koncentraciju virusa u odnosu na osetljive sorte (Asher i Kerr, 1996). Geni otpornosti koji se najčešće koriste su Rz1, poreklom iz *B. vulgaris* spp. *vulgaris*- genotip Holly (Holly tip otpornosti) i Rz2 iz divlje šećerne repe *Beta vulgaris* spp. *maritima* (Rizor tip rezistencije). Njihova uloga se zasniva na ograničavanju umnožavanja ili translokacije virusa, a ne na sprečavanju infekcija od strane *P. betae* (Scholten et al., 1994; Stevanato et al., 2015). Liu et al. (2005), Bornemann i Varrelmann (2011) i Bornemann et al. (2015) i drugi upozoravaju na prisustvo i rasprostranjenje soja virusa koji prevazilazi otpornost Rz1 gena, tako da je potreban dalji kontinuirani oplemenjivački rad.

Mogući put stvaranja otpornih genotipova šećerne repe je i korišćenje savremenih metoda biotehnologije i stvaranje transgene otpornosti (Mannerlöf et al., 1996; Nagl, 2003; Nagl et al., 2005; Zare et al., 2015).

### *Virus mozaika lucerke (Alfalfa mosaic virus, AMV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Bromoviridae*,  
Rod *Alfavirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen širom sveta (EPPO, 2015). U Srbiji je utvrđen na lucerki 60-ih godina prošlog veka (Babović, 1965). Virus je opisan u Srbiji kao značajan i rasprostranjen parazit duvana, paprike, paradajza i drugih biljaka (Šutić, 1995).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Detaljno o ovom virusu je bilo reči i u poglavlju „Građa virusa“. Virus ima višedelni genom od tri ss (+) RNK (RNK 1-3), dok je četvrta, RNK 4 subgenomska (Trucco et al., 2014). Čestice virusa su baciloidne, prečnika 18 nm, dužine 30, 35, 43 odnosno 56 nm (Brunt et al., 1996; Slika V.5.). Utvrđena je i peta čestica, koja je bez RNK sadržaja, prečnika oko 18 nm, sa T=1 triangulacionim brojem (Kumar et al., 1997). U zavisnosti od veličine čestice sadrže oko 16% ribonukleinske kiseline i 84% proteina. Sve čestice imaju proteinski omotač sagrađen od istog polipeptida (Japars i Bos, 1980). Na bazi filogenetskih analiza CP gena, odnosno gena za kodiranje proteinskog omotača (Parrella et al., 2000) sojevi virusa se svrstavaju u dve geografske podgrupe (I i II). Grupa autora predvođena istim naučnikom (Parrella et al., 2011) predlažu dalju podelu podgrupa na manje grupe sojeva.

#### *Krug domaćina*

Među prirodne domaćine virusa spada oko 150 vrsta jednogodišnjih i višegodišnjih biljaka iz 22 porodice. Virus ima širok krug domaćina, među kojima su lucerka, paprika, paradajz, krompir, duvan, gajene biljke iz porodice *Cucurbitaceae*, pasulj i dr. (EPPO, 2015). Brunt et al. (1996) među domaćine ubrajaju i celer, salatu, grašak, detelinu, soju, sočivo, i druge

biljke. Većina biljaka domaćina pripada prorodicama *Fabaceae*, *Solanaceae* i *Asteraceae* (Japars i Bos, 1980; Stanković et al., 2011a). Delibašić et al (2013) su prvi put opisali ovaj virus na bagremu, Vrandečić et al. (2013) na lavandi u Hrvatskoj, a Milošević et al. (2015) na šafranici u Srbiji. Virus je utvrđen i na mnogim biljkama spontane flore i korovskim biljkama, kao što su pepeljuga, mišljakinja, velebilja i dr. (Šutić, 1995).

#### *Patogeneza*

Virus se veoma efikasno prenosi većim brojem vrsta lisnih vaši (*Acyrtosiphon pisi*, *A. fabae*, *Macrosiphon euphorbiae*, *Myzus persicae*, *Phorodon humuli* i dr.) na neperzistentan način. Prenosi se i semenom nekih domaćina, pri čemu procenat zaraženog semena zavisi od domaćina, soja virusa, vremena infekcije i drugih faktora. U slučaju lucerke procenat zaraze semena može dostići i 10%, a slučaju paprike 1-5 % (Šutić, 1959). Virus se presnosi i polenom nekih domaćina (Valkonen et al., 1992). Lako se prenosi i mehanički dodiranjem biljaka u gustom sklopu ili agrotehničkim merama.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus ima veliki broj domaćina, a takođe i veliki broj različitih sojeva, što utiče na raznolikost u ispoljavanju simptoma oboljenja. Simptomatologija je često otežana i zbog mešanih infekcija sa dva ili više virusa. Čak i unutar izolata virusa sa istog domaćina postoji velika varijabilnost virusa u ispoljavanju simptoma (Stanković et al., 2011a; 2014). Na lucerki virus prouzrokuje mozaik, šarenilo i deformacije listova (Jasnić, 2005). U nekim slučajevima se ne ispoljavaju upadljivi simptomi oboljenja. Na krompiru dolazi do žućenja listova (kaliko) i nekroze krtola (Šutić, 1995). Stanković et al. (2011a) na duvanu opisuju simptome u vidu hlorotičnih ili nekrotičnih pega i hlorotičnog prstenastog prošaravanja listova. Pored toga, javlja se hloroza i hlorotično šarenilo, žuti mozaik, zlatno žute šare a i ređe deformacije listova. Na paprici, mrkvi, celeru, salati, detelini i nekim drugim domaćinima javlja se žuti mozaik i šarenilo koje je na paradajzu praćeno i nekrozom lista (Šutić, 1995; Abdala i Ali, 2012; Duduk i Duduk, 2013; Slika XIII.23 i 24). Virus može umanjiti rod paprike i do 65% (Šutić, 1995). Na listovima paprike simptomi se često ispoljavaju u vidu beličastih pega. Takođe može doći do deformacije plodova. Virus prouzrokuje značajne ekonomske štete na svim domaćinima. Tako na primer virus može smanjiti prinos sena lucerke za 11-17% (Frosheiser, 1969), a prinos zelene mase za oko 65% (Beczner, 1968).



Slika XIII.23 i 24. Simptomi virusa mozaika lucerke na paprici (Foto: Jasnić)

#### *Mere suzbijanja*

Jedna od najvažnijih mera je kontola semenskih useva i obezbeđivanje zdravog semena lucerke. Krstić et al. (2010) su razvili metodu za uzorkovanje i testiranje zaraženosti semena lucerke. Prostorna izolacija domaćina virusa od starih lucerišta i drugih izvora zaraze doprinosi smanjenju zaraza. Usled neperzistentnog prenošenja virusa lisnim vašima tretiranje insekticidima ne pruža potpunu zaštitu useva. Uništavanje korova- domaćina, kao i zaraženih gajenih biljaka je korisna preventivna mera.

#### *Virus mozaika ovsike (Brome mosaic virus, BMV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Bromoviridae*  
Rod *Bromovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je utvrđen u Africi, Severnoj Americi, Evropi i Aziji (Wooley i Kao, 2004). Tošić (1971) je prvi put opisao ovaj virus u Srbiji.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ovaj virus je u brojnim istraživanjima služio kao model za ispitivanje umnožavanja, ispoljavanja gena i građe virusa sa ss (+)RNK genom (Noueiry i Ahlquist, 2003; Diaz i Wang, 2014; Slika XIII.25.). Virus ima trodelni genom (RNK1, 2 i 3), a formira i subgenomsku RNK 4 (Choi i Rao, 2003; Vaughan et al., 2014). Tri genomske nukleinske kiseline se nalaze u zasebnim česticama istih dimenzija od oko 26 nm. Ima jedan tip proteina u omotaču. Triangulacioni broj je 3, broj proteinskih podjedinica u omotaču je 180 (Wooley i Kao, 2004). Građa virusa iz roda *Bromovirus* je obrađena i u okviru poglavlja „Građa virusa“.



Slika XIII.25. Model čestice virusa mozaika ovsike (slika ustupljena ljubaznošću Viperdb2 sajta, Carillo-Tripp et al., 2009)

#### *Krug domaćina*

Virus je prvo izolovan sa bezosnog vlasena (*Bromus inermis*). Prirodni domaćini virusa su monokotiledone biljke: kukuruz, ječam, raž, kao i pojedini korovi iz porodice *Poaceae*.

#### *Patogeneza*

Postoji više podataka o vektorima ovog virusa. Prema podacima Schmidt et al. (1963) prenosi se vrstama iz roda *Xiphinema*. Ryden (1989) navodi da je u laboratorijskim uslovima virus preneo prugasti žitni buvač (*Phyllotreta vittula*). Urbanavičiene i Žižyte (2012) navode da žitni buvač (*Chaetocnema aridula*) i žitna pijavica (*Oulema melanopus*) takođe mogu biti vektori virusa. Isti autori smatraju da u prenošenju imaju ulogu i životinje koje se kreću u usevu, kao i poljoprivredna mehanizacija, pošto se virus uspešno prenosi sokom zaraženih biljaka. Virus se održava se u prirodnim domaćinima.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi viroze se ispoljavaju u vidu žutih i mrkih pruga duž nerava na listovima, koje mogu biti praćene nekrozom i izumiranjem mladih biljaka. Rano zaražene biljke zaostaju u porastu i imaju skraćeni klas (Šutić, 1995). Ryden (1989) je na strnim žitima (ovsu, ječmu i pšenici) registrovao gubitke u prinosu od 40-55%.

#### *Mere suzbijanja*

Mere zaštite su ograničene na plodored, uništavanje korova i zaraženih biljaka, kao i mere koje se odnose na smanjenje populacije vektora.

### *Virus mozaika krastavca (Cucumber mosaic virus, CMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Bromoviridae*

Rod *Cucumovirus*

#### *Rasprostranjenost*

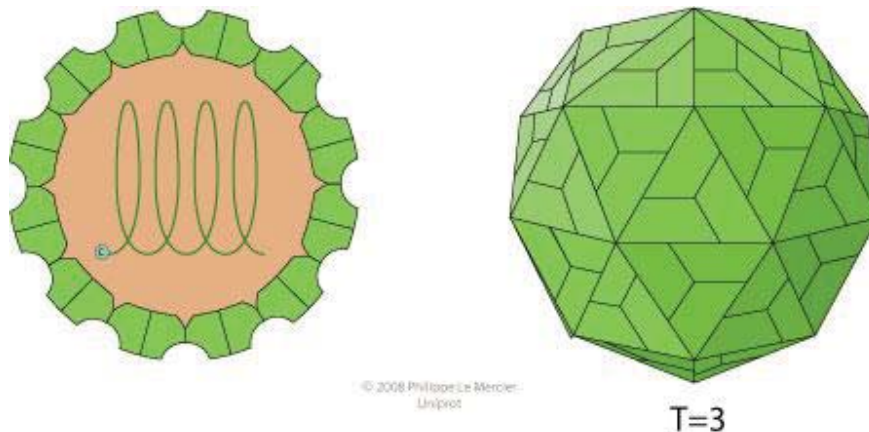
Virus je rasprostranjen širom sveta (EPPO, 2015). Prema Vučurović et al. (2011) virus je u Srbiji je prvi put opisan na dinji (Stakić i Nikolić, 1966) i drugim biljkama porodice



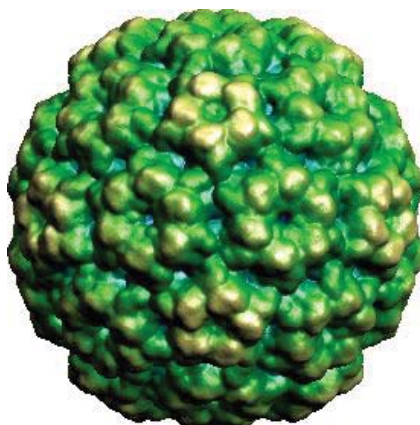
*Cucurbitaceae* (Pejčinovski, 1978), a otkriven je i na paprici, paradajzu, duvanu, lucerki, crvenoj detelini i drugim gajenim biljkama (Šutić, 1995).

*Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Građa virusa iz roda *Cucumovirus* je obrađena i u okviru poglavlja „Građa virusa“. Virus je izometrijskog oblika, prečnika oko 30 nm (Palukaitis i Garcia-Arenal, 2003; Slika XIII.26 i 27). Virus ima četiri vrste ss (+) RNK, pri čemu su tri genomske, a RNK-4 je subgenomska. Ribonukleinske kiseline se nalaze u tri tipa čestica virusa, pri čemu su RNK 1 i RNK 2 nalaze samostalno u česticama, a RNK 3 i RNK 4 se nalaze zajedno u jednoj čestici. Kapsid je sastavljen od 180 identičnih proteinskih podjedinica sa trinagulacionim brojem 3 (Hulo et al., 2011). Čestice mogu sadržati kratke, takozvane satelitne RNK, koje nisu potrebne za replikaciju virusa (Palukaitis i Garcia-Arenal, 2003). Odnos sadržaja proteina i ribonukleinske kiseline je oko 82:18%. Na osnovu seroloških karakteristika i analize sekvenci, mnogobrojni sojevi virusa su svrstani u podgrupe I i II sa daljom podelom na podgrupe (Zitter i Murphy, 2009).



Slika XIII.26. Šematski prikaz građe čestice virusa mozaika krastavca (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)



Slika XIII.27. Model čestice virusa mozaika krastavca (slika ustupljena ljubaznošću Viperdb2 sajta, Carillo-Tripp et al., 2009)

### *Krug domaćina*

Virus ima veoma širok krug domaćina koji obuhvata oko 1200 vrsta iz preko 100 porodica dikotiledonih i monokotiledonih biljaka. Među gajenim biljkama domaćini su krastavac, tikve, lubenica, dinja i druge vrežaste biljke, paprika, paradajz, patlidžan, duvan, salata, celer, spanać, pasulj, lucerka, crvena detelina, mrkva i brojne druge vrste biljaka (Dukić et al., 2004; Đekić et al., 2008; Zitter i Murphy, 2009; Petrović et al., 2010; Krstić et al., 2002). Domaćini su i brojni korovi, kao i veliki broj ukrasnih biljaka. Milošević et al. (2015a) su virus mozaika krastavca u Srbiji opisali na nevenu.

### *Patogeneza*

Virus se prenosi na neperzistentan način sa preko 80 vrsta lisnih vaši koje pripadaju rodovima *Acyrtosiphon* (*A. pisum*), *Amphorophora*, *Aphis* (*A. fabae*), *Brachycaudus*, *Brevicoryne* (*B. brassicae*), *Hyalopterus*, *Myzus* (*M. persicae*, *M. cerasi*), *Phorodon* (*P. humuli*), *Rhopalosiphum* (*R. maydis*) i dr. Sojevi virusa se razlikuju po uspešnosti prenošenja lisnim vašima, što je uslovljeno razlikama u proteinskom omotaču ovih sojeva (Gera et al., 1979). Prenosi se semenom oko 20 vrsta biljaka domaćina (Palukaitis et al., 1992; Šutić, 1995). Rist i Lorbeer (1991) su ukazali na epidemiološki značaj zaraženog semena korova kao izvora inokuluma u narednoj vegetaciji. Virus se lako prenosi mehanički sokom zaraženih biljaka (Šutić, 1995), kao i sa 10 vrsta viline kosice (*Cuscuta* spp.).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

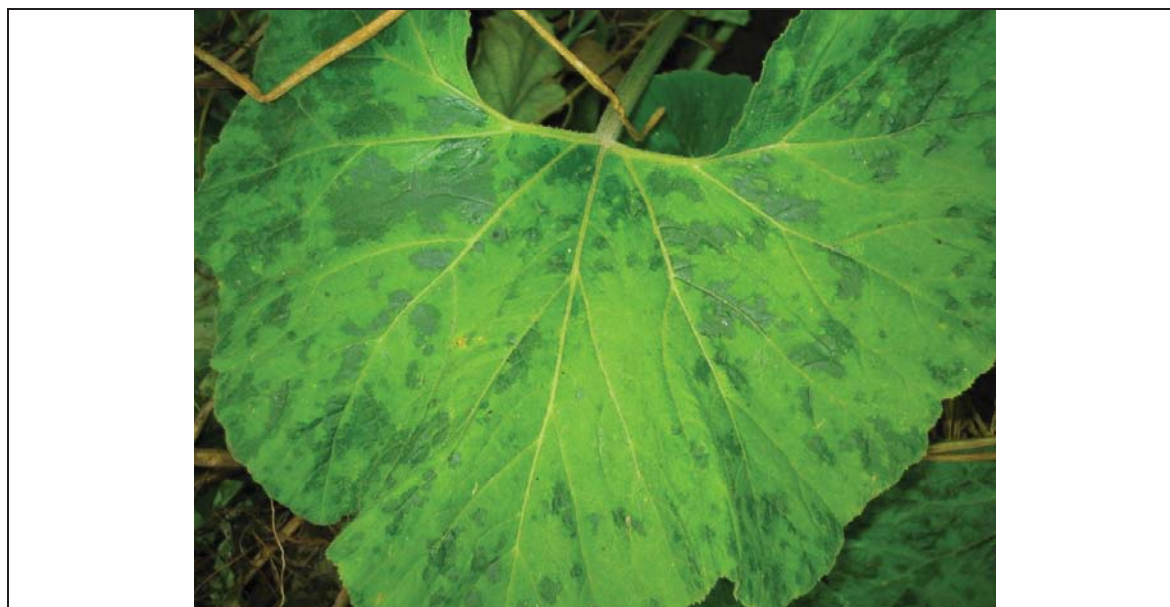
Usled velikog broja sojeva virusa, širokog spektra domaćina simptomi oboljenja u značajnoj meri variraju. Vučurović et al. (2011) na tikvama opisuju veoma raznovrsne simptome na svim nadzemnim organima: mozaik, hlorozu, šarenilo listova, klobučavost listova, potpunu redukciju lisne površine do nitavosti. Na vrežama zaraženih biljaka ovi autori navode mozaično prošaranje, a na plodovima deformisanost sa različitim bradavičastim izraštajima na površini. Usled ranih infekcija, dolazi do nekroze tek zametnutih plodova ili do potpunog izostanka formiranja plodova. Plodovi zaraženi u kasnijim fazama razvoja ispoljavaju različite vidove mozaičnih promena.

Na lubenici i drugim vrežatim biljkama se na listovima takođe ispoljava blagi do izraženi mozaik, hlorotična prošaranost, kao i blaga deformisanost lista sa manje ili više izraženom klobučavosti (Milojević et al., 2012; 2013; Slika XIII.28.). Pojava bradavica u vidu manjih ili većih ispupčenja na plodovima krastavca je karakterističan simptom ove viroze. Pored ovih simptoma na listovima krastavca se javlja žuti mozaik praćen deformacijom liske. Zaražene biljke su kržljave i imaju žbunast izgled, slabo cvetaju, te se formira manji broj plodova.

Na mladim biljkama paprike se javlja hloroza listova. Kasnije se na listovima ispoljava mozaik, hrastoliki mozaik, mozaično šarenilo ili prstenasta pegavost (Zitter i Murphy, 2009; Petrović et al., 2010). Kasnije razvijeni listovi su deformisani, klobučavi, često suženi-vrholiki (Šutić, 1995). Plodovi su kržljavi, izobličeni, neupotrebljivi za upotrebu.

Zaražene biljke paradajza zaostaju u porastu i ispoljavaju mozaično šarenilo na listovima. Upadljiv simptom je nitavost listova, kada dolazi do veoma jake redukcije lisne površine (Slika XIII.29). Na paprici se ispoljava mozaik i značajno zaostajanje u porastu (Slika XIII.30). U zavisnosti od soja, domaćina i ekoloških uslova virus mozaika krastavca na svojim domaćinima može prouzrokovati i nekrotične promene. Virus mozaika krastavca se u svojim domaćinima često nalazi u mešanim infekcijama sa drugim virusima, što onemogućuje determinaciju virusa na osnovu simptoma.

Virus najveće štete čini u umereno toplim regionima gde su povoljni uslovi za vektore (Vučurović et al., 2011; Palukaitis et al., 1992). Gubici na paprici i paradajzu mogu iznositi 60-100% (Šutić, 1995), a tako visoke gubitke može prouzrokovati i na drugim domaćinima.



Slika XIII.28. Simptom virusa mozaika krastavca na listu bundeve (Foto: Bagi)



Slika XIII.29. Nitavost listova paradajza (Foto: Bagi)



Slika XIII.30. Simptomi virusa mozaika krastavca na paprici (Foto: Jasnić)

#### *Mere suzbijanja*

Usled širokog kruga domaćina, velike rasprostranjenosti i efikasnog prenošenja virusa preventivne mere protiv virusa, kao što je obezbeđivanje prostorne udaljenosti između osetljivih useva, suzbijanje korova domaćina, uništavanje zaraženih biljaka, upotreba insekticida protiv vektora i druge često ne daju zadovoljavajući rezultat.

Svakako najefikasnija preventivna mera protiv ove viroze je oplemenjivanje na otpornost prema virusu. Kod paprike su identifikovani geni odgovorni za hipresenzitivnu reakciju prema virusu mozaika krastavca (Lapidot et al., 1997; Horváth i Gáborjányi, 1999). U slučaju tikava izvor otpornosti na CMV u vidu jednog dominantnog gena identifikovan je u

genotipu *Cucurbita moschata* (Bulajić et al., 2010). Jedan od problema sa kojim se susreće oplemenjivanje na otpornost je postojanje velikog broja soja virusa, te je stvorena otpornost često ograničena samo na neke sojeve.

Otporne biljke prema virusu mozaika krastavca su dobijene i biotehnoškim metodama, kao rezultat ekspresije virusnog proteina prema virusu mozaika krastavca (Bulajić et al., 2010; Sastry i Zitter, 2014; Choi et al., 2015 ).

Ispituje se mogućnost biološke zaštite putem korišćenja satelitnog RNK, pošto je primećeno da virus u prisustvu satelitnog RNK prouzrokuje samo blage simptome na zaraženoj biljci (Tien et al., 1987; Hull, 2004). Takođe su postignuti određeni rezultati metodom unakrsne zaštite (Kosaka i Fukunishi, 1997).

### *Virus kržljivosti šljive (Prune dwarf virus, PDV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Bromoviridae*

Rod *Ilarvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Smatra se da je rasprostranjen svuda u umerenom klimatu gde se gaji šljiva i drugi domaćini (Fulton, 1970). Virus je prisutan i u Srbiji (Jordović, 1955; Bagi et al., 2012).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika oko 20 nm. Genom je segmentiran, trodelan, dok je četvrta RNK subgenomska (Kalinowska et al., 2014). RNK 1 i RNK 2 kodiraju proteine potrebne za replikaciju virusa, dok RNK 3 preko svoje subgenomske RNK 4 kodira formiranje proteinskog omotača i proteine potrebne za kretanje. RNK 3 i 4 se nalaze u istoj čestici (Bachman et al., 1994). Protein čini oko 86% mase čestice.

#### *Krug domaćina*

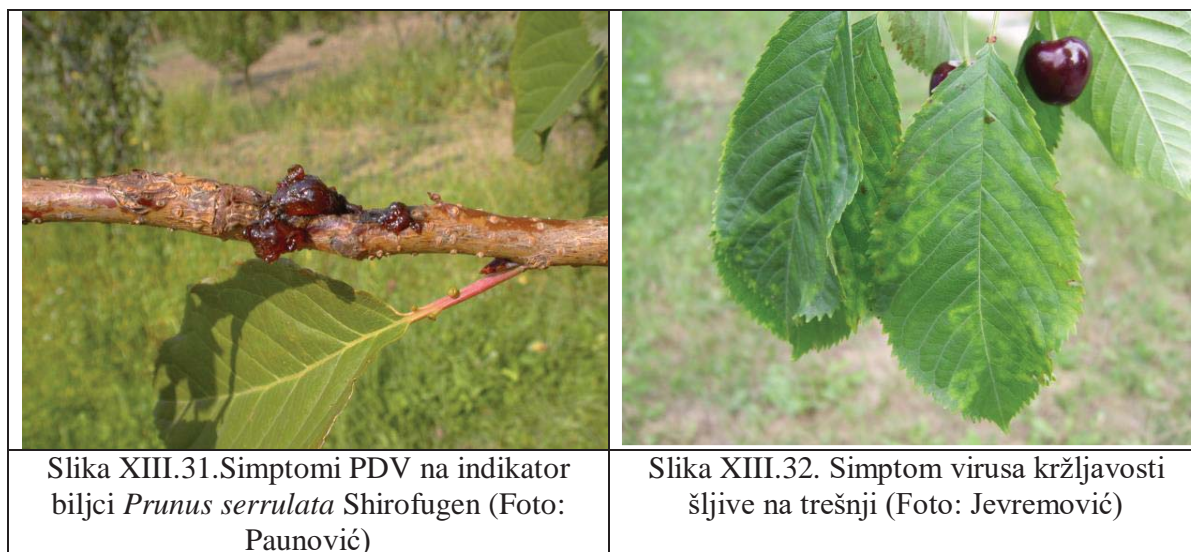
Virus zaražava brojne vrste iz roda *Prunus*, među kojima su šljiva, badem, višnja, trešnja, breskva i kajsija (Németh, 1979; Zindović, 2013). Između izolata sa različitih domaćina i iz različitih geografskih regiona postoji varujabilnost (Vašková et al., 2000).

#### *Patogeneza*

Održava se u zaraženim domaćinima, prenosi se putem kalemljenja. Prenosi se i putem polena i semena trešnje (Kelley i Cameron, 1986). Silva et al. (2003) su utvrdili prisustvo virusa i u polenu badema. U prenošenju zaraženog polena breskve ulogu imaju pčele i tripsi (Uyemoto et al., 1992; Greber et al., 1992).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi variraju od jedva primetnih do veoma izraženih koje prouzrokuju značajne gubitke (Slika XIII.31.). U slučaju šljive prouzrokuje kržljivost stabla i sužavanje liske. Kod trešnje se javlja hlороza, hlорotična pegavost i prstenavost listova (Slika XIII.32.), a može se javiti i pucanje plodova. Utiče na redukciju veličine ploda domaćina. Virus može da smanji prinos pojedinih sorti šljiva i za 80% (Kegler, 1977).



#### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja i promet zdravog sadnog materijala proizvedenog po sertifikacionim šemama predstavlja osnovu zaštite protiv ovog virusa (Paunović i Jevremović, 2010). Redovna kontrola matičnih stabala kao i sejanaca-podloga je veoma važna (Bagi et al., 2012; Budakov et al., 2015). Uništavanje zaraženih biljaka doprinosi sprečavanju daljeg širenja oboljenja. Razvijene su savremene molekularne metode za brzo identifikovanje i kvantifikaciju virusa u biljnom tkivu (Jarošová i Kundu, 2010).

#### *Linijski mozaik šljive (American plum line pattern virus)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Bromoviridae*  
Rod *Ilarvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Najviše nalaza virusa potiče iz Severne Amerike. Smatra se da je odsutan sa evropskog kontinenta, iako postoje pojedinačni nalazi i u Evropi (Albanija, Italija). Utvrđen i na Novom Zelandu (Fulton, 1984; EPPO, 2015). U Srbiji se nalazi na listi IA deo I, odnosno spada među štetne organizme za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno. U Evropskoj Uniji se takođe nalazi na A1 listi karantinskih parazita.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Genom virusa je segmentiran i trodelan, odnosno sastoji se od tri ss (+) RNK, ali virus ima četiri tipa izometrijskih čestica čiji prečnici iznose 26, 28, 31 i 33 nm (Brunt et al., 1996). Utvrđen je nizak stepen varijabilnosti u sastavu proteinskog omotača između izolata (Herranz et al., 2008). Scott i Zimmerman (2001) su utvrdili redosled nukleotida u celokupnom genomu virusa.

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćin virusa je šljiva, a utvrđen je i na breskvi, kao i na još nekim *Prunus* vrstama (japanska šljiva – *P. salicina*, japanska trešnja- *P. serrulata* i dr).

### *Patogeneza*

Virus se održava u zaraženim biljkama i širi putem kalemljenja i prometa sadnog materijala. Do sada nije utvđen vektor virusa, ne prenosi se ni semenom (EPPO, 2015a).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi su uočljivi u prolećnom periodu, kada su prosečne dnevne temperature ispod 15°C (EPPO, 2015a). U zavisnosti od sorte na listovima šljive se ispoljavaju nepravilne hlorotične linije-linijski mozaik ili hrastoliki mozaik (Alayasa et al., 2003). Na listovima breskve se tokom proleća primećuju nepravilne svetlozelene zone koje se mogu stvarati simetrično ili asimetrično. Na pojedinim listovima se može stvoriti mrežasti linijski ili hrastoliki mozaik, kao i prstenaste pege ili hrastoliki mozaik.

### *Mere suzbijanja*

Kontrola uvoznog sadnog materijala i monitoring zdravstvenog stanja domaćina predstavljaju osnovne zadatke u merama prevencije u Srbiji. Proizvodnja sadnog materijala po sertifikacionim šemama i stavljanje u promet zdravog sadnog materijala takođe spadaju u preventivne mere zaštite. Sánchez-Navarro et al. (2005) su razvili RT-PCR protokol po kojem se jednim postupkom u sadnom materijalu koštičavog voća detektuje prisustvo osam ekonomski značajnih virusa, među kojima se nalazi i virus linijskog mozaika šljive.

## *Virus mozaika jabuke (Apple mosaic virus, ApMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Bromoviridae*

Rod *Ilarvirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus mozaika jabuke je opšte raširen na domaćinima iz porodice *Rosaceae* u Evropi (Lolić et al., 2007; Grimová et al., 2013; Valasevich et al., 2015), ali je na malini i drugim *Rubus* vrstama u Evropi opisan samo u Nemačkoj (Baumann et al., 1982; EPPO, 2015a), zbog čega se virus nalazi na karantinskim listama za malinu. U Severnoj Americi je rasprostranjen i na *Rubus* vrstama (Converse i Casper, 1975). Utvrđen je i na drugim kontinentima (Thokchom et al., 2009; EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Genom virusa je trodelan, pri čemu se nukleinske kiseline nalaze u tri izometrijske čestice prečnika između 25 i 29 nm (Sánchez-Navarro i Pallás, 1994; Brunt et al., 1996). Virus formira i subgenomsku RNK (Alrefai et al., 1994; Shiel i Berger, 2000). Proteinski omotač je sagrađen od jedne vrste proteina i čini oko 84% mase čestica.

### *Krug domaćina*

Glavni prirodni domaćin virusa je jabuka, ali se među domaćine ubraja i divlji kesten, hmelj, dunja, ruža, pitomi kesten, lešnik, malina i druge *Rubus* vrste (Rybicki, 1995; EPPO, 2015). Petrzik (2005), kao i Uzunogullari i Ilbagi (2009) opisuju ovaj virus i na krušci koja ranije nije smatrana domaćinom virusa. Prema novijim podacima domaćini virusa su i kajsija, trešnja, badem, šljiva, breskva, breza (Valasevich et al., 2015), jagoda (Tzanetakis i Martin,

2005), a izolovan je i iz alge roda *Trebouxia* koja je u simbiozi sa lišajevima (Petrzik et al., 2014).

#### *Patogeneza*

Virus se održava u zaraženim biljkama i prenosi se kalemljenjem i vegetativnim sadnim materijalom (Dhingra, 1972). Iako je virus serološki srodan virusu nekrotične prstenaste pegavosti koštičavog voća koji se prenosi polenom, u slučaju virusa mozaika jabuke nije utvrđeno prenošenje na ovaj način. Takođe nije poznat ni vektor virusa. Zapaženo je prenošenje putem kontakta korena zaražene i nezaražene biljke (Agbas i Degirmenci, 2009).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus ne prouzrokuje ispoljavanje simptoma na *Rubus* vrstama, što otežava detekciju virusa (EPPO, 2015a). Na jabuci prouzrokuje mozaik i linijski mozaik na listovima. Hlorotiče površine jarko žute boje se na listovima jabuke često javljaju u vidu traka duž lisnih nerava ili u vidu pega (Slika XIII.33.). Na šljivi se javlja linijski i hrastoliki mozaik listova, na ruži mozaik, prstenaste pege sa hlorotičnim trakama i linijama na listovima (Li et al., 2009; Akbaş i Değirmenci, 2010). Hlorotične linije i mozaik se javljaju i na hmelju i dunji (Fulton, 1972). Prema Šutić et al. (1999) Zlatni Delišeš i Jonatan spadaju među najosetljivije sorte jabuke na ovaj virus. Na klonovima sorte Greni Smit nema simptoma, zbog čega se virus širi upravo ovom sortom. Prema Cembali et al. (2003) na Zlatnom Delišešu gubici u prinosu mogu iznositi i do 46%. Virus utiče na smanjenje porasta izdanaka, oplodjenje, veličinu ploda, prinos po stablu i sadržaj askorbinske kiseline u plodu (Thokchom et al., 2009).



Slika XIII.33. Simptom virusa mozaika jabuke na jabuci (Foto: Jevremović)

#### *Mere suzbijanja*

U Republici Srbiji u zasadima vrsta iz roda *Rubus* vrši poseban nadzor na prisustvo ovog virusa. U mere suzbijanja spada karantinski pregled i proizvodnja i promet zdravog sadnog materijala. Veoma bitna je kontrola sadnog materijala koji se uvozi u Srbiju, jer je i u uvoznom materijalu detektovan virus (Paunović i Jevremović, 2010). Virus se iz zaraženog biljnog tkiva može eliminisati i kulturom meristema (Theiler-Hedtrich i Baumann, 1989).

## *Virus nekrotične prstenaste pegavosti koštičavog voća (Prunus necrotic ring spot virus, PNRSV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Bromoviridae*

Rod *Ilarvirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus je raširen na svim kontinentima (EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima izometrijske čestice od 23, 25 i 27 nm (Brunt et al., 1996). Genom se sastoji iz tri ss (+) RNK, kao i četvrte, subgenomske RNK (Cui et al., 2012). Protein čini oko 16% mase čestica. Unutar vrste postoji značajna varijabilnost, te se sojevi virusa svrstavaju u više grupa (Aparicio et al., 1999; Myrta et al., 2001).

### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa su vrste iz roda *Prunus* -breskva, trešnja, badem, šljiva, višnja, kajsija i druge (Oliver et al., 2009). Utvrđen je na ruži i na hmelju (Fulton, 1970a; Moury et al., 2001). Kulshrestha et al (2005) su ovaj virus u Indiji opisali na muškati.

### *Patogeneza*

Virus se prenosi polenom, semenom i zaraženim sadnim materijalom (Kelley i Cameron, 1986). Veoma se uspešno prenosi semenom trešnje (76,9-88,8%), dok se semenom badema prenosi manje efikasno 9% (Vertesy, 1976; Barba et al., 1986; Kryczynski et al., 1992). Fritzsche i Kegler (1968) su izveštavali o prenošenju virusa od strane nematode *Longidorus macrosoma*, ali nema kasnijih podataka o prenošenju nematodama.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Oboljenje se ispoljava u vidu prve, takozvane šok-faze ili akutne faze, dok se kasnije ispoljavaju simptomi hronične faze oboljenja. Tokom prve faze oboljenja dolazi do ispoljavanja oštih i jasnih zankova oboljenja, tako se na listovima višnje javljaju nekrotične pege koje se kidaju i ispadaju. Na listovima trešnje javljaju se i nekrotične pege i linije (Slika XIII.34.). Nekrotično tkivo ispada izazivajući rupičavost i šupljikavost listova. U akutnoj fazi javlja se i izumiranje lastara. Slični simptomi u obliku nekrotičnih pega formiraju se i na listovima breskve, kajsije i šljive. Nekrotično tkivo ispada obrazujući rupe na listovima. Kod kajsije i breskve u akutnoj fazi dolazi do uginuća lisnih i cvetnih pupoljaka. Mlađi listovi dobijaju bledu zelenu do žutu boju. Mladi izdanci se deformišu, a ponekad i izumiru od vrha. U hroničnoj fazi simptomi oboljenja kod ovih vrsta se ublažavaju ili u potpunosti nestaju. U kasnijim godinama nakon zaraze bolest prelazi u hroničnu fazu, kada se simptomi ublažavaju. Na višnji se ispoljavanje oboljenja naziva i Šteklenbergova bolest. Pojedini sojevi virusa na trešnji prouzrokuju mozaik praćen naboranošću listova i formiranjem enacija. Na pojedinim *Prunus* vrstama simptomi su latentni, što otežava dijagnostiku i preduzimanje mera zaštite. Smanjuje količinu prinosa, kvalitet plodova, kao i vitalnost biljaka (Parker et al., 1959; Scott et al., 1989; Uyemoto et al., 1992a). Kod nekih sorti trešnje



smanjuje prinos od 35-52%, a kod višnje na starijim stablinma prinos je manji i preko 40% (Šutić, 1995).



Slika XIII.34. Simptom virusa nekrotične prstenaste pegavosti koštičavog voća na trešnji  
(Foto: Jevremović)

#### *Mere suzbijanja*

Priozvodnja i promet zdravog sadnog materijala je osnovna mera zaštite. Uništavanje zaraženih stabala, skidanje cvetova sa matičnih stabala, prostorna udaljenost od starih zasada i kontrola kako podloga tako i plemki takođe spadaju u mere zaštite. Radi dobijanja zdravog sadnog materijala koristi se i tehnika termoterapije.

### *Kompleks vrsta virusa uvijenosti vinove loze (Grapevine leafroll-associated virus-es)*

Fam. *Closteroviridae*

Rodovi *Ampelovirus*, *Closterovirus*, *Velarivirus*

#### *Uvodne napomene*

Prema sistematici Međunarodnog komiteta za taksonomiju virusa kompleks vrsta virusa prouzrokovala uvijenosti lišća vinove loze je je podeljen u rodove *Ampelovirus* (sa vrstama *Grapevine leafroll-associated virus* 1, 3 i 4), *Closterovirus* (GLRaV-2) i *Velarivirus* (GLRaV-7) (ICTV, 2012; dopuna 2014). Podela je izvršena prema načinu prenošenja vrsta unutar kompleksa i molekularne karakterizacije (Liu et al., 2013). U GLRaV-4 su prema novoj sistematici uključeni i sojevi GLRaV-5, -6, -9, GLRaV-De, GLRaV-Pr i GLRaV-Car (Martelli et al., 2012).

#### *Rasprostranjenost*

Simptomi uvijenosti lišća vinove loze prouzrokovani vrstama iz kompleksa se javljaju širom sveta (Martell et al., 2011). Najraširenijim prouzrokovala ovog oboljenja se smatra GLRaV-3 (Hanna et al., 2008; Bertolini et al., 2010; Jooste et al., 2010). Prema Fuchs et al.

(2009) dominantni prouzrokovajući uvijenosti lišća u SAD su GLRaV-1, GLRaV-2 i GLRaV-3. GLRaV-1 je bio dominantan u Turskoj (Akbaş et al., 2007), a GLRaV-2 u Čileu i Argentini (Volpe et al., 2010; Fiore et al., 2011). GLRaV-4 se retko pronalazi u vinogradima (Liu et al., 2013). Prema Al Rwahnih et al. (2008) GLRaV-7 je prvo opisan u Albaniji, ali je kasnije utvrđen i na drugim kontinentima. Delić et al. (2007) su u Bosni i Hercegovini utvrdili GLRaV-1 i 3, a Starović et al. (2008) u Srbiji GLRaV-1, 2 i 3, pri čemu je GLRaV-3 bio najzastupljeniji.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virusi roda *Ampelovirus* imaju končaste čestice dužine između 1400-2200 nm (Slika XIII.35.). Prema Martelli et al. (2011) tipski predstavnik roda, GLRaV-3 je dužine 1800 nm, širine 12 nm. Genom je jednodelan, ss (+) RNK na 5' kraju ima kapu od metilgvanozina, dok na 3' kraju nema poliadenilnog završetka (Hulo et al., 2011). U procesu ispoljavanja (ekspresije) gena obrazuje veći broj subgenomskih RNK. Na bazi veličine i organizacije genoma, kao i na osnovu genetičke varijabilnosti, virusi prouzrokovajući uvijenosti lišća vinove loze iz roda *Ampelovirus* su podeljeni u dve podgrupe: u prvu spada vrsta GLRaV-1 i 3, a u drugu GLRaV-4 sa svojim sojevima (Martelli et al., 2012).



Slika XIII.35. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Ampelovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

Čestice GLRaV-2 koji pripada rodu *Closterovirus* su takođe končaste, dimenzija između 1400 -1800 nm. Genom je jednodelan. Protein omotača virusa ima masu od 22 kDA, što je manje u odnosu na druge prouzrokovaje uvijenosti lišća iz ovog kompleksa (Zhu et al., 1998).

GLRaV-7 je tipski predstavnik roda *Velarivirus*, koji je izdvojen u poseban rod porodice *Closteroviridae* usled razlika u poređenju sa drugim članovima ove familije u građi genoma i kodiranju 9 proteina (Al Rwahnih et al., 2012). Čestice ovog virusa su končaste, dimenzija između 1500-1700 nm (Hulo et al., 2011)

#### *Krug domaćina*

Prirodni domaćin virusa j vinova loza (Naidu et al., 2014).

#### *Patogeneza*

Predstavnici roda *Ampelovirus* (GLRaV-1, 3 i 4) se prenose putem štitastih vaši, predstavnik roda *Closterovirus* (GLRaV-2) se prenosi lisnim vašima, dok u slučaju virusa roda *Velarivirus* vektor nije poznat (Al Rwahnih et al., 2012; Martelli et al., 2012; Liu et al., 2013). Svi virusi prouzrokovajući uvijenosti lišća vinove loze se prenose kalemljenjem i sadnim materijalom.

Sether et al. (1998) navode da se virus uvijenosti lišća vinove loze GLRaV-3 prenosi vektorom *Planococcus citri* na poluperzistentan način. Martelli et al. (2011) sumirajući rezultate većeg broja autora navode i druge vektore iz porodice *Pseudococcidae*: *Planococcus ficus*, *Pseudococcus longispinus*, *Ps. affinis*, *Ps. calceolariae*, *Ps. maritimus*, *Ps. viburni*, *Ps. comstocki*, *Heliococcus bohemicus*, *Phenacoccus aceris*, kao i porodice *Coccidae*: *Pulvinaria vitis*, *Neopulvinaria innumerabilis*, *Parthenolecanium corni*, *Coccus hesperidum*, *C. longulus*, *Saissetia sp.*, *Parassaissetia nigra* i *Ceroplastes rusci*.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Jasno vidljive promene virus prouzrokuje na evropskoj vinovoj lozi (*Vitis vinifera*), kao i na nekim azijskim *Vitis* vrstama, kao što je *V. coignetiae* (Naidu et al., 2014). Na mnogim podlogama *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. berlandieri* i drugim, kao i na hibridima nema ispoljavanja oboljenja, te se oni mogu smatrati latentnim domaćinima. Na crnim sortama vinove loze virusi uvijenosti lišća usled nakupljanja antocijana prouzrokuju crvenilo listova, pri čemu zona duž lisnih nerava može ostati zelena (Slika XIII.36., 37.). U slučaju belih sorti dolazi do blagog žutila ili šarenila listova. Simptomi se više ispoljavaju na razvijenim listovima i najjasniji su sredinom leta. Listovi osetljivih sorti, kako crnih tako i belih se uvijaju nadole, po čemu je oboljenje i dobilo naziv (Naidu et al., 2014). Ispoljavanje simptoma umnogome zavisi od sorte, kombinacije podloge-plemke, vrste i soja virusa. Oboljenje prouzrokuje značajne gubitke u količini i kvalitetu grožđa. Kod zaraženih čokota dolazi do redukcije šećera, rastvorljivih materija, aromatskog profila itd. (Martins et al., 1997).



Slika XIII.36. Simptom virusa uvijenosti lišće vinove loze (Foto: Kuzmanović)



Slika XIII.37. Simptom GLRaV-3 (Foto: Jevremović)

#### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja i promet zdravog sadnog materijala su preduslov uspešne zaštite protiv oboljenja. Suzbijanje vektora i uništavanje zaraženih biljaka su takođe važna mera. Bitno je da se biljke izvade sa korenom, da se iz zaraženih delova korena ne bi razvile biljke koje bi služile kao izvor daljih zaraza (Almeido et al., 2013). Za dobijanje bezvirusnog sadnog materijala preporučuje se primena mera termoterapije, kulture meristema i hemoterapije (Martelli et al., 2011). Unutar roda *Vitis* nisu pronađeni izvori otpornosti prema kompleksu vrsta uvijenosti lišća vinove loze, pa se istraživanja vrše u cilju pronalaženja transgene otpornosti (Ling et al., 1997).

## *Virus žutice šećerne repe (Beet yellows virus, BYV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Closteroviridae*,

Rod *Closterovirus*

### *Rasprostranjenost*

Rasprostranjen je u svim regionima gajenja šećerne repe (Agranovsky i Lesemann, 2000).

Virus je prisutan u Srbiji (Milošević et al., 2006). U Hrvatskoj je na šećernoj repi opisan od strane Vončina et al. (2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ovaj virus je tipski predstavnik roda *Closterovirus*. Čestice su anizometrijske, izdužene, dužine od 1250 nm, širine 10 nm (Slika V.3 i XIII.38.). Genom je jednodelna ss (+) RNK koja čini svega 5-6% mase čestica. Tokom transkripcije se obrazuje više subgenomskih RNK. Proteinski omotač se sastoji od dva proteina, pri čemu se glavni označava sa CP, a sporedni sa CPm (minor) (Hulo et al., 2011).



Slika XIII.38. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Closterovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa spadaju u porodicu *Chenopodiaceae*, pri čemu su najznačajniji na šećerna repa i spanać. Izvor inokuluma mogu biti i obična krstica (*Senecio vulgaris*) i tarčužak (*Capsella bursa-pastoris*).

### *Patogeneza*

Prenosi se većim brojem lisnih vaši na poluperzistentan način, a najznačajniji vektori su *Myzus persicae* i *Aphis fabae* (Limburg et al., 1997). Ne prenosi se semenom i polenom.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Prouzrokuje žućenje listova šećerne repe i spanaća (Slika XIII.39.). Simptomi se prvo javljaju na starijem lišću, između lisnih nerava listova. Liske postaju tanje i lomljive su, a mogu se pojaviti i nekrotične pege. Na starijim zaraženim biljkama se zapaža zaostajanje u porastu, u težim oblicima oboljenja i međunervno crvenilo i izumiranje biljaka. Obolele biljke se javljaju u grupama, a kasnije se simptomi proširuju na celu površinu. Prema de Koeijer i van der Werf (1999) virus prouzrokuje smanjenje lisne površine od 20% što se značajno reflektuje na prinos šećerne repe. Visina gubitaka zavisi od sorte šećerne repe, soja virusa, vremena ostvarene infekcije, uslova sredine, mineralne ishrane biljaka i drugih biotičkih i abiotičkih oboljenja.



Slika XIII.39. Simptom virusa žutice šećerne repe (Foto: Neher)

#### *Mere suzbijanja*

Virus se može održati u ostacima korena šećerne repe na njivi ili u semenskoj repi, te prostorna udaljenost od starih repišta i semenskih useva doprinosi smanjenju infektivnog potencijala. Praćenje leta vektora i preduzimanje mera suzbijanja lisnih vaši i uništavanje korova domaćina se takođe preporučuju. Preporučuje se i ranija setva šećerne repe, kao i gušći sklop useva. Vinogradova et al. (2011) su objavili rad o naporima u stvaranju transgene otpornosti prema ovom virusu.

#### *Virus tristezza citrusa (Citrus tristezza virus, CTV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Closteroviridae*  
Rod *Closterovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je prisutan u svim regionima koji su pogodni za gajenje citrusa. Utvrđen je i u zemljama okruženja, Bosni i Hercegovini, Hrvatskoj i Crnoj Gori (Cerni et al., 2009; EPPO, 2015). Nalazi na A2 listi karantinskih parazita u EPPO zoni, odnosno spada među parazite koji su lokalno prisutni na teritoriji EU i čije je prisustvo neophodno kontinuirano pratiti. Karantinske mere doprinose sprečavanju unošenja virulentnijih sojeva virusa. U Srbiji se nalazi na Listi IA deo I, odnosno spada u štetne organizme za koje nije poznato da su prisutni i čije je unošenje i širenje u državu zabranjeno.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine 2000 nm i širine 12 nm. Genom je jednodeln RNK. U proteinskom omotaču utvrđena su dva polipeptida, pri čemu se jedan smatra glavnim, a drugi sporednim proteinom.

### *Krug domaćina*

Virus zaražava sve vrste i hibride citrusa od kojih su najznačajnije pomorandža, limun, mandarina, i dr. Takođe je utvrđen na rodovima biljaka koji su srodni gajenim citrusima, kao što su vrste rodova *Aeglopsis*, *Afraegle*, *Fortunella* i *Pamburus* (Bar-Joseph i Lee, 1989).

### *Patogeneza*

Prenosi se sa nekoliko vrsta lisnih vaši na poluperzistentan način, pri čemu je vrsta *Toxoptera citricidus* najefikasnija u prenošenju. Vrste *Aphis citricola* i *Toxoptera aurantii* su manje uspešni u mehanizmu prenošenja virusa, ali su zastupljenije od *T. citricidus* koja u EPPO regionu nije još opisana. Sojevi se međusobno takođe razlikuju u uspešnosti prenošenja od strane vektora (Bar-Joseph et al., 1983; Brlansky et al., 2003).

Na veće udaljenosti virus se širi zaraženim sadnim materijalom. Prema evropskim podacima izvor infekcija često predstavljaju citrusi koje se u saksijama gaje kao ukrasne biljke (EPPO, 2015a).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na citrusima koji su kalemljeni na osetljive podloge dolazi do defolijacije, zakržljavanja, uvenuća i izumiranja biljaka. Razlog ove pojave uvenuća je nekroza sprovodnih sudova koju virus prouzrokuje ispod mesta kalemljenja. Pored ovih simptoma prouzrokuje jamičavost stabla i značajan gubitak prinosa. Plodovi na zaraženim stablima su sitni i lošeg kvaliteta (EPPO, 2015a).

### *Mere suzbijanja*

Ovaj virus se u fitopatologiji često navodi kao patogen protiv kojeg su preduzimate eradikativne mere na nivou država, pa čak i kontinenta. Prema podacima EPPO (2015a) u Severnoj i Južnoj Americi, kao i u nekim mediteranskim zemljama je uništeno na desetina miliona stabala okvira mera suzbijanja ovog virusa. Samo u Brazilu je uništeno 6 miliona stabala citrusa (75% od ukupnog broja). U regionima u kojima su dominantni manje patogeni sojevi virusa, (kao što je Španija) uspešnim se pokazala primena podloga koje su otpornije prema virusu. Ove podloge međutim ne pružaju dovoljnu zaštitu protiv patogenijih sojeva virusa. Ohrabrujući rezultati u zaštiti protiv virusa dobijeni su primenom unakrsne zaštite (Costa i Muller, 1980). Radi sprečavanja unošenja patogenijih sojeva u Evropi se sprovode stroge karantinske mere. EPPO preporučuje zemljama da zabrane uvoz biljnog materijala iz regiona sa virulentim sojevima parazita, a obavezna je i fumigacija uvoznog bilja radi uništavanja vektora i sprečavanja unošenja lisne vaši *Toxoptera citricidus*. Uvozno voće citrusa ne sme imati dršku ploda i lišće. U zemljama proizvođačima sadnog materijala citrusa obavezna je primena sertifikacionih šema i stroga zdravstvena kontrola svakog koraka proizvodnje. Primena savremene biotehnologije omogućava stvaranje transgenih biljaka otpornih prema CTV (Fagoaga et al., 2006; Muniz et al., 2012).

## *Virus zarazne žutice salate (Lettuce infectious yellows virus, LIYV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Closteroviridae*

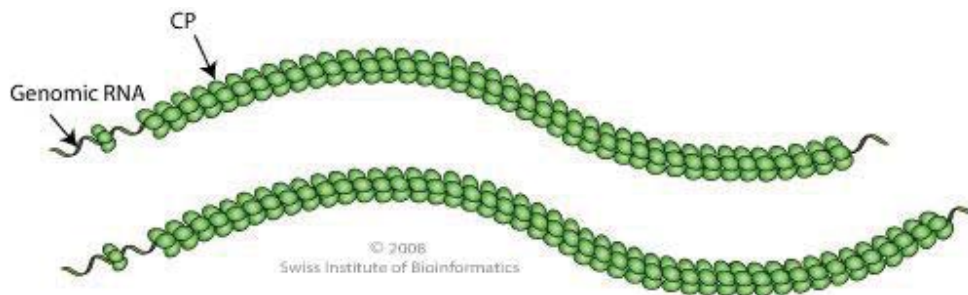
Rod *Crinivirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen u SAD i u Meksiku (Rubio et al., 1999). Nije prisutan na evropskom kontinentu (EPPO, 2015), zbog čega je i svrstan na A1 listu karantinskih parazita, kako u državama članica EU, tako i u Srbiji.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima dva tipa končastih čestica, dužina 650-850 nm i 700-900 nm (Slika XIII.40.). Širina virusnih čestica je 10-13 nm (Hulo et al., 2011). Genom je dvodelna linearna ss (+) RNK. Omotač virusa se sastoji od dva proteina- glavnog (CP) i sporednog (CPm). Sporedni protein čini oko 10% omotača virusa.



Slika XIII.40. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Crinivirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Ima širok krug domaćina koji se umnogome poklapaju sa biljkama na kojima se hrani glavni vektor virusa, leptirasta vaš *Bemisia tabaci* (Falk i Tian, 1999; Ng i Chen, 2011). Među domaćinima se nalaze biljke iz porodica *Solanaceae*, *Cucurbitaceae*, *Chenopodiaceae*, *Brassicaceae* i *Asteraceae*. Prvo je opisan na salati, ali je virus utvrđen i na šećernoj repi, krastavcu, tikvama, dinji, pamuku, korovu-sitnocvetnom slezu i drugim biljkama.

### *Patogeneza*

Virus prenosi leptirasta vaš *B. tabaci* na poluperzistentan način. Ne prenosi se mehanički, niti semenom domaćina. Na veće udaljenosti se može preneti zaraženim rasadom, odnosno živim biljkama.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Glavni simptom oboljenja je međunervalno žućenje listova na zaraženim biljkama. Ovo lisno tkivo postaje potpuno žuto, pri čemu lisni nervi ostaju zeleni (Falk i Tian, 1999).

Tokom osamdesetih godina prošlog veka štete od ovog virusa su se u SAD procenjivale na 20 miliona dolara. U novije vreme su štete znatno smanjene. Razlog smanjenje šteta je u promeni rotacije useva u odnosu na period iz osamdesetih godina. U južnim državama SAD uporedo su gajeni pamuk i dinje što je dovelo do eksplozije u brojnosti vektora i prouzrokovalo velike štete od virusnog oboljenja.

### *Mere suzbijanja*

Ovaj virus može poslužiti kao dobar primer kako se sa sprovedenim agrotehničkim merama značajno mogu značajno smanjiti štete od virusnih oboljenja. Promenom plodoreda i vremena setve gajenih biljaka se smanjuje populacija vektora, a time i šteta od ovog virusa. U zemljama u kojima nije utvrđen virus najznačajnija mera je sprovođenje propisanih

karantinskih procedura. Smanjenju šteta u SAD doprinosi i suzbijanje leptiraste vaši, vektora virusa.

### *Virus hloroze paradajza (Tomato chlorosis virus, ToCV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Closteroviridae*

Rod *Crinivirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je u EPPO zoni svrstan na A2 listu karantinskih parazita, odnosno utvrđen je lokalno. Opisan je u Francuskoj, Grčkoj, Italiji, Portugalu, Španiji, Mađarskoj (Acotto et al., 2001; Bese et al., 2011; Dovas et al., 2002; EPPO, 2015a). U Srbiji parazit nije opisan, pa se nalazi na Listi IA deo I karantinskih parazita. Virus je prisutan u južnim državama SAD-a, srednjoj i južnoj Americi, kao i u pojedinim afričkim državama (EPPO, 2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine oko 850 nm (Wisler et al., 1998). Genom je dvodelna linearna ss(+)RNK (Lozano et al., 2007).

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćin virusa je paradajz. Utvrđen je i na paprici, duvanu, patlidžanu, krompiru, kao i na tatuli (*Datura stramonium*), pomoćnici (*Solanum nigrum*) i drugim korovima (EPPO, 2015; Zhou et al., 2015). Takođe se može javiti na ukrasnim i divljim formama biljaka iz roda *Physalis* (Trenado et al., 2007).

#### *Patogeneza*

Virus se prenosi leptirastim vašima *Trialeurodes vaporariorum*, *Bemisia tabaci* i *T. abutiloneus* (Wisler et al., 1998a). Prve dve vrste su prisutne u Evropi, i prouzrokuju značajne štete u proizvodnji u zaštićenom prostoru. Usled klimatskih promena sve češće se hrane i na biljkama u polju. Najznačajniji način širenja virusa na veće udaljenosti je putem trgovine rasadom paradajza, koji može biti zaražen virusom. Na biljkama koje se prenose na veće udaljenosti se mogu nalaziti i vektori virusa.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi u vidu hlorotičnog šarenila se prvo javljaju na donjem lišću i postepeno se šire na gornje spratove listova. Donji listovi se mogu i uvijati. U međunervnom prostoru listova se mogu javiti i mrke nekrotočne pege. Usled smanjenja lisne mase formira se manje plodova koji su sitniji, što se značajno odražava na prinos. Simptomi veoma podsećaju na promene prouzrokovane virusom infektivne hloroze paradajza (*Tomato infectious chlorosis virus*, TICV), fiziološkim poremećajima ili fitotoksičnim efektima sredstava za zaštitu bilja (Wisler et al., 1998, 1998a). U Španiji su zabeležene značajne štete usled zaraze od 30% zaraženih biljaka u usevu (Navas-Castillo et al., 2000).

#### *Mere suzbijanja*

Mere karantina su najznačajnije preventivne mere u državama u kojima virus još nije utvrđen. U regionima u kojima je već registrovano oboljenje, veoma važne su mere suzbijanja bele leptiraste vaši. Pored hemijskih mera suzbijanja, preporučuju se i biološke



mere, pošto je parazitna osa *Encarsia formosa* veoma pogodna u suzbijanju bele leptiraste vaši. Uništavanje zaraženih biljaka, ili celokupnog useva u zaštićenom prostoru sprečava dalje širenje oboljenja (EPPO, 2015a).

### *Virus enacijskog mozaika graška 1 (Pea enation mosaic virus 1, PEMV-1)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Luteoviridae*  
Rod *Enamovirus*

#### *Rasprostranjenost*

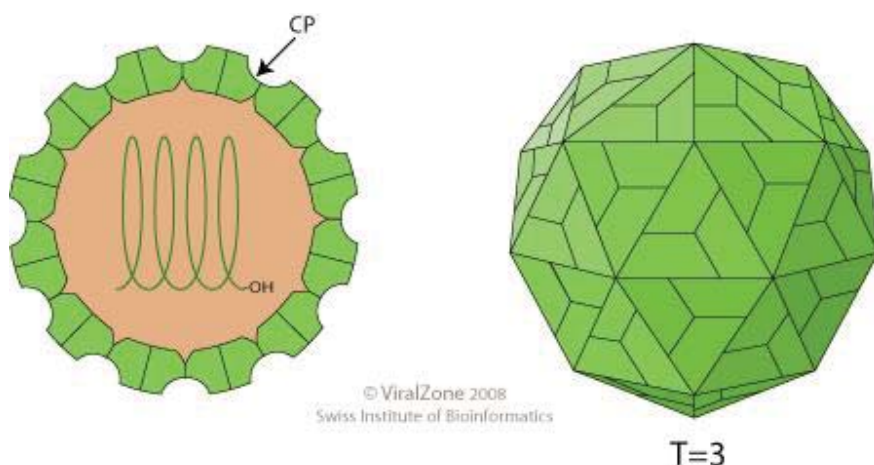
Virus je rasprostranjen u svim regionima gajenja mahunarki, pri čemu najveći značaj ima u severnom umerenom pojasu (Skaf i de Zoeten, 2000).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Genom virusa je jednodelna ss(+)RNK koja se nalazi u izometrijskoj čestici prečnika oko 25 nm (Slika XIII.41.). Proteinski omotač ima triangulacioni broj 3 i sastoji se od 180 proteinskih podjedinica. Pošto se PEMV-1 redovno nalazi u mešanoj zarazi sa PEMV-2 u prečišćenju virusnoj suspenziji se mogu naći i izometrijske čestice PEMV-2 koje su prečnika 25-28 nm i takođe sadrže jednodelnu ss (+)RNK kao genom virusa PEMV-2 (Hulo et al., 2011). Genom PEMV-1 na 5' kraju ima protein vezan za genom, tzv VPg protein, a ne kodira protein koji je odgovoran za kretanje virusa u tkivu. Deo subgenomske RNK označene kao CP RTD je odgovoran za prenošenje virusa lisnim vašima.

U pojedinim istraživanjima je tokom prečišćavanja iz zaraženog tkiva utvrđena i treća RNK koja ne pripada genomu ni PEMV-1 ni PEMV-2. Uloga i značaj ove satelitne RNK se još ispituje.

Iako su PEMV-1 i PEMV-2 odvojeni u dve različite vrste virusa u publikacijama se često spominje samo jedan virus, PEMV sa dve RNK koje su smeštene u dve odvojene čestice (Vemulapati et al., 2010).



Slika XIII.41. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Enamovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Virus ima uzan krug domaćina koji je ograničen na biljke iz porodice *Fabaceae*. Među domaćinima su vrste iz rodova *Cicer*, *Glycine*, *Lathyrus*, *Lens*, *Lotus*, *Lupinus*, *Medicago*, *Melilotus*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Trifolium*, i *Vicia*.

### *Patogeneza*

PEMV-1 je svrstan u rod *Enamovirus*, dok je virus enacijskog mozaika graška 2 (PEMV-2) svrstan u rod *Umbravirus*, ali su ove dve vrste virusa zavisne jedna od druge i nalaze se u mešanim zarazama, pošto je PEMV-1 odgovoran za enkapsidaciju i prenošenje oba virusa putem lisnih vaši, dok je PEMV-2 odgovoran za kretanje virusa u tkivu i mehaničko prenošenje. Stoga savremena virusologija smatra da je oboljenje na grašku prouzrokovano simbiozom dve različite vrste virusa (Skaf i de Zoeten, 2000). Virus se prenosi sa oko 10 vrsta lisnih vaši na perzistentan način. Među vektorima se nalaze vrste *Acyrtosiphon pisum*, *A. solani*, *Aphis gossypii*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum avenae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus ornatus*, *M. persicae*, *Rhopalosiphum padi* i *Schizaphis graminum*. Najefikasniji u prenošenju su *A. pisum* i *M. persicae*. U niskom procentu (oko 1,5%) virus se prenosi semenom graška (Skaf i de Zoeten, 2000).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Nakon infekcije virus prouzrokuje uvijanje listova graška i upadljivi žuti mozaik i žutu pegavost listova. Vremenom dolazi do zaostajanja biljaka u porastu, deformacija i formiranja enacija na listovima. Enacije su lokalni izraštaji, koji se obično javljaju oko nerava na epidermalnim ćelijama naličja lista, a predstavljaju deformaciju tkiva u vidu ispupčenja oblika grebena ili grba, čipkastog izgleda, ograničenog oko nerava obolelih listova. Pojava enacija na zaraženim listovima je posledica hipertrofije i hiperplazije ćelija parenhima lista. Mahune formirane na zaraženim biljkama su deformisane i sadrže mali broj šturih zrna (Skaf i de Zoeten, 2000).

### *Mere suzbijanja*

Pored setve zdravog semena preporučuje se uništavanje lisnih vaši, veća prostorna udaljenost između parcela pod osetljivim domaćinima virusa, a posebno višegodišnjim domaćinima virusa i izbegavanje preklapanja perioda gajenja domaćina. Nije postignut značajan napredak u oplemenjivačkom radu na otpornost prema ovom virusu. U cilju postizanja većeg nivoa otpornosti ispituje se i stvaranje transgenih biljaka graška (Chowrira et al., 1998).

### *Kompleks vrsta virusa žute patuljavosti ječma (Barley yellow dwarf virus, BYDV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Luteoviridae*  
Rod *Luteovirus*

### *Uvodne napomene*

Prema sistematici Međunarodnog komiteta za taksonomiju virusa nekadašnja vrsta *Barley yellow dwarf virus* koja je sadržavala veći broj sojeva (najznačajniji RMV, RPV, MAV, PAV i SGV) je podeljena na viruse koji po novoj sistematici pripadaju rodu *Luteovirus* (vrste

BYDV- PAV, BYDV-MAV i BYDV-PAS), na viruse iz roda *Polerovirus* (*Cereal yellow dwarf virus* RPS i RPV, akronimi CYDV-RPV i CYDV-RPS). Dve vrste, bivši sojevi BYDV nisu još svrstane u rod su virusi žute patuljivosti ječma GPV i SGV (BYDV-GPV i BYDV-SGV).

#### *Rasprostranjenost*

Kompleks virusa je rasprostranjen širom sveta (Lister i Ranieri, 1995). Prisutan je u Srbiji i može prouzrokovati značajne ekonomske štete (Tošić et al., 1991a; Jasnić et al., 1993).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virusne čestice su izometrijskog oblika, prečnika 25-28 nm (D'Arcy i Domier, 2000). Sadrže jednodelnu, linearnu ss(+)RNK. Proteinski omotač ima triangulacioni broj 3 i sastoji se od 180 proteinskih podjedinica. Analizom karakterističnih sekvenci nukleinske kiseline različitih izolata nekadašnje vrste BYDV utvrđene su razlike koje su dovele do razdvajanja u nove vrste (Zhang et al., 2009).

#### *Krug domaćina*

Domaćini virusa pripadaju porodici *Poaceae*. Među gajenim vrstama domaćini su ječam, ovas, pšenica, kukuruz, raž i pirinač. Među domaćine iz spontane vegetacije spadaju vrtse iz rodova *Lolium*, *Dactylis*, *Phalaris*, *Bromus*, *Phleum*, itd. Prema D'Arcy (1995) virus parazitira više od 150 biljnih vrsta.

#### *Patogeneza*

Virus se prenosi lisnim vašima na perzistentan način. Ne prenosi se mehanički. Rochow (1970) je podelu tadašnje vrste BYDV na sojeve, koje danas postoje kao posebne vrste virusa izvršio na osnovu specijalizacije virus-vektor, kao i na osnovu virulentnosti izolata prema test biljci ovasa sorte Coast black.

PAV- veoma virulentan na test biljci, uspešno se prenosi vašima *Rhopalosiphum padi* i *Macrosiphum avenae*, povremeno sa *Schizaphis graminum*, retko sa *Rhopalosiphum maidis*.

MAV- umereno virulentan na test biljci, uspešno se prenosi vrstom vaši *M. avenae*, retko sa *R. padi*, *R. maidis* i *S. graminum*.

RPV- slabo virulentan, uspešno se prenosi sa *R. padi*, povremeno sa *S. graminum*, retko sa *R. maidis* i *M. avenae*.

SGV- slabo virulentan, uspešno se prenosi vrstom vaši *S. graminum*, retko ili se ne prenosi sa *M. avenae*, *R. padi*, ili *R. maidis*.

RMV- slabo virulentan, uspešno prenosi sa *R. maidis*, neredovno se prenosi sa *R. padi*, *M. avenae*, i *S. graminum*.

BYDV-GPV i novoopisana vrsta CYDV-RPS se prenose se lisnim vašima *R. padi* i *S. graminum* (Yang et al., 2008; Wang et al., 2015). Virus BYDV-PAS je po načinu prenošenja najslabija BYDV-PAV (Sharper Hall, 2007).

Pri prenošenju virusa neophodno je da se lisna vaš na zaraženoj biljci hrani između 0,1-4 časa, a inkubacioni-latentni period odnosno vreme od usvajanja virusa pa do momenta kada je lisna vaš sposobna da prenese virus traje od 12 do 24 časa (Waterhouse et al., 1988). Duži period usvajanja je neophodan usled vremena neophodnog za prodor stileta lisne vaši do

floema u kojem se virusne čestice nalaze. U telu lisnih vaši virus dospeva do pljuvačnih žlezda.

Korovi iz porodice *Poaceae*, a u nekim slučajevima i kukuruz predstavljaju domaćine u kojima se virus održava tokom leta nakon žetve ozimih useva-domaćina virusa. Prve infekcije izniklog useva ozimih strnih žita se dešavaju u slučaju toplih jeseni, kada kasno nastupaju prvi jesenji mrazovi i kada lisne vaši ostaju aktivne tokom jeseni zbog umereno povoljnih temperatura.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Kao što ime virusa ukazuje glavni simptomi oboljenja su najčešće žućenje i patuljavost zaraženih biljaka, iako simptomi variraju u zavisnosti od vrste i soja virusa, vrste i sorte domaćina, vremena ostvarene infekcije i uslova spoljne sredine. U slučaju ječma zaražene biljke dobijaju upadljivu zlatno žutu boju, kod ovsu narandžastu ili crvenu, a crvena boja se javlja i na donjim listovima zaraženih biljaka kukuruza. Kod pšenice, raži i tritikalea najčešće se javlja žutilo, ređe crvenilo (D'Arcy, 1995). Zaražene biljke zaostaju u porastu i imaju slab korenov sistem, pa su osetljivije na izmrzavanje. Slabije se bokore, ne formiraju klasove ili obrazuju male klasove sa nedovoljno nalivenim sitnim zrnima i imaju nakostrešen-ježast izgled. Virus prouzrokuje metaplazmatske promene u biljkama, odnosno formiranje i taloženje kaloze na sitastoj ploči floema posle nekroze ćelija, što prouzrokuje smetnje u transportu materija i smanjenje sadržaja hlorofila (D'Arcy i Domier, 2000).

U zavisnosti od soja i vrste virusa, odnosno njegove patogenosti, smanjenje prinosa strnih žita iznosi 1-3%, 20-30% pa čak i 100% (Jasnić et al., 1993).

#### *Mere suzbijanja*

Vreme setve treba prilagoditi vremenskoj promeni populacije vektora, odnosno odrediti vreme setve kojim se najviše izbegava poklapanje ranih fenofaza biljaka sa masovnom pojavom vektora. Jasnić et al. (1991) su utvrdili da se kasnom jesenjom setvom ozimih strnih žita smanjuje intenzitet zaraze virusom žute patuljavosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV). Geni koji obezbeđuju tolerantnost su ugrađeni u ječam protiv virusa žute patuljavosti ječma -*Barley yellow dwarf virus*, BYDV (Jin et al., 1998). D'Arcy i Domier (2000) navode postojanje transgene otpornosti protiv BYDV. Mere suzbijanja vektora hemijskim ili biološkim metodama takođe doprinose smanjenju intenziteta zaraze (D'Arcy i Domier, 2000).

### *Virus uvijenosti lišća krompira (Potato leafroll virus, PLRV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Luteoviridae*

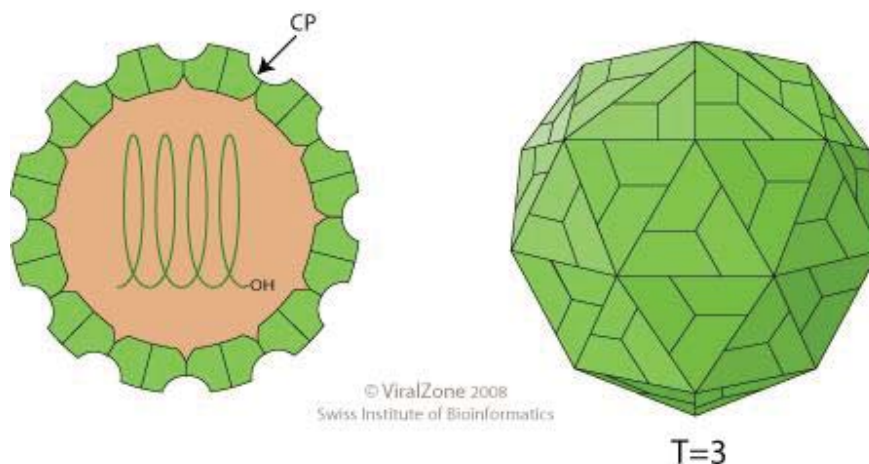
Rod *Polerovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen u svim regionima gajenja krompira. U Srbiji zajedno sa virusom crtičastog mozaika krompira spada u ekonomski najznačajnije patogene krompira (Starović et al., 2001; Milošević, 2013).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika oko 23 nm sa T=3 triangulacionim brojem i 180 proteinskih podjedinica u omotaču (Slika XIII.42.). Genom je jednodelni ss(+)RNK sa VPg na 5' kraju i -OH grupom na 3' kraju.



Slika XIII.42. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Polerovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćin virusa je krompir. Prema Harrisonu (1984) još 20 biljaka iz porodice *Solanaceae* mogu biti domaćini biljaka, a virus je prenet i na predstavnike drugih porodica: *Amaranthus caudatus*, *Celosia argentea* i *Gomphrena globosa* (*Amaranthaceae*), *Nolana lanceolata* (*Nolanaceae*), tarčuzak - *Capsella bursa-pastoris* (*Asteraceae*) i *Montia perfoliata* (*Portulacaceae*).

#### *Patogeneza*

Osnovni izvor virusa su zaražene krtole krompira koje se koriste kao semenski materijal. Tokom vegetacije virus se prenosi lisnim vašima na perzistentan način. Najefikasnija vrsta u prenošenju je zelena breskvina lisna vaš (*Myzus persicae*). Pored ove vrste virus prenose i predstavnici rodova *Aphis*, *Macrosiphum*, *Rhopalosiphoninus*, *Acyrtosiphon* i *Aulacorthum* (Davis i Radcliffe, 2008). Da bi vaš postala infektivna, potrebno je da se na zaraženoj biljci hrani minimalno sat vremena, nakon čega sledi latentni period od 12 časova do 2 dana. Vaš je infektivna tokom celog života, pošto se virus zadržava u telu i nakon presvlačenja, ali se ne prenosi jajnim leglima na sledeću generaciju. Putem leta lisnih vaši, a uz pomoć vazdušnih strujanja virus se može raširiti na značajne udaljenosti. Prema pojedinim autorima izvor inokuluma mogu biti i drugi domaćini virusa iz porodice *Solanaceae* (Srinivasan i Alvarez, 2008).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Usled promena koje virus prouzrokuje u floemu biljaka dolazi do poremećaja u transportu materija i do nagomilavanja ugljenih hidrata u listovima (Harrison, 1984). Rezultat toga je uvijanje listova na gore, kada liske imaju kašikast izgled, što je glavni dijagnostički simptom oboljenja (Slika XIII.43.). Listovi su izdignuti naviše, nastupa promena boje u žuto, a kod nekih sorti u crveno, a liske postaju krte i lomljive. Virus smanjuje količinu hlorofila za 64-76%, a fotosintezu za 60% (Kuprevič, 1947). Kod biljaka izniklih iz zaraženih krtola uočava se i izraženo zaostajanje u porastu. Kod nekih sorti može doći do mrežaste nekroze krtola.

Milošević (1989) je na sorti Desiree utvrdio prosečnu zarazu ovim virusom od 54,6%, pri čemu je uočena velika varijabilnost u zaraženosti uzoraka u zavisnosti od lokaliteta. Uzorci iz Čačka (93,3%), Guče (84,4%) i Kaone (84%) bili su najzaraženiji virusom uvijenosti lišća, dok su uzorci sa Golije (17,8%) bili najmanje zaraženi ovim virusom. Virus može prouzkovati gubitke od 40-70% (Syller, 1966).



Slika XIII.43. Simptomi virusa uvijenosti lista krompira – desno zaražena biljka, levo zdrava (Foto: Starović)

#### *Mere suzbijanja*

Osnovni preduslov uspešne zaštite je sadnja sertifikovanog sadnog materijala (EPPO, 1999a). Praćenje leta lisnih vaši i njihov hemijsko suzbijanje omogućavaju smanjenje intenziteta zaraze. Uništavanje biljaka razvijenih iz prezimelih krtola u zemljištu je važna preventivna mera. Broadbent et al. (1950) su merom uništavanja zaraženih biljaka krompira uspeli da smanje procenat zaraze Y virusom krompira (*Potato virus Y, PVY*), ali ne i virusa mozaika uvijenosti lišća krompira (*Potato leafroll virus, PLRV*).

Kod otpornih genotipova krompira prema virusu uvijenosti lišća krompira (*Potato leaf roll virus, PLRV*) sprečeno je širenje čestica virusa u floemu, što dovodi do manje uspešnog usvajanja virusa od strane vektora pri ishrani (Barker i Harrison, 1986). Genetičkim inženjeringom stvorene su i transgene biljke krompira u kojima dolazi do značajne inhibicije umnožavanja virusa i smanjenog ispoljavanja simptoma (van der Wilk et al., 1991).

#### *Virus crtičastog mozaika krompira - Y virus krompira (*Potato virus Y, PVY*)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

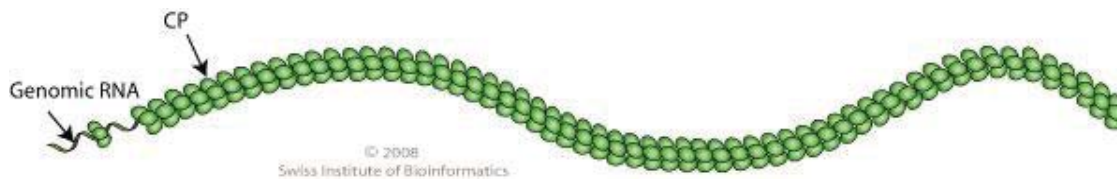
#### *Rasprostranjenost*

Virus zaražava krompir u svim regionima gajenja krompira. Obični soj virusa PVY<sup>o</sup> je rasprostranjen širom sveta, nekrotični PVY<sup>N</sup> se nalazi u Evropi, delovima Afrike i Južnoj Americi, dok je crtičasti soj PVY<sup>C</sup> utvrđen u Evropi, Indiji i Australiji (Warren et al., 2005).

U toplim i umereno toplim regionima na otvorenom polju parazitira duvan, papriku i paradajz (de Bokx i Huttinga, 1981). Ovaj virus predstavlja najrašireniji virus konzumnog i semenskog krompira u Srbiji (Milošević, 2013).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ova vrsta je tipski predstavnik veoma važnog roda fitopatogenih virusa, *Potyvirus*. Ima končaste čestice dužine oko 730 nm, širine oko 12 nm (Slika V.4. i XIII.44.). Genom je jednodelni ss(+)RNK koji na 5' kraju ima protein (VPg), a na 3' kraju poliadenilni rep.



Slika XIII.44. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Potyvirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćini virusa su krompir, duvan, paprika i paradajz (Kaliciak i Syller, 2009). Korovi iz porodice *Solanaceae*, kao što su *Physalis floridana*, pomoćnica (*Solanum nigrum*) i razvodnik pomoćnica (*Solanum dulcamara*) su takođe domaćini virusa. Kaliciak i Syller, (2009) navode da i korovi iz drugih porodica mogu biti prirodni domaćini virusa. Među domaćinima virusa- gajenim biljkama nalaze se i ukrasne biljke, kao što je petunija (Kerlan, 2006).

#### *Patogeneza*

Izvor inokuluma predstavljaju biljke krompira koje su se razvile iz zaraženih krtola, kao i biljke koje su se tokom nepovoljnih temperatura gajile u zaštićenom prostoru, i korovi. Virus se prenosi većim brojem lisnih vaši na neperzistentan način. Prema Harringtonu i Gibsonu (1989) 26 vrsta lisnih vaši može preneti virus, pri čemu postoje specifičnosti između soja virusa i vrste vektora. Među najčešće vektore virusa se ubraja zelena breskvina lisna vaš (*Myzus persicae*). Vaši nakon svega nekoliko sekundi ishrane postaju nosioci virusa, a isto tako kratak period ishrane je dovoljan i za zaražavanje zdravih biljaka. Virus se može i mehanički prenositi u usevima krompira, duvana i paradajza. Dokazano je da tokom postupka odlamanja klica pri sadnji krompira može doći do prenošenja virusa.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi variraju u širokom rasponu u zavisnosti od soja virusa, domaćina, klimatskih uslova, vremena ostvarene infekcije, odnosno da li se radi o primarnoj zarazi (inokulacije od strane lisne vaši) ili sekundarnoj (biljka se razvila iz zaražene krtole). Pored navedenih sojeva koji izazivaju i tipične simptome- obični, nekrotični i crtičasti, opisan je i veliki broj drugih (Kerlan, 2006). Na nadzemnim organima krompira virus prouzrokuje blagi do izraženi mozaik i šarenilo, deformacije listova, crtičavost, žućenje i nekrotične promene (nekrozu nerava ili nekrotičnu pegavost) (Slika XIII.45. i 46). Može doći i do sušenja listova koji ostaju da vise na stablu. U slučaju sekundarnih zaraza biljke ostaju kržljave sa sitnim i krtim listovima. Na krtolama nekih sorti dolazi do nekroze odnosno nekrotične prstenaste

pegavosti. Na paprici tipični simptomi su šarenilo, prosvetljavanje nerava i deformacije listova i kržljivost, na paradajzu su česte nekrotične pege, dok na duvanu može doći do nekroze nerava listova.

PVY može zahvatiti veliki procenat gajenih biljaka. Kod sorte krompira Desiree, koja učestvuje sa 80% u ukupnoj proizvodnji krompira u zapadnoj Srbiji utvrđeno najviše zaraženih biljaka virusom crtičastog mozaika krompira (*Potato Y virus*, PVY) sa prosečnom zarazom od 58,5% (Milošević, 1989). Prema podacima istog autora iz 2013. godine u Srbiji su usevi konzumnog krompira ovim virusom zaraženi u visini od 90% (Milošević, 2013). Gubici prinosa kod svih domaćina su veoma visoki i kreću se od 10-100% (Warren et al., 2005; Kerlan, 2006). Virus prouzrokuje značajne gubitke i u kvalitetu gajenih biljaka, tako da kod duvana dolazi do smanjenja sadržaja nikotina u listovima, a kod paprike i paradajza do smanjenja tržišne vrednosti dolazi usled promena na plodovima.



Slika XIII.45. Simptomi virusa crtičastog mozaika krompira, levo zaražena biljka, desno zdrava (Foto: Starović)



Slika XIII.46. Simptomi virusa crtičastog mozaika krompira, desno zaražena biljka, levo zdrava (Foto: Bagi)

#### *Mere suzbijanja*

Osnovna mera je sadnja zdravog sadnog materijala krompira, proizvedenog prema odgovarajućim sertifikacionim šemama (EPPO, 1999a). Uništavanje cime pre naleta lisnih vaši može da osigura zdrave krtole. Pored toga važna je prostorna izolacija između biljaka domaćina virusa, kao i uništavanje korova domaćina. Gajenje biljaka u regionima sa manjom populacijom lisnih vaši predstavlja prednost.

Primenom insekticida protiv vaši vektora neperzistentnog PVY se ne postižu značajni rezultati, jer se virus prenosi brže od delovanja insekticida, a vaš brzo gubi sposobnost prenošenja virusa, te se uginućem vaši ne postiže dalja prevencija širenja (Webley i Stone, 1972). Ipak, metodama prognoze populacije lisnih vaši i praćenjem njihove brojnosti može se preporučivati insekticidni tretaman još pre naseljavanja kolonija lisnih vaši na gajene biljke-domaćine virusa. Prema Gibson et al. (1984) primena feromona može da smanji prenošenje PVY od strane vektora zelene breskvine vaši (*Myzus persicae*).

U pogledu otpornosti biljaka prema PVY Kerlan (2006) razlikuje tri vida otpornosti: otpornost na infekciju, hipersenzitivnost i tzv. ekstremnu otpornost koja je izraženija forma hipersenzitivnosti. Otpornost na infekciju je vezana za stadijum razvoja biljaka i smatra se da je poligeniskog i kvantitativnog karaktera. Hipersenzitivnost i ekstremna otpornost su zasnovani na delovanju po jednog dominantnog gena, kao što su geni Ny i Ry u slučaju



krompira, Pvr2 i Pvr 44 kod paprike itd.(Horváth i Gáborjányi, 1999). Kao i protiv drugih viroza biljaka, i u slučaju PVY su stvorene gajene biljke sa transgenom otpornošću prema prouzročivaču oboljenja (Smith et al., 1995; Chung et al., 2013).

### *Virus običnog mozaika pasulja (Bean common mosaic virus, BCMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen širom sveta (Morales i Bos, 1988).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine oko 750 nm i širine 12-15 nm. Sadrži jednodelnu ss(+)RNK koji na 5' kraju ima genom vezani protein (VPg), a na 3' kraju poliadenilni rep (Hulo et al., 2011). Nukleinska kiselina čini oko 5% mase čestice. Proteinski omotač je sačinjen od jednog tipa polipeptida. Virus poseduje veći broj sojeva od kojih je nekrotični soj izdvojen u posebnu vrstu *Bean common mosaic necrosis virus*.

#### *Krug domaćina*

Pored pasulja virus parazitira i arahis kao i neke druge predstavnike porodice mahunarki (Pudashini et al., 2013; Cui et al., 2014; EPPO, 2015).

#### *Patogeneza*

Virus se prenosi semenom pasulja, te se taj način prenošenja smatra najvažnijim razlogom njegovog širokog rasprostranjenja (Petrović et al., 2007; Petrović, 2008). Step en uspešnosti prenošenja semenom zavisi od soja virusa, fenofaze biljke u kojoj je došlo do infekcije, kao i osetljivosti sorte pasulja. Virus se ne prenosi semenom sorti koji na infekciju reaguju nekrozom, jer zaražene biljke uginjavaju i ne formiraju seme. Virus se prenosi polenom biljaka, kao i mehanički. Vektor virusa su lisne vaši (*Acyrtosiphon pisum*, *Aphis fabae* i *Myzus persicae* i dr.), koje virus prenose na neperzistentan način.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Sorte pasulja koje poseduju dominantni gen za nekrozu prema ovom virusu (I gen) ne razvijaju simptome mozaika, nego dolazi do nekrotičnih pega, nekroze nerava, listova, pa i celih biljaka. Drugu grupu predstavljaju sorte koje ispoljavaju simptome mozaika, žućenja nerava, klobučavosti listova, uvijanja liski na dole (Slika XIII.47.), deformacije biljaka i zakržljivosti. U zavisnosti od sorte i soja virusa štete mogu biti i totalne.



Slika XIII.47. Simptom virusa običnog mozaika pasulja (Foto: Bagi)

#### *Mere suzbijanja*

Osnovna mera zaštite je setva zdravog semena pasulja, kao i prostorna izolacija od drugih parcela pod ovim usevom. Usled neperzistentnog prenošenja virusa vašima primena insekticida ne rezultuje dovoljnom visokom efikasnošću u suzbijanju ove viroze. Virus se ne prenosi semenom sorti koje poseduju I gen, ali se u blizini useva ovih sorti ne sme naći izvor inokuluma, jer u slučaju prenošenja mogu nastati velike štete. Utvrđeni su i recesivni geni otpornosti prema ovom virusu (bc-u, bc-1, bc-2, bc-3) koji pružaju otpornost prema pojedinim sojevima virusa, ali su utvrđeni i sojevi virusa koje prevazilaze dosad poznate izvore otpornosti (Feng et al., 2014).

#### *Virus žutog mozaika pasulja (Bean yellow mosaic virus, BYMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Raširen je na svim kontinentima, odnosno svim regionima gajenja pasulja (EPPO, 2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ima končaste čestice dužine 750 nm. Genom virusa je ss(+)RNK. Omotač virusa je sagrađen od jedne vrste polipeptida.

#### *Krug domaćina*

Najvažniji domaćini virusa su pasulj i grašak, a može se javiti na drugim gajenim i divljim predstavnicima porodice *Fabaceae*, dok ređe i na biljkama iz drugih porodica (Bos, 1970; Wylie i Jones, 2009). Utvrđen je i na ukrasnoj biljci kana (Chauhan et al., 2015).

#### *Patogeneza*

Za razliku od običnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic virus*, BCMV), virus žutog mozaika pasulja se samo u niskom procentu prenosi semenom domaćina, kao što su grašak i

lupina (Bos, 1970). Veoma uspešno se prenosi sa većim brojem vrsta lisnih vaši na neperzistentan način (Maling et al., 2008).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus je dobio ime po sistemskom žutom mozaiku i šarenilu koji se javlja na listovima pasulja. Druge promene na zaraženim biljkama su zaostajanje u porastu, deformacije mahuna i nekroza vrha izdanka. Na grašku se javlja hloroza i nekroza nerava listova, mozaik, kao i nekrotične linije na stablu. Prema podacima Latham-a i Jones-a (2001) na usevima graška su utvrđene štete od ovog virusa od 18%, a na usevima pasulja 31%. Prema Jones et al. (2003) u slučaju da se virus značajnije proširi u usevu, štete mogu biti i do 60%,

#### *Mere suzbijanja*

U mere zaštite se ubrajaju uništavanje korova domaćina virusa, prostorna udaljenost između useva domaćina virusa, kao i praćenje populacije i uništavanje lisnih vaši.

### *Virus mozaika šećerne repe (Beet mosaic virus, BtMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen širom sveta (Russel, 1971).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine 730 nm i širine 13 nm. Genom je jednodelna ss(+)RNK, omotač virusa je sagrađen od jedne vrste polipeptida (Nemchinov et al., 2004).

#### *Krug domaćina*

Pored šećerne repe opisan je na cvekli i spanaću. Wang et al (2008a) su ovu vrstu opisali i na salati.

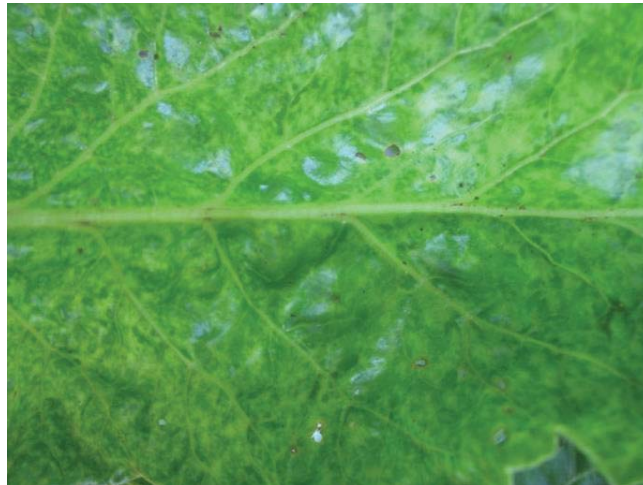
#### *Patogeneza*

Zaostali korenovi ili delovi korena šećerne repe, semenska šećerna repa ili prezimele biljke šećerne repe i drugih domaćina predstavljaju izvor zaraze virusa mozaika šećerne repe (*Beet mosaic virus*, BtMV). Virus prenosi veći broj vrsta lisnih vaši na neperzistentan način, pri čemu u najznačajnije spadaju *Myzus persicae* i *Aphis fabae*.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi prouzrokovani ovim virusom su u poglavlju Patološke promene viroznih biljaka poslužili za primer hipotrofičnih promena. Lišće sa simptomima mozaika izgrađeno je od hipotrofičnih ćelija u žuto obojenim površinama lista (Slika XIII.48). U ovim delovima list je tanji, usled smanjene veličine ćelija u odnosu na zelene površine. Hipotrofija se najčešće javlja kod palisadnih ćelija, koje ostaju nerazvijene kraće, tj. manje u odnosu na zdrave ćelije. Zaražene biljke su zaostale u porastu. Kod mlađih biljaka se često javlja hloroza nerava.

Jalali et al. (2003) su utvrdili da je kod semenskog useva virus prouzrokovao smanjenje produkcije semena od 43% u odnosu na zdrave biljke. Shepherd et al. (1965) su kod zaraženih biljaka utvrdili smanjenje prinosa korena od 20,4%. Prinos šećera zaraženih biljaka je takođe smanjen.



Slika XIII.48. Simptom mozaika na listu šećerne repe (Foto: Bagi)

#### *Mere suzbijanja*

Shepherd i Hills (1970) su utvrdili da se značajno smanjuje zaraza virusom mozaika šećerne repe (*Beet mosaic virus*, BtMV) ukoliko se obezbedi prostorna udaljenost od izvora zaraze od 10 milja (16 km), pa je jedna od značajnih mera zaštite prostorna udaljenost od starih repišta i parcela sa semenskom šećernom repom. Mali et al. (2000) kao meru zaštite preporučuju gajenje sorti šećerne repe sa otpornošću prema virusu prouzrokovaju oboljenja ili prema vektoru *Myzus persicae*. Praćenje leta lisnih vaši i sprečavanje prenamnoženja vektora umanjuje štete od ovog virusa.

### *Virus mozaika salate (Lettuce mosaic virus, LMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je prisutan na svim kontinentima (EPPO, 2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine 750 nm i širine 13 nm (Le Gall, 2003). Genom je jednodelna ss(+)RNK. Na 5' kraju ima za genom vezani protein (VPg), a na 3' kraju poliadenilni rep (Hulo et al., 2011) omotač virusa je sagrađen od jedne vrste polipeptida.

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćin virusa je salata, a značajan je paraziz spanaća i graška. Virus može zaraziti i ukrasne biljke iz porodice *Asteraceae* (Svanella-Dumas et al., 2014), kao i više korovskih biljaka.

#### *Patogeneza*

Virus se neperzistentno prenosi većim brojem lisnih vaši među kojima su *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae* i druge. Obični soj (LMV –

common) i soj LMV-moST se uspešno prenose polenom i semenom salate, dok se drugi sojevi ne prenose na ovaj način (Krause-Sakate et al., 2002).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na mlađim listovima salate dolazi do prosvetljavanja nerava, koje na starijim prelaze u mozaik. Takođe simptomi mogu biti i nekroza i izumiranje biljaka. Biljke su deformisane i zakrčljale. Broadbent et al. (1951) smatraju da 0,1 % zaraženog semena salate može dovesti do potpunog gubitka prinosa.

#### *Mere suzbijanja*

Glavni način prevencije je setva zdravog semena i prostorna izolacija od izvora zaraze. (Broadbent et al., 1951). Izbegavanje preklapanja vegetacije salate sa periodom vegetacije i gajenja drugih osetljivih useva prema ovom virusu predstavljaju meru zaštite. Gen otpornosti mo1 pruža zaštitu samo od nekih sojeva virusa. Revers et al. (1997) ukazuju da postojanje velikog broja sojeva kao i izražena sposobnost rekombinacije virusa dovodi do brzog prevazilaženja otpornosti salate. Primena insekticida je vrlo ograničenih mogućnosti usled neophodnosti pridržavanja karence i neperzistentnog načina prenošenja virusa. Stvorene su sorte salate sa transgenom otpornošću prema ovom virusu (Dinant et al., 1991).

### *Virus mozaične krčljivosti kukuruza (Maize dwarf mosaic virus MDMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je raširen širom sveta (Ford et al., 1989).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dimenzija 750 nm i širine 13 nm. Genom je jednodelna ss(+)RNK, a omotač virusa je sagrađen od jednog polipeptida. Opisano je više sojeva virusa.

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćin virusa su kukuruz i gajeni sirak, kao i brojni korovi iz porodice *Poaceae* među kojima se ističe divlji sirak kao najvažniji izvor zaraze (Ford et al., 1989; Bagi, 2006).

#### *Patogeneza*

U našim uslovima glavni izvor zaraze virusom mozaične krčljivosti kukuruza (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV) je korovska biljka divlji sirak u čijim rizomima se virus uspešno održava i tokom zimskog perioda (Bagi, 2006). Prema nekim autorima u niskom procentu virus se može preneti i semenom kukuruza (Mikel et al., 1984). Tokom vegetacije virus se prenosi na neperzistentan način većim brojem vrsta lisnih vaši, među kojima su *Schizaphis graminum*, *Aphis craccivora*, *Aphis fabae*, *Acyrtosiphon pisum*, *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *Macrosiphum avenae*, *Rhopalosiphum padi*, *Rhopalosiphum poae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Rhopalosiphum maidis*, *Brevicoryne brassicae* i druge (Ford et al., 1989).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Kako na kukuruзу, tako i na gajenom sirku infekcije u ranim fenofazama razvoja biljaka dovode do značajne kržljivosti biljaka koje ostaju patuljave. Na biljkama se redovno javlja prugasti mozaik u vidu naizmeničnog smenjivanja pruga žute i zelene boje, a u nekim slučajevima nastupa i nekroza. Klipovi zaraženih biljaka kukuruза ostaju kržljavi sa manjim brojem redova zrna, i sa manjim brojem zrna. Na nekim genotipovima gajenog sirka u slučaju ranih infekcija virusom i srednjih dnevnih temperatura ispod od 15 °C nastupa naglo crvenilo i/ili nekroza zaraženih biljaka (Slika XIII.49. i 50). Ova pojava se opisuje i kao "šok reakcija" gajenog sirka, koja dovodi do nagle pojave simptoma crvenila i nekroze, i prouzrokuje značajne gubitke u proizvodnji (Berenji et al., 1993; Bagi, 2006). Simptomi zavise od soja virusa, genotipa biljaka, vremena ostvarene infekcije, uslova spoljne sredine i drugih faktora (Bagi et al., 2002). Unutar vrste virusa postoji značajan genetički diverzitet (Gell et al., 2010). Virus mozaične kržljivosti može značajno, čak i za 40% da smanji prinos i kvalitet kukuruза. Može da smanji količinu ulja u zrnu za oko 40%, ne menjajući pri tome odnos pojedinih masnih kiselina (Šutić, 1995). Berenji et al. (1993) zaključuju da simptomi crvenila na metlici sirka u znatnoj meri smanjuju kvalitet sirka metlaša. Tošić i Mijavec (1991) konstatuju da se virus mozaične kržljivosti kukuruза na teritoriji bivše Jugoslavije može javiti u epifitotičnim razmerama prouzrokujući ekonomski značajne gubitke sirka. Ovi autori su utvrdili smanjenje visine zaraženih biljaka od 20-50%, intenzivnije obrazovanje izdanaka obolelih biljaka i smanjenje prinosa od 31,6-58,6 %. Gubitke je povećao i slabiji kvalitet metlica (na svega od 10-20% biljaka se obrazovala prvoklasna metlica). Stakić (1984) je na osnovu težine metlica kod dve sorte sirka metlaša utvrdio smanjenje prinosa zaraženih biljaka za 40,2%, a na osnovu težine zrna kod dve sorte sirka zrnaša utvrdio smanjenje prinosa za 28,76%. Ovaj autor je takođe utvrdio da virus mozaika kukuruза utiče i na procenat suve materije kod silažnog sirka. Tako je u proseku kod dve ispitivane sorte procenat suve materije smanjen u listu za 3,50%, u stabljici za 6,19%, dok je u metlici povećan za 5,34%. MDMV povećava osetljivost biljaka kukuruза prema infekcija drugih patogena. Tako na primer povećava osetljivost zaraženih biljaka prema gljivi *Giberella zeae* (*Fusarium graminearum*) za 2,5 puta, prema *Ustilago maydis*, prouzrokovaču mehuraste gari za oko 21%, a gljivi *Dreschlera turcica*, prouzrokovaču sive pegavosti kukuruза za oko 13%. Prinos zaraženih biljaka ovim virusom može biti umanjen do 41,8%, a zaraza virusom i gljivom *G. zeae* može da smanji prinos po biljci do 50% (Šutić, 1995).



Slika XIII.49. i 50. Crvenilo i nekroza na gajenom sirku usled zaraze virusom mozaične kržljivosti kukuruза (Foto: Bagi)

### *Mere suzbijanja*

Uništavanje divljeg sirka, glavnog rezervoara virusa i izvora zaraze predstavlja najvažniju meru zaštite. Setva zdravog semena takođe predstavlja meru prevencije. S obzirom na neperzistentno prenošenje uništavanje lisnih vašiju ima ograničeni efekat. U slučaju gajenog sirka utvrđeno je da ugradnja tzv „Krish“ gena obezbeđuje otpornost prema virusu (Bagi et al., 2002a; Bagi et al., 2004), a u slučaju kukuruza otpornost pruža gen *mdm1* (Redinbaugh et al., 2004). Stvoreni su i transdogeni hibridi kukuruza otporni prema ovom oboljenju (Zhang et al., 2010).

### *Virus žute patuljivosti crnog luka (Onion yellow dwarf virus OYDV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

### *Rasprostranjenost*

Usled širenja virusa putem vegetativnog sadnog materijala virus je rasprostranjen na svim kontinentima (Dovas et al., 2001; EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine 720-850 nm, a širine 12-15 nm (Hulo et al., 2011). Genom virusa je ss (+)RNK koja na 3' kraju ima poliadenilni rep, a na 5' kraju protein vezan za genom (VPg).

### *Krug domaćina*

Glavni domaćini virusa su crni luk, praziluk i beli luk, ali je izolovan i sa drugih vrsta roda *Allium* među kojima se nalaze i divlje vrste, kao i vrste roda *Narcissus* (Bos, 1976; van Dijk, 1993).

### *Patogeneza*

Najvažniji izvor zaraze je zaražen sadni materijal luka odnosno semenski luk. Tokom vegetacije se virus prenosi na neperzistentan način putem većeg broja lisnih vaši. Prema podacima El-Wahab-a (2009) kod belog luka najefikasniji prenosioci virusa su *M. persicae*, *A. craccivora*, *A. gossypii* i *A. pisum*.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi oboljenja su kržljivost biljaka, linijski mozaik, žućenje, deformacije, uvijanje i kovrdžanje listova (Lot et al., 1998; Bagi et al., 2010; 2011, Slika XIII.51). Virus se u našim uslovima javlja u značajnom intenzitetu i prouzrokuje smanjenje komponenata prinosa luka. Prema podacima Bagi et al. (2011; 2012a) u zavisnosti od genotipa i godine virus je utvrđen u 30%-60% ispitivanih uzoraka listova belog luka, pri čemu je kod zaraženih biljaka došlo do smanjenja mase lukovica za 21,5%, a sadržaja suve materije za 24%.



Slika XIII.51. Simptom virusa žute patuljivosti crnog luka na belom luku (Foto: Bagi)

#### *Mere suzbijanja*

Najefikasnija mera u zaštiti lukova prema virusnim oboljenjima predstavlja sadnja bezvirusnog sadnog materijala (Bagi et al., 2011). Prema podacima Conci et al. (2003) uvođenje ove mere u proizvodnju doprinosi povećanju prosečne mase lukovica čak i za 66-216%. Korišćenje deklarisanog sadnog materijala luka predstavlja standardnu proceduru u svim državama koje se ističu po površinama i prinosima belog luka (Gvozdanić-Varga et al., 2009). Prema Verbeek et al. (1995) i Shibolet et al. (2001) tehnika kulture meristema i termoterapije su pogodna za proizvodnju bezvirusnog sadnog materijala. Radi kontrole bezvirusnog statusa sadnog materijala razvijene su savremene tehnike detekcije virusa *Allium* vrsta (Lunello et al., 2005; Leisova-Svobodova i Karlova-Smekalova, 2011). Prostorna izolacija od izvora zaraze, uništavanje zaraženih biljaka i vektora takođe doprinose smanjenju intenziteta zaraze. McDonald et al. (2004) preporučuju izbegavanje preklapanja vegetacije lukova, odnosno uvođenje vremenskog perioda tokom godine kada se prekida gajenje svih domaćina virusa, čime se značajno smanjuje mogućnost održavanja virusa na njivi.

#### *Virus prenošljiv semenom graška (Pea seed-borne mosaic virus, PSbMV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Potyviriidae*  
rod *Potyvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je prisutan na svim kontinentima, a opisan je i u Srbiji (EPPO, 2015). Širokom rasprostranjenju doprinosi mogućnost prenošenja virusa putem zaraženog semena graška.



#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dimenzija 770 x 12 nm (Hampton i Mink, 1975). Ribonukleinska kiselina čini oko 5% mase čestica. Sojevi virusa su prema patogenosti na domaćinima podjeljeni u četiri patotipa, pri čemu se patotipovi 1 i 2 najčešće javljaju na sočivu, a 3 i 4 su karakteristični za grašak. Prema Keller et al. (1998) VPg koji je vezan za 5' kraj nukleinske kiseline određuje kojem patotipu dati virus pripada.

#### *Krug domaćina*

Najznačajniji domaćin je grašak, ali domaćini virusa su i naut, bob, grahorica, sočivo i druge biljke iz porodice *Fabaceae* (Coutts et al., 2009).

#### *Patogeneza*

Ime virusa samo po sebi otkriva da se virus veoma uspješno prenosi semenom graška (Munro, 1978). Pored toga virus se prenosi lisnim vašima na neperzistentan način, kao i mehanički. Među lisnim vašima kao vektori najpoznatije su vrste *Acyrtosiphon pisum*, *Dactynotus escalanti*, *Macrosiphum euphorbiae*, *M. rosae*, *Myzus persicae*, *Ovatus crataegarius*, *Rhopalosiphum padi*.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na zaraženim biljkama se pojavljuju simptomi zakrčljavanja, uvijanja listova prema dole, prosvetljavanja i bubrenje nerava. Cvetovi i mahune graška su takođe deformisani. Semenjača tokom sazrevanja često puca (Hampton i Mink, 1975). Prema podacima Coutts et al. (2009) za svaki procenat zaraženog semena prinos se smanjuje za oko 8 kg/ha. U zavisnosti od godine ispitivanja i procenta zaraženosti setvenog materijala ovi autori beleže gubitke u prinosu i do 25%.

#### *Mere suzbijanja*

Setva zdravog semena graška predstavlja osnovnu meru zaštite protiv oboljenja. Geni rezistencije sa oznakom Sbm pružaju otpornost u zavisnosti od odnosa genotip domaćin-soj virusa (Keller et al., 1998). Uništavanje korova domaćina virusa, prostorna udaljenost od izvora zaraze i mere protiv vektora virusa takođe se svrtstavaju u preventivne mere zaštite.

### *A virus krompira (Potato virus A, PVA)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviriidae*

Rod *Potyvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Rasprostranjen u svim regionima gajenja krompira (Bartels, 1971).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine oko 730 nm. Genom je ss(+) RNK koji na 3' kraju ima poliadenilni rep, a na 5' kraju VPg (Kekarainen et al., 2002).

#### *Krug domaćina*

Domaćini pripadaju porodici *Solanaceae*, pri čemu je najznačajniji krompir (Bartels, 1971). Thomas (2004) je izolovao ovaj virus i sa korova *Solanum nigrum* (crna pomoćnica) i *S. sarrachoides*.

### *Patogeneza*

Virus se održava u zaraženim krtolama krompira, a tokom godine se prenosi lisnim vašima na neperzistentan način i mehanički putem dodira. Među lisnim vašima kao vektori su poznate vrste *Aphis frangulae*, *A. nasturtii* i *Myzus persicae* (Bartels, 1971).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

U zavisnosti od odnosa genotip krompira- patogen oboljenje ne dovodi do ispoljavanja simptoma, ili dolazi do blagih simptoma u vidu mozaika, talasatih ivica listova i blagih deformacija. Pojedini genotipovi krompira reaguju hipersenzitivno, te dolazi do nekrotičnih promena (Nie i Singh, 2001). Prema Bartels-u (1971) virus može prouzrokovati gubitke i do 40%.

### *Mere suzbijanja*

Osnovne mere suzbijanja su navedene kod virusa crtičastog mozaika krompira, pri čemu je kao i u slučaju tog virusa najvažnija mera sadnja zdravih krtola krompira.

## *Virus mozaika soje (Soybean mosaic virus, SMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

### *Rasprostranjenost*

Usled širenja virusa putem zaraženog semena virus je prisutan u svim regionima gajenja soje (Bos, 1972; Golnaraghi, et al., 2004; Gao et al., 2015). Ovo oboljenje je prvi put opisano u Srbiji 1964. godine (Nikolić i Stakić, 1964). Mozaik je prisutan u svim lokalitetima gajenja soje u našoj zemlji.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Patogen ima končaste čestice dužine oko 750 nm (Hulo et al., 2011). Genom virusa je ss(+)RNK. Prema Li et al. (2010) izolati virusa se na osnovu patogenosti prema diferencijalnom sortimentu mogu grupisati u 12 sojeva.

### *Krug domaćina*

Domaćin virusa je soja. Oko 30 biljnih vrsta spada u eksperimentalne domaćine (Bos, 1972).

### *Patogeneza*

U epidemiologiji oboljenja zaraženo seme kao izvor inokuluma ima presudnu ulogu (Golnaraghi, et al., 2004). Procenat prenošenja semenom je visok i može iznositi i do 30%, a ponekad i do 75%, što zavisi od sorte soje, soja virusa, kao i vremena infekcije (Jasnić et al., 2003). Kod ranih infekcija, pre cvetanja, procenat zaraženog semena je visok. Nasuprot tome, pri kasnijim zarazama posle cvetanja, procenat zaraženosti semena se smanjuje. Prenosi se mehanički i vektorima – lisnim vašima na neperzistentan način. Oko 30 vrsta biljnih vaši prenose virus sa zaraženih na zdrave biljke, pri čemu su najznačajnije vrste *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora*, *A. fabae*, *A. glycines*, *A. gossypii*, *Myzus persicae*, *Rhopalosiphum maidis*, *R. padi*, *Schizaphis graminum* i dr.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Prvi simptomi oboljenja zapažaju se na mladim biljkama, izniklim iz zaraženog semena (Jasnić et al., 2003). Ove biljke su sa deformisanim, naboranim i kovrdžavim primarnim listovima. Liska može da ima normalan oblik ili da se kovrdža duž ivica nadole. Na kasnije formiranim troperim listovima ispoljavaju se oštriji simptomi u odnosu na primarne listove. Na njima se javlja mozaično šarenilo, liska je naborana, naročito oko nerava. Ona dobija kovrdžav, asimetričan izgled, zaostaje u porastu i postaje hlorotična. Intenzitet oboljenja je veoma promenljiv i zavisi od sorte, soja virusa, starosti biljke u vreme infekcije i spoljašnjih uslova. Kod osetljivih sorti soje, pri ranim zarazama, obično pre cvetanja, javljaju se veoma oštri simptomi u vidu zaostajanja biljaka u porastu i jakih deformacija listova. Tipični simptomi na troperim listovima su prosvetljavanje i hloroza nervature. Kasnije se pojavljuju tamnozeleno enacije duž glavnog nerva, kovrdžavost liske i savijanje ivica nadole. Kod nekih sorti dolazi do pojave nekrotičnih pega između nerava. Nekroza se širi preko peteljki na stablo i može prouzrokovati prevremeno opadanje lista i uginjavanje cele biljke. Kod ranih zaraza i osetljivih sorti bivaju zaražene i mahune (Jasnić et al., 2003). One su krive, kržljave, spljoštene i slabije obrasle dlačicama. U zaraženim mahunama formira se manji broj semenki, koje su sitnije i šturo sa mrkim ili crnim šarama na semenjači i slabijom klijavošću. Zaražene biljke zaostaju u porastu i formiraju manji broj mahuna, sa manjim brojem zrna. Seme u obolelim mahunama je sitnije, slabijeg kvaliteta i umanjene klijavosti. Na korenu se obrazuje manji broj sitnijih kvržica. Svi ovi faktori utiču, ukoliko je zaražen veći broj biljaka, na značajnije smanjenje prinosa soje. Iako je ova viroza rasprostranjena u Srbiji, štete su male i beznačajne, zbog slabog intenziteta zaraze (Jasnić et al., 2003). Mozaik soje u nekim zemljama ima veliki ekonomski značaj. Tako je u SAD prinos soje na pojedinim parcelama bio smanjen do 50% (Sinclair i Backman, 1989). U bivšem Sovjetskom Savezu smanjenje prinosa je u nekim slučajevima iznosilo između 24 i 94 % (Muravjeva, 1973). Ross (1977) navodi da se gubici u zavisnosti od osetljivosti sorte kreću između 35 i 50%.

### *Mere suzbijanja*

U zaštiti soje koriste se preventivne mere, kojima se sprečava ostvarivanje i širenje infekcije (Jasnić et al., 2003). Za setvu treba da se koristi zdravo seme. Semenske parcele sejati na razdaljini 3 do 5 km, od parcela sa merkantilnom sojom, kako bi se sprečilo širenje virusa lisnim vašima. Treba gajiti sorte koje poseduju gene otpornosti (Zhang et al., 2012). Kao mera zaštite, preporučuje se i suzbijanje vektora virusa mozaika soje. Gao et al. (2015) navode podatke o mogućnosti stvaranja transgene otpornosti soje prema ovom virusu.

## *Virus mozaika lubenice (Watermelon mosaic virus, WMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus mozaika lubenice smatra se opšte rasprostranjenim virusom u umereno toplim i tropskim regionima (Vučurović et al., 2010; Kamberoglu et al., 2015). Široko je rasprostranjen u usevima vrežastih kultura. Na teritoriji Evrope se najčešće javlja na

Mediterranu (Desbriez et al., 2007; Vučurović et al., 2010). Virus prouzrokuje štete i u Srbiji (Stakić i Nikolić, 1966; Tošić et al., 1996; Dukić et al., 2001; Glasa et al., 2011).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine oko 750 nm (van Regenmortel, 1971). Genom virusa je ss(+)RNK, na 3' kraju ima poliadenini rep, a na 5' kraju VPg (Hulo et al., (2011)).

#### *Krug domaćina*

Prema van Regenmortelu (1971) prirodni domaćini virusa su iz porodica *Cucurbitaceae* i *Fabaceae*, ali je eksperimentalni krug domaćina znatno širi. Glavni domaćini su vrežaste biljke lubenica, dinja, tikve, krastavac (Krstić et al., 2002; Dukić et al., 2006; Glasa et al., 2011; Trkulja et al., 2014). Yeh et al. (1984) su predložili podjelu na dve vrste, WMV-1 i WMV-2, pri čemu izolati koji zaražavaju samo biljke iz porodice *Cucurbitaceae* pripadaju WMV-2, dok izolati koji su infektivni i na biljkama iz drugih porodica pripadaju WMV-1.

#### *Patogeneza*

Virus se prenosi lisnim vašima (*Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *Aphis fabae*) na neperzistentan način (van Regenmortel, 1971; Castle et al., 1992). Prema Edwardson i Christie (1986) 29 vrsta lisnih vaši može imati ulogu vektora u prenošenju virusa.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Vučurović et al. (2010) na tikvama opisuju raznolike simptome koji su uključivali mozaik, hlorotično šarenilo i klobučavost na listovima, kao i šarenilo i deformacije plodova. Usled ranih infekcija biljke zaostaju u porastu, listovi su redukovani što u nekim slučajevima dovodi do nitavosti lista. Plodovi menjaju boju i deformišu se. Prema Vučurović et al. (2010) i Glasa et al. (2011) simptomi i štete su intenzivnije ukoliko se virus mozaika lubenice nalazi u mešanim infekcijama sa drugim virusima, nego kada su zaražene samo sa WMV. U slučaju infekcije samo sa virusom mozaika lubenice simptomi su se uglavnom manifestovali na lišću u vidu blagog zelenog mozaika i zadržavanja zelene boje oko nerava, što nije ometalo da listovi dostignu punu veličinu. Ali i Natsuaki (2007) na biljkama tikve, lubenice i krastavca navode simptome sistemičnog šarenila, mozaika i deformacije listova. U slučaju ranih infekcija štete od ovog virusa mogu iznositi 50-100% (Mansour i Al-Musa, 1982).

#### *Mere suzbijanja*

Prema Bulajić et al. (2010) otpornost prema virusu mozaika lubenice je registrovana u *C. lanatus* i *C. colocynthis*, dok postoje podaci da u okviru genotipova lubenice takođe postoji otpornost, koja je promenljiva u odnosu na soj virusa. Díaz-Pendón et al. (2005) navode postojanje otpornosti prema virusu u populaciji dinje. Postoje podaci i o transgenoj otpornosti prema ovom prouzrokovaju oboljenja. Genotipovi vrežastih biljaka koji poseduju otpornost prema lisnim vašima su manje ugroženi virusnim oboljenjima (Kishaba et al., 1992; Garzo et al., 2002; Bulajić et al., 2010). Primena insekticida kao mera zaštite protiv virusnog oboljenja, usled neperzistentnog načina prenošenja ima ograničen efekat. Preporučuje se primena biljnih ulja, kao i primena aluminijumskog pokrova koji odbija lisne vaši (Ali i Natsuaki, 2007).

## *Virus šarke šljive (Plum pox virus, PPV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviridae*

Rod *Potyvirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus je opisan na svim kontinentima osim Australije (EPPO, 2015). U Evropi, a posebno na Balkanskom poluostrvu je široko rasprostranjen. U Africi postoje nalazi iz Egipta i Tunisa. U Kanadi je eradikovao ili je ograničenog prisustva, a u SAD postoje nekoliko nalaza iz Mičigena, Pensilvanije i drugih država. U Južnoj Americi je opisan u Argentini i Čileu, a u Aziji u Indiji, Kini, Iranu i drugim državama (EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine 765 nm dužine i 15 nm širine (EPPO, 2015). Genom virusa je ss(+)RNK, koja na 3' kraju ima poliadenilni rep, a 5' kraj se završava proteinom koji se vezuje za genom (Šubr i Glasa, 2013). PPV je tipični predstavnik roda *Potyvirus* čiji genom sadrži jedan otvoreni okvir čitanja (ORF) koji kodira prekursor poliprotein od 355,5 kDa (Jevremović i Paunović, 2014).

### *Krug domaćina*

Domaćini virusa su vrste iz roda *Prunus*, među kojima su šljiva, kajsija, breskva i badem (EPPO, 2015a). Opisane su prirodne zaraze i na trešnji i višnji. Virus zaražava i ukrasne i divlje vrste roda *Prunus*, koje služe kao izvor zaraze, a među njima se nalaze i vrste koje se koriste kao podloge, što otežava mere zaštite protiv ovog virusa. Llácer (2006) navodi prirodne i eksperimentalne domaćine virusa među zeljastim korovima, ali smatra da oni nemaju značaja u epidemiologiji virusa.

### *Patogeneza*

Glavni izvor inokuluma su zaražena stabla *Prunus* vrsta (EPPO, 2015a). Sa njih se virus prenosi lisnim vašina na neperzistentan način ili kalemljenjem u procesu proizvodnje sadnog materijala. Putem prometa sadnim materijalom virus može dospeti na područja na kojima još nije opisan. Među lisnim vašima poznati vektori su *Aphis spiraecola*, *Myzus persicae*, *Aphis craccivora*, *A. fabae*, *Brachycaudus cardui*, *B. helychrysi*, *B. persicae*, *Hyalopterus pruni*, *Myzus varians*, *Phorodon humuli* i druge vrste. Vektori usvajaju virus već za 30 sekundi, a infektivni su oko sat vremena (Levy et al., 2000).

### *Sojevi virusa*

U zavisnosti od simptoma koji se javljaju na zeljastoj test biljci *Chenopodium foetidum*, kao i na osnovu biofizičkih osobina Šutić (1995) je sojeve šarke podelio na žuti, žutonekrotični (intermedijalni) i nekrotični soj.

Novija istraživanja su sojeve na osnovu pre svega molekularnih istraživanja ali i na osnovu geografskog porekla, domaćina, simptomatologije, seroloških osobina i karakteristika proteinskog omotača svrstala u veći broj sojeva.

Šubr i Glasa (2013) i Jevremović i Paunović (2014) navode osam podgrupa sojeva PPV: PPV-M (Marcus); PPV-D (Dideron); PPV-EA (El Amar); PPV-C (Cherry); PPV-Rec (Recombinant); PPV-W (Winona); PPV-CR (Cherry Russian) i PPV-T (Turkey).

PPV-M (Marcus) je rasprostranjen u zemljama istočne i centralne Evrope i Mediterana. Prvi put je opisan u Grčkoj na breskvi, a pored breskve zaražava i kajsiju i šljivu. Efikasno se prenosi lisnim vašima naročito u voćnjacima breskve (Jevremović i Paunović, 2014).

PPV-D (Dideron) je opisan na kajsiji u Francuskoj, a zaražava i šljivu i breskvu. Prisutan je u Evropi, Južnoj i Severnoj Americi kao i u Aziji. Prema Jevremović i Paunović (2014) ovaj soj se često pominje kao manje agresivan u odnosu na PPV-M, što međutim zavisi od brojnih faktora, među kojima su poreklo izolata, prisutnost vektora, osetljivost domaćina itd.

PPV-EA (El Amar) je manje značajan soj koji je izolovan samo u Egiptu sa kajsije. Na šljivi i breskvi prouzrokuje veoma blage promene (Jevremović i Paunović, 2014).

PPV-C (Cherry) je opisan u nekoliko evropskih država (Moldavija, Bugarska, Hrvatska, Italija, Mađarska, Rumunija i Belorusija) na trešnji i višnji (Jevremović i Paunović, 2014).

PPV-Rec (Recombinant) predstavlja prirodnu rekombinaciju sojeva PPV-M i PPV-D (Glasa, 2004). Uspešno se prenosi lisnim vašima i zaražava šljivu i kajsiju. Smatra se da ne može prirodno da zarazi breskvu (Jevremović i Paunović 2013). Široko je rasprostranjen u centralnoj i istočnoj Evropi, utvrđen je i u Aziji i Severnoj Americi (Jevremović i Paunović 2014).

PPV-W (Winona) je opisan u Kanadi od strane James i Varga (2005). Soj je opisan i u Ukrajini, Rusiji i Latviji (Glasa et al., 2011a; Jevremović i Paunović 2014).

PPV-CR (Cherry Russian) je opisan u Rusiji na trešnji (Chirkov et al., 2013; Šubr i Glasa, 2013; Jevremović i Paunović 2014).

PPV-T (Turkey) je izolovan sa kajsije i i šljive u Turskoj (Serce et al., 2009; Jevremović i Paunović 2014).

Prema opsežnim ispitivanjima Jevremović i Paunović (2014) dominantni soj virusa u Srbiji je PPV-Rec, a značajni su i PPV-M i PPV-D.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi oboljenja se mogu ispoljiti na listovima, plodovima, cvetovima, granama i semenima zaraženih biljaka (Jevremović i Paunović, 2014). Simptomi se najjasnije ispoljavaju u prolećnom periodu na mladim listovima u vidu hlorotičnih pega, prstenova, prosvetljavanja nerava i mozaika, a ponekad i u vidu hloroze i deformacije listova (Šubr i Glasa, 2013; Slika XIII.52 i 53). Na cvetovima breskve dolazi do ispoljavanja simptoma šarenila.

Na plodovima breskve i nektarine i kasnije se uočavaju hlorotični prstenovi. Takve promene su još upadljivije na košticama kajsije (Slika XIII. 54 i 55). Zaraženi plodovi šljive menjaju svoju konzistenciju, gumasti su, boja tkiva ploda postaje tamnija, a pogoršava se i ukus ploda zbog povećanja sadržaja kiselina, i smanjenja sadržaja šećera.

U našoj zemlji virus šarke šljive je ugrozio gajenje domaće sorte Požegače, tako da su se površine pod ovom sortom značajno smanjile. Pored smanjenja prinosa virus šarke šljive pogoršava i kvalitet plodova i u mnogim slučajevima čini ih neupotrebljivim za preradu (Stojanović, 2004). Virus na ovoj sorti prouzrokuje prevremeno opadanje plodova, što može rezultovati gubicima od 100% (Jevremović i Paunović, 2014). Veličina plodova šljive se smanjuje za 0,2-34% u zavisnosti od osetljivosti sorte. Kod osetljivih sorti javljaju se značajne promene u citološkoj i histološko-anatomskoj građi plodova. Zaraženi plodovi imaju smolastu i sluzastu konzistenciju. Oni su neukusni za jelo i neupotrebljivi za preradu, jer su im proizvodi (pekmez i rakija) nakiseli zbog povećane količine kiselina i smanjenog ukupnog šećera (Jordović i Janda, 1963).



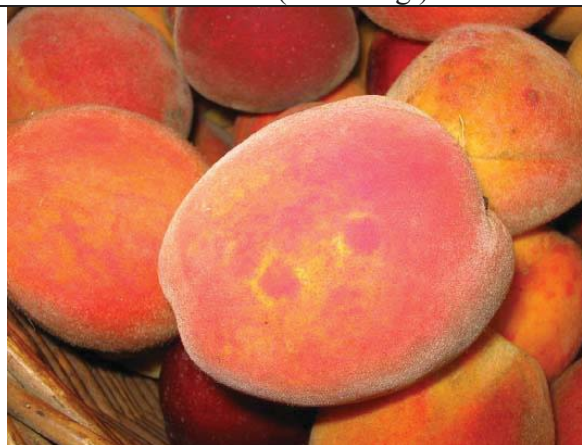
Slika XIII.52. Simptom virusa šarke šljive na sorti šljive Crvena ranka (Foto: Kuzmanović)



Slika XIII.53. Simptom virusa šarke šljive na džanarici (Foto: Bagi)



Slika XIII.54. Simptom virusa šarke šljive na koštici kajsije (Foto: Bagi)



Slika XIII.55. Simptom virusa šarke šljive na plodu breskve (Foto: Bagi)

### *Mere suzbijanja*

Mere protiv šarke šljive zavise od statusa oboljenja u datoj državi odnosno regionu (Teshale, 2014), odnosno da li je virus prisutan i ako jeste, u kojoj razmeri.

U Srbiji usled širokog rasprostranjenja virusa, postojanja domaćina u divljim populacijama *Prunus* vrsta, kao i neperzistentnog načina prenošenja vašima, mere zaštite protiv virusa šarke šljive su često ograničenog efekta.

Osnovna mera zaštite je osnivanje zasada sa zdravim sadnim materijalom. Paunović et al. (2007) su dokazali da se putem hemoterapije i primene ribavirina uspešno mogu proizvesti bezvirusne sadnice šljive. Prostorna izolacija od izvora zaraza- drugih zasada u kojima postoje zaražena stabla, pojedinačnih zaraženih stabala u okućnicama ili divljih *Prunus* vrsta je izuzetno značajna. Rana detekcija zaraženih stabala i njihovo uništavanje je važno u voćnjacima u kojima virus još nije značajno raširen.

Postoje razlike u osetljivosti, odnosno nivou otpornosti sortimenta gajenih *Prunus* vrsta (Milusheva et al., 2012). Prema Levy et al. (2000) otpornost prema virusu je multigenog karaktera, što otežava stvaranje otpornosti sorti koštičavih voćaka prema virusu. Dosadašnji tradicionalni oplemenjivački rad je rezultovao hipersenzibilnim ili tolerantnim sortama, ali ne

i sortama koje su imune na infekciju virusom (Levy et al., 2000; Neumüller et al., 2010). Gajenje tolerantnih sorti omogućava ostvarivanje relativno stabilnih prinosa u uslovima visokog infekcionog potencijala virusa u okruženju. Među tolerantne sorte šljive spadaju Čačanska rana, Čačanska lepotica, Čačanska najbolja, Valjevka, Timočanka, Boranka, Krina, Čačanska pozna (Milenković et al., 2006). Tolerantne sorte su i Stanley, President, Gerstetter, dok je sorta Jojo hipersenzitivna (Teshale, 2014). U slučaju kajsije Teshale (2014) kao moguće izvore otpornosti navodi sorte Stark Early Orange, Goldrich, Stella, Sunglo, Orange Red, Harlayne, Harcot, Veecot i Lito (Martínez-Gómez et al., 2004). Sorte kajsije NS-4, NS-6, Novosadska rodna, Novosadska kasnocvetna su postale dominantne u sortimentu Srbije (pogotovo Vojvodine), jer šarka kod njih ne utiče značajno na smanjenje rodnosti i kvaliteta plodova, za razliku od ranije prisutnih sorti Mađarska najbolja i Kečkemska ruža, koje su zbog toga i nestale iz novih zasada. Na ovim sortama se simptomi šarke javljaju samo na plodu (i koštici), na listovima nema simptoma (Magazin, 2016. *pers. com.*). U slučaju breskve izvori otpornosti su hibridi *P. persica* x *P. davidiana* iz Francuske (Decroocq et al., 2005) i hibridi *P. persica* x *P. dulcis* dobijeni u Kaliforniji (Martínez-Gómez et al., 2004).

Vegetativna otpornost se zasniva na uticaju otpornih podloga na povećanje opšte otpornosti nakalemljenih delova biljaka prema virusnim zarazama (Šutić, 1994). Ovaj autor je korišćenjem otpornih podloga magriva i crnog trna dobio pozitivne rezultate u vidu isčezavanja simptoma šarke šljive kod osetljivih plemki. Vegetativna otpornost je zapažena i kod nekih zeljastih biljaka, kao što je kalemljena tikva. Vulić et al. (2011) opisuju poseban vid otpornosti prema virusu šarke šljive, koju nazivaju sektorijalna otpornost a koja se ispoljava izostankom simptoma na delovima krune i skeletnih grana stabla šljive. Genotipovi šljive otporne na šarku šljive dobijene su i genetičkim inženjeringom (Levy et al., 2000; Vulić et al., 2011). Transgeni klon C-5 pokazao je potpunu poljsku otpornost na ovaj virus tokom osam, odnosno 10 godina istraživanja (Malinowski et al., 2006.; Kamenova et al., 2010). Gajenje transgenih biljaka je u Srbiji zabranjeno zakonom. Opsežne mere protiv šarke šljive često podrazumevaju projekte koje se preduzimaju na nivou država. Tako je Kanada u periodu od 2000-2008 izdvojila 143,6 miliona dolara za program eradikacije ovog oboljenja. U Italiji je učinjen napor da se u regiji Puglia (Pulja) formira teritorija u kojoj je virus eradikovao (Boscia, *pers. com.*), dok je u Srbiji takav projekat sproveden na području opštine Lazarevac. Evropska Unija je u periodu 2008-2012 finansirala *Sharka Containment (SHARCO)* projekat, takođe sa ciljem povećanja međunacionalne saradnje u suzbijanju oboljenja.

### *Virus žutog mozaika cukinija (Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviriidae*

Rod *Potyvirus*

#### *Rasprostranjenost*

Postoje nalazi o njegovom prisustvu sa svih kontinenata (Lisa i Lecoq, 1984; Desbiez i Lecoq, 1997; EPPO 2015). U Srbiji je opisan od strane Dukić et al. (2001) na tikvi, a od strane Vučurović et al. (2012) na lubenici.



#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima končaste čestice dužine oko 750 nm. Genom virusa je ss(+)RНК. Proteinski omotač čini jedan tip polipeptida (Lisa i Lecoq, 1984).

#### *Krug domaćina*

Glavni prirodni domaćini virusa su biljke iz porodice *Cucurbitaceae*, odnosno krastavac, različite vrste tikava, dinja i lubenica (Lisa i Lecoq, 1984). Među eksperimentalne domaćine spadaju biljke iz drugih porodica.

#### *Patogeneza*

Virus se veoma efikasno prenosi lisnim vašima na neperzistentan način (Lisa i Lecoq, 1984; Vučurović et al., 2009; 2012a). Poznati vektori su vrste *Aphis citricola*, *A. gossypii*, *Myzus persicae* i *Macrosiphum euphorbiae*. Na veće udaljenosti virus se može prošiti zaraženim semenom (Tóbiás et al., 2008). Virus se uspešno prenosi i mehaničkim putem (Vučurović et al., 2012a; Coutts et al., 2013).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Prema Vučurović et al. (2012a) ZYMV spada među destruktivne viruse čiji značaj se u novije vreme sve više povećava (spada u tzv. „emerging“ viruse). Ovi autori su pregledom biljaka lubenice u Srbiji utvrdili značajni nivo infekcije virusom i pojavu raznovrsnih simptoma, kao što su blag do izražen mozaik, hloroza, šarenilo i deformacija listova. Utvrđene su i latentne zaraze, odnosno izostanak simptoma na zaraženim biljkama. Lisa i Lecoq (1984) među simptome ubrajaju i zaostajanje biljaka u porastu, zakržljavanje, kao i deformacije plodova i semena vrežastih biljaka. Prema Gal-On (1997) virus može prouzrokovati totalne gubitke na usevu vrežastih biljaka.

#### *Mere suzbijanja*

Setva zdravog semena je osnovna mera zaštite protiv ove viroze. Prema Desbiez i Lecoq, (1997) primena agrotehničkih mera i suzbijanje lisnih vaši ima određen efekat u sprečavanju prenošenja virusa, dok unošenje gena otpornosti u komercijalne sorte vrežastih biljaka uliva nadu u stvaranje otpornih genotipova. Smatra se da muskatna tikva *Cucurbita moschata* može predstavljati izvor otpornosti i prema ovom virusu (Kim, 2016). Preporučuje se i primena mineralnih ulja, kao i malča koji odbija lisne vaši i uništavanje zaraženih biljaka. Može biti korisna i setva redova biljaka druge vrste koje nisu atraktivne za vektore virusa ili nisu domaćini virusa na ivicama parcela, radi smanjenja naleta lisnih vaši. Usled effikasnog mehaničkog prenošenja dezinfekcija ruku i alata tokom rada je važna preventivna mera (Coutts et al., 2013). Simmons et al. (2015) navode i postojanje transgene otpornosti prema ovom virusu.

#### *Virus crtičastog mozaika pšenice (Wheat streak mosaic virus, WSMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Potyviriidae*

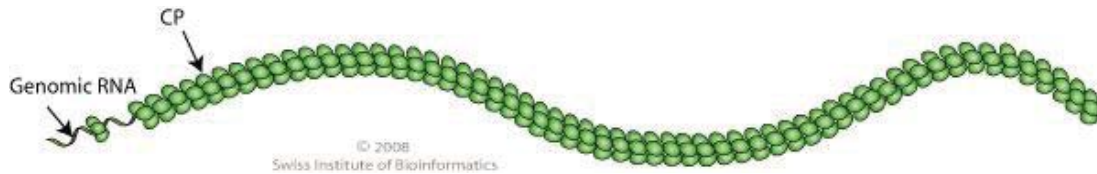
Rod *Tritimovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Postoje podaci o pojavi oboljenja u Evropi, Severnoj i Južnoj Americi, Aziji i Australiji, odnosno u svim regionima gajenja strnih žita u svetu (French i Stenger, 2002; Dwyer et al., 2007; Navia et al., 2012; Byamukama et al., 2016). Virus je prisutan i u Srbiji (Šutić, 1995).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus je končastog oblika dužine od 690-700 nm i širine 12-15 nm (Hulo et al., 2011; Slika XIII.56.). Genom je ss(+)RNK koja na 3' kraju ima poliadenilni rep, a na 5' kraju za genom vezani protein (VPg).



Slika XIII.56. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Tritimovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Zaražava samo monokotiledone biljke (French i Stenger, 2002). Među gajenim domaćinima su pšenica, ovas i raž, a opisan je i na kukuruzu, sircu i prosu. Takođe zaražava divlje vrste iz porodice trava, kao što su predstavnici rodova *Aeiglops*, *Agropyron*, *Bromus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Panicum*, *Poa*, *Setaria*, itd.

### *Patogeneza*

Vektor virusa je grinja *A. toshicella* (Navia et al., 2012), koja je svoje ime dobila po našem poznatom virusologu sa Beogradskog Univerziteta, profesoru Mališi Tošiću, koji ga je prvi opisao kao vektora virusa u Srbiji (Tošić, 1971). Ozimi usevi se najčešće zaražavaju još u jesenjem periodu. Napadu su posebno izloženi usevi u kojima nije efikasno izvršeno suzbijanje korova ili ukoliko postoje samonikle biljke, te grinje uspešno prenose virus na novoiznikle useve strnih žita (McMullen i Waldstein, 2010). Rana setva ozimih useva povećava verovatnoću ostvarenja infekcije, pošto je period do prvih jesenjih zahlađenja duži. Širenje tokom proleća zavisi od uspešnosti prezimljavanja vektora, i prisustva i blizine izvora zaraze- samoniklih biljaka ili korova. Virus se može preneti i semenom pšenice (Jones et al., 2005) ili kukuruza (French i Stenger, 2002) sa procentom zaraze oko 0,5-1,5 što može doprineti širenju virusa na veće udaljenosti.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Pojava prvih simptomi se podudara sa delovima parcela koje vektori prvo naseljavaju- na ivicama parcela ili oko mesta koja su intenzivnije zakorovljena (McMullen i Waldstein, 2010). Vremenom vazдушna strujanja prenose grinje i na ostale delove parcela, te se simptomi pojavljuju na celoj parceli. Simptomi se mogu pojaviti već tokom jeseni, ili u proleće nakon povećanja temperature. Ispoljavaju se u vidu kržljivosti biljaka, mozaika na listovima u vidu hlorotičnih pega i crtica i hloroze biljaka. Zaostajanje porasta je izraženije u slučaju ranih infekcija. Biljke formiraju šturu klasove, te gubici mogu biti značajni. Prema podacima iz SAD (McMullen i Waldstein, 2010) jesenje zaraze mogu prouzrokovati smanjenje prinosa i do 62%, a prolećne oko 15%.

### *Mere suzbijanja*

Uništavanje korova i samoniklih biljaka kao rezervoara virusa i izvora hrane za vektore predstavlja važnu preventivnu meru (CABI, 2015). Kasna jesenja setva ozimih, odnosno rana

prolećna setva jarih useva doprinosi smanjenju šteta. Hemijsko suzbijanje grinja u našim uslovima najčešće nije opravdano. Prema French i Stenger-u (2002) do sada nisu pronađeni pouzdani izvori otpornosti prema virusu. Kod sorti Mace and RonL koje su uvedene u proizvodnju kao otporne prema virusu u SAD se pokazalo da je otpornost uslovljena temperaturom, te da iznad 25-28 °C postaju osetljive (Seifers et al., 2006). Seifers et al. (2013) i dalje rade na stvaranju otpornih sorti pšenice tradicionalnim metodama oplemenjivanja. Gajenje transgenih biljaka je u SAD samo delimično ublažilo štete (French i Stenger, 2002).

### *Virus šarenila mrkve (Carrot mottle virus, CMoV)*

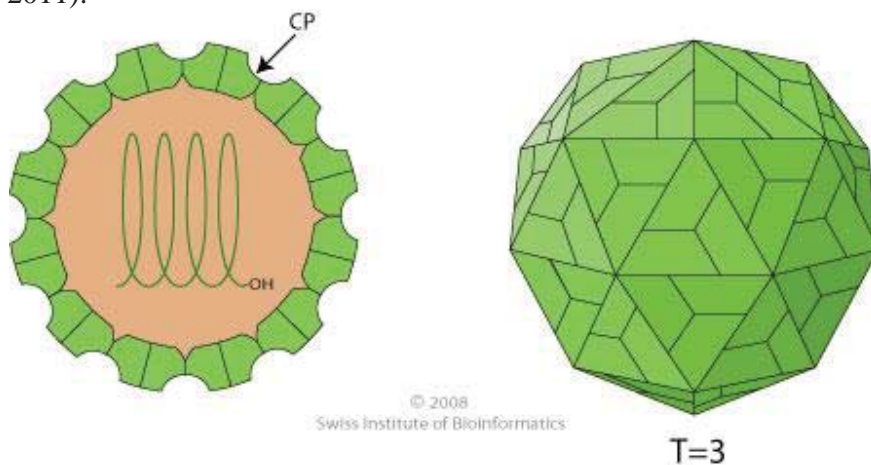
Nije svrstan u red  
Fam. *Tombusviridae*  
Rod *Umbravirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je utvrđen na svim kontinentima (Murant, 1974a; CABI, 2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika 25-30 nm (Slika XIII.57.). Triangulacioni broj omotača je T=3, te je proteinski omotač sastavljen od 180 proteinskih podjedinica (Hulo et al., 2011). Genom virusa je ss(+)RNK i ima četiri otvorena okvira čitanja (Gibbs et al., 1996; Hulo et al., 2011).



Slika XIII.57. Šematski prikaz građe čestice virusa iz roda *Umbravirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Domaćini virusa su biljke iz porodice *Apiaceae*, pre svega mrkva i peršun. Eksperimentalno je prenesen i na druge dikotiledone biljke (Murant, 1974a).

#### *Patogeneza*

U prirodi se virus šarenila mrkve uvek javlja zajedno sa virusom crvenila lišća mrkve (*Carrot red leaf virus*, CtRLV). Virusi se prenose na perzistentan način lisnim vašima iz roda

*Cavariella* (Gungoosingh-Bunwaree et al., 2009), među kojima se posebno ističe mrkvina lisna vaš *Cavariella aegopodii* (Elnagar i Murant, 1978).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Dva virusa zajedno prouzrokuju oboljenje koje se naziva šarena kržljivost mrkve (Carrot motley dwarf), pri čemu se promene ispoljavaju u vidu žućenja, crvenila, šarenila listova i zakržljavanja biljaka. Biljke koje su zaražene samo virusom šarenila mrkve su bez simptoma (Murant, 1974a). Oboljenje može prouzrokovati veoma značajne gubitke u proizvodnji mrkve (Elnagar i Murant, 1978).

#### *Mere suzbijanja*

Među merama zaštite posebno treba istaći praćenje populacije i suzbijanje vektora virusa. Watson i Falk (1994) su utvrdili da je mrkva od prethodne godine važan izvor zaraze, te se preporučuje izbegavanje preklapanja vegetacije prošlogodišnjih useva i novoposejanih parcela. Isti autori su utvrdili postojanje razlika u osetljivosti sorti mrkve. Meunier i Verhoyen (1987) preporučuju i uništavanje korova iz porodice *Apiaceae*, kao izvora zaraze i prostornu izolaciju između useva mrke i peršuna.

### *Virus prugastog mozaika ječma (Barley stripe mosaic virus, BSMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Virgaviridae*

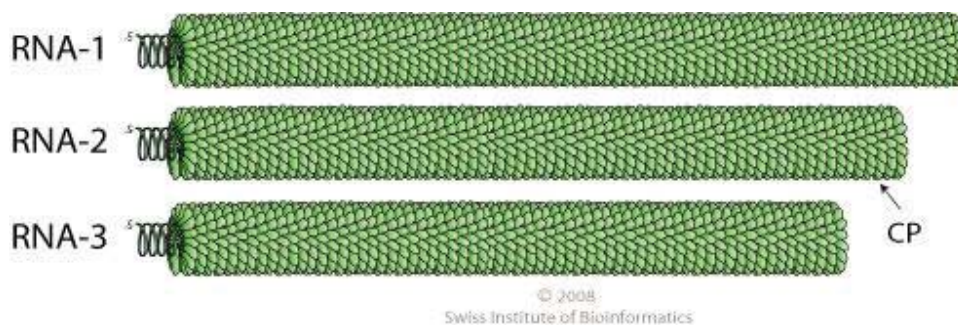
Rod *Hordeivirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je rasprostranjen širom sveta (EPPO, 2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus je trodelan, sa štapičastom građom čestica (Kendall et al., 2013; Slika XIII.58.). Prema Hulo et al. (2011) dužina čestica je 150-160 nm (B čestice), 126 nm (M čestice) i 109 nm (T čestice). Virus ima segmentiran genom od tri ss(+)RNK, koji na 3' kraju imaju strukturu koja podseća na tRNK, a na 5' kraju kapu od metilgvanozina (Hulo et al., 2011). Nukleinske kiseline su smeštene u zasebnim česticama.



Slika XIII.58. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Hordeivirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa su pšenica i ječam, kao i pojedine travne korovske vrste (Atabekov i Novikov, 1989).

### *Patogeneza*

Prenosi se u vrlo visokom procentu od 90-100% semenom zaraženih biljaka ječma, pri čemu uspešnost prenošenja semenom zavisi i od soja virusa (Slack et al., 1975). Virus se širi i polenom zaraženih biljaka (Atabekov i Novikov, 1989). Nije poznat vektor virusa, ali se virus prenosi i mehaničkim putem (Platz et al., 2009; Lee et al., 2012).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Simptomi variraju od pojave kratkih crtica, pa do dugačkih linija na listovima. U zavisnosti od domaćina i soja virusa boja linija se menja od svetlozelene preko žute, a u nekim slučajevima nastupa i nekroza (Platz et al., 2009). Biljke razvijene iz zaraženog semena su patuljave. Virus prouzrokuje smanjenje broja klasova po biljci, broja zrna po klasu, kao i smanjenje prosečne mase zrna.

Virus prugastog mozaika ječma se u savremenoj biotehnologiji često koristi kao vektor za proces utišavanje gena (virus-induced gene silencing - VIGS) u oplemenjivanju pšenice i ječma (Lee et al., 2012). Gen biljke se ubacuje u klonirani gen virusa i sa ovako rekombinovanom virusom se vrši veštačka inokulacija. Rekombinovani virus se umnožava u zaraženom tkivu i prouzrokuje „utišavanje gena“, što dovodi do željenih fenotipskih promena biljaka. Na ovaj način su utvđeni geni otpornosti ječma prema pepelnici ječma (Jackson et al., 2009).

### *Mere suzbijanja*

Najvažnija mera zaštite je setva zdravog semena. Pošto se virus uspešno prenosi mehanički (oruđa, točkovi mehanizacije), preporučuje se smanjenje broja kretanja mašina između parcela. Površinska sterilizacija mehanizacije smanjuje verovatnoću prenošenja virusa. Rano uništavanje biljaka ječma sa simptomima prugastog mozaika ječma (*Barley stripe mosaic virus*, BSMV) je smanjilo zarazu u odnosu na parcelu gde nije izvršena ova mera sa 85% na 12% (Inouye, 1962). U slučaju većeg intenziteta zaraze uništavaju se biljke na celom polju (Platz et al., 2009). Sorte ječma i pšenice se razlikuju u osetljivosti prema virusu, te se preporučuje gajenje otpornijih sorti (Slack et al., 1975; Platz et al., 2009).

### *Virus mozaika duvana (Tobacco mosaic virus, TMV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Virgaviridae*  
Rod *Tobamovirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus je raširen širom sveta (Zaitlin, 2000). Raširen je i značajan i u Srbiji (Jasnić et al., 1996; Krstić et al., 2006; Dukić et al., 2006a; Petrović et al., 2010).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Istorijat biljne virusologije se umnogome poklapa sa ispitivanjima karakteristika virusa mozaika duvana, pošto prvi koraci virusologije učinjeni od strane Adolfa Mayer-a 1886.

godine u proučavanju ovog virusa predstavljaju ujedno i početak ove naučne discipline. Iskoraci u proučavanjima koji dalje slede u virusologiji u pogledu ispitivanja fizičkih i hemijskih karakteristika, građe, arhitekture, serologije, nomenklature, pa i molekularnih ispitivanja takođe se često vezuju za virus mozaika duvana (poglavlje Istorijski razvoj istraživanja biljnih virusa).

Virus ima štapičaste čestice dužine 300 nm, širine 18 nm (Hulo et al., 2011; Slika V.1 i 2). Genom je ss(+)RNK, koja na 3'kraju ima strukturu u vidu tRNK, a na 5' kraju kapu od metilgvanozina i ima četiri otvorena okvira čitanja. Sastoji se od 6395 nukleotida. Čestice se sastoje od 95% proteina i 5% nukleinske kiseline (Knapp i Lewandowski, 2001). Proteinski omotač se sastoji od 2130 proteinskih podjedinica. Detaljno o fizičkim i hemijskim karakteristikama TMV je bilo reči u poglavljima „Hemijske osobine virusa“ i „Građa virusa“. Šematski prikazi građe čestica i organizacije genoma TMV su takođe već prikazani u ranijim poglavljima.

#### *Krug domaćina*

Prema Knapp-u i Lewandowskom (2001) virus ima relativno uzan krug prirodnih domaćina, a širok krug eksperimentalnih. Prirodni domaćini spadaju u porodicu *Solanaceae*, među kojima su značajni duvan, paradajz, paprika i plavi patlidžan. U eksperimentalni krug domaćina spada najmanje 199 biljaka iz 30 porodica (Zaitlin, 2000).

#### *Patogeneza*

Nije poznat vektor virusa, mada insekti sa usnim aparatom za grickanje mogu u pojedinačnim slučajevima preneti virus mehaničkim putem. Glavni način širenja virusa tokom vegetacije je mehaničko prenošenje sa zaraženih na zdrave biljke.

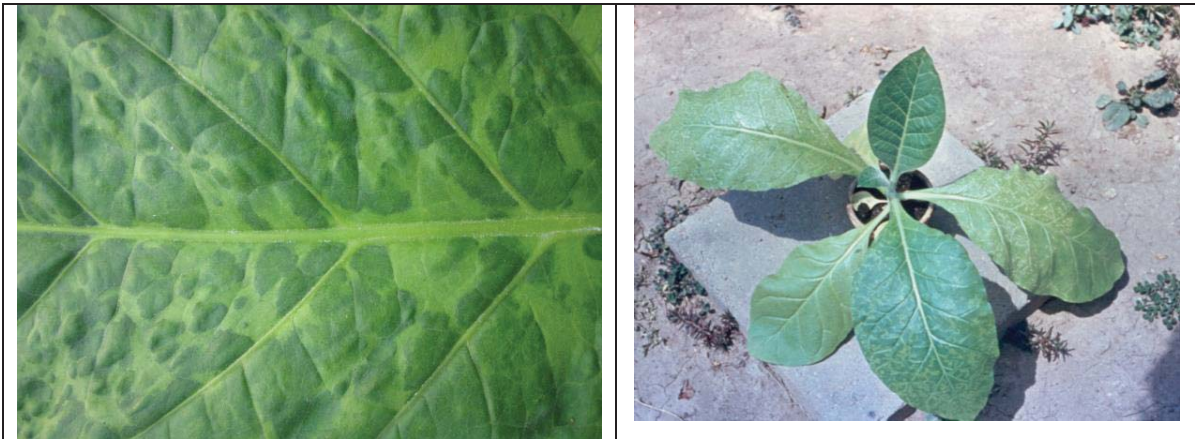
TMV spada među one viruse koji mogu zadržati infektivnost van ćelije dovoljno dugo da bi predstavljali značajan izvor infekcija. Usled duge postojanosti „*in vitro*“, izvor infekcije TMV mogu biti alati, zaraženi biljni ostaci, konstrukcije staklenika i plastenika ili duvan iz cigareta (Scholthof, 2008). Pušači na svojim prstima mogu preneti virus mozaika duvana ukoliko nakon pušenja dodiruju osetljive biljke domaćine prema virusu, kao što su duvan, paradajz, paprika i druge (Jasnić, 1978). Virus se može prenositi i semenom pri čemu se čestice virusa zadržavaju na površini semena paprike i paradajza. Iako su najčešće spoljne zaraze semena paprike, utvrđene su i unutrašnje zaraze semena paprike – endosperma i klice (Jasnić, 1978). Način širenja virusa je i putem vode za navodnjavanje u kojem postoje čestice TMV (Horváth et al., 1986; Juretić et al., 1986; Koenig et al. 1986). Zemljišta sa sadržajem gline mogu adsorbovati čestice virusa koje posredstvom vode mogu izvršiti infekciju korena biljaka (Juretić i Horváth, 1991).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

TMV ima veći broj sojeva, te ispoljavanje simptoma u velikoj meri zavisi od soja virusa, osetljivosti domaćina i uslova spoljne sredine. Dukić et al. (2006a) su na biljkama duvana zabeležili simptome blagog do jakog mozaika (Slika XIII. 59 i 60), šarenila, prosvetljenost nerava i klobučavost lišća i kržljivost biljaka (Slika XIII.61) . Na biljkama paradajza pored navedenih simptoma javlja se redukcija broja, veličine i kvaliteta plodova i neravnomerno sazrevanje. U nekim slučajevima na plodovima se mogu javiti žuti prstenovi i nekroza ispod pokožice tkiva (Slika XIII. 61, 62 i 63). Virus izaziva i redukovanje lisne površine. U slučaju paprike karakteristični simptomi su zeleno-žuto šarenilo, hlorotična pegavost, zakržljavanje i

deformacije listova (Slika XIII.64). Na plodovima može doći i do deformacija i nekrotičnih promena.

Prema podacima Mickovskog (1965) TMV prouzrokuje gubitke kod duvana od 30-35%, pri čemu gubici mogu biti i značajniji u slučaju ranih infekcija. Krstić et al. (2006) navode da se usled zaraze pogoršava kvalitet duvana, jer se u zaraženom lišću remeti odnos šećera, proteina, azota i nikotina. Virus značajno smanjuje prinos paprike i paradajza (Šutić, 1995).



Slika XIII. 59. i 60. Simptomi mozaika na listovima duvana (Foto Bagi i Jasnić)



Slika XIII.61. Deformacija i zakrčljalost zaražene biljke duvana (Foto: Bagi)



Slika XIII.61 i 62. Mozaik i deformacija listova paradajza (Foto: Bagi i Jasnić)



Slika XIII. 63 Nekroza stabla i listova paradajza (Foto: Jasnić)

Slika XIII.64. Hloroza paprike usled zaraze virusom mozaika duvana (Foto: Bagi)

### *Mere suzbijanja*

Usled veoma efikasnog mehaničkog prenošenja i duge postojanosti virusa dezinfekcijske mere opreme, alata, ruku, konstrukcije plastenika, semena itd. imaju veoma važnu ulogu u sprečavanju širenja virusa. Različiti aspekti dezinfekcijskih mera su detaljno obrađeni u poglavlju „Osnove mere suzbijanja viroza biljaka“. Ostaci zaraženih biljaka takođe mogu predstavljati izvor zaraze virusom, te je njihovo uništavanje ili uklanjanje važna preventivna mera. Iz istog razloga se preporučuje i plodored, kao i uništavanje korova. Širenje TMV u usevu paradajza se može umanjiti i tretiranjem biljaka obranim mlekom (Balaž et al., 2010).



Tokom proizvodnje rasada, a takođe i u polju potrebno je uništavati zaražene biljke. Saditi isključivo rasad bez ispoljenih simptoma. Treba izbegavati naizmečno rukovanje sa biljkama domaćinima TMV- duvanom, paradajzom, paprikom, itd., jer se time sprečava prenošenje virusa.

Unakrsna zaštita je mera koja se u ogledima pokazala efikasnom u smanjenju šteta od TMV, ali u praktičnoj proizvodnji nema širu primenu (Krstić et al., 2006). Druge metode biološke zaštite, kao što je sistemično stečena otpornost (SAR), korišćenje satelitnog virusa mozaika duvana (Sat-TMV) su takođe pokazale ohrabrujuće rezultate (Krstić et al., 2006).

Prema Krstić et al. (2006) danas već postoje sorte duvana koje poseduju otpornost prema TMV, a da su pri tome i povoljnih agronomskih karakteristika. Otpornost se zasniva na hipersenzibilnoj reakciji koja je uslovljena „N“ genom. Pored duvana, oplemenjivanjem su stvorene i sorte paradajza i paprike koje su otporne prema ovom virusu.

U državama koje su odobrile gajenje genetski modifikovanih organizama u proizvodnji se nalaze i transgene biljke koje su otporne prema TMV (Conti et al., 2012).

### *Virus zelenog šarenila krastavca (Cucumber green mottle mosaic virus, CGMMV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Virgaviridae*  
Rod *Tobamovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je utvrđen u Evropi, Aziji, Africi, Severnoj Americi i Australiji (Hollings et al., 1975; EPPO, 2015). Nije opisan u Srbiji (Balaž et al., 2010), ali je prisutan u Mađarskoj, Rumuniji i Bugarskoj, te se može očekivati pojava oboljenja i u našoj državi.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima štapičaste čestice dužine 300 nm i širine 18 nm. Genom virusa je ss(+)RNK. 94% virusne čestice čini proteinski omotač (Hollings et al., 1975).

#### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa su krastavac, lubenica, dinja, kao i pojedine vrste tikava. Opisan je na povrću bamiji (Sharma et al., 2014).

#### *Patogeneza*

Virus se u usevu širi mehanički, nisu utvrđeni vektori virusa. Kao i TMV i virus zelenog šarenila krastavca ima visoku postojanost, te izvor zaraze mogu biti i zaraženi biljni ostaci ili virus koji se zadržao na konstrukciji zaštićenog prostora ili opremi. Postoje podaci o zarazi preko korena biljaka koji je došao u dodir sa zaraženim biljnim ostacima u zemljištu, kao i o prenošenju virusa semenom (Hollings et al., 1975; Lee et al., 2012a). Prema Liu et al. (2014) virus se prenosi i polenom krastavca. Voda za navodnjavanje može biti takođe izvor zaraze (Van Dorst, 1961; Nontajak et al., 2014).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus prouzrokuje simptome šarenila, pojavu plikova na listovima i druge deformacije listova. Biljke su zakržljale, u nekim slučajevima se može pojaviti i nekroza. Na plodovima može doći do promene boje i deformacija. Prema Fletcher et al. (1969) u slučaju ranih zaraza gubici u prinosu iznose oko 15%.

### *Mere suzbijanja*

Usled visoke postojanosti virusa i efikasnog prenošenja mehaničkim dodiranjem neophodno je primenjivati stroge higijenske i dezinfekcione mere. Važna je setva zdravog semena i zalivanje vodom koja ne sadrži čestice virusa. Neophodno je uništavanje zaraženih biljaka, kako rasada, tako i odraslih. Otpornost dinje prema virusu se postiže zajedničkim delovanjem više recesivnih gena (Rajamony et al., 1990). Ali et al. (2016) opisuju uspeh u primeni unakrsne zaštite sa sojem virusa čija je patogenost umanjena. Genetskim inženjeringom stvorene su i transgene biljke otporne prema virusu (Park et al., 2005).

### *Virus šuštavosti duvana (Tobacco rattle virus, TRV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Virgaviridae*

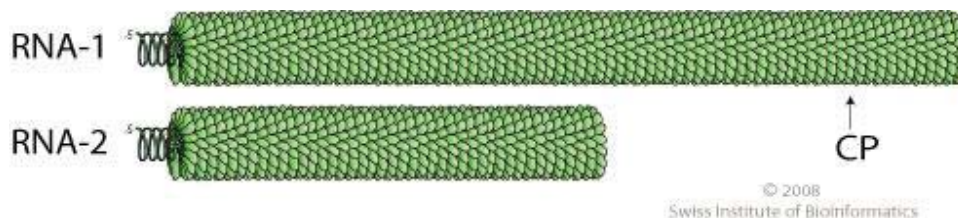
Rod *Tobravirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus je opisan na svim kontinentima (EPPO, 2015).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima dva tipa štapičastih čestica dimenzija 180-215 i 46-115 nm dužine, odnosno 22 nm širine (Hulo et al., 2011; Slika XIII.65.). Genom je segmentiran, sastoji se od dve ss(+)RNK.



Slika XIII.65. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Tobravirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

### *Krug domaćina*

Prirodni domaćin virusa je duvan, biljke iz roda *Solanum* (među njima krompir, paradajz, paprika i dr.), ukrasne biljke (božur, gladiola, zumbul, lala, itd.), šećerna repa, spanać, pasulj, biljke iz sponatne vegetacije (*Phryma leptostachya*, mrtva kopriva, poljska ljubičica, itd), korovi (mišljakinja, tarčuzak) i druge biljke. Ima veoma širok krug eksperimentalnih domaćina (Robinson, 2003; Tomitaka, 2011).

### *Patogeneza*

Vektori virusa su nematode iz roda *Trichodorus* i *Paratrichodorus*. Postoji uska povezanost u mehanizmu prenošenja između vrste nematode i soja virusa (Robinson, 2003). Nema podataka o umnožavanju virusa u vektoru niti o prenošenju na potomstvo. Virusne čestice se u vektoru nalaze na zidu ezofagusa i smatra se da biljke postaju zaražene usled ubacivanja izlučevina pljuvačnih žlezda koje sadrže i čestice virusa u tkivo biljke. Prenosi se i semenom pojedinih korovskih biljaka (Jerković-Muljkić et al., 2010).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na duvanu prouzrokuje takozvanu šuštavost, odnosno sistemsku nekrotičnu pegavost i prugavost listova i nekrozu stabla, koja dovodi do zaostajanja u porastu i izumiranja stabla, pri čemu sasušeni listovi ostaju na stablu i „šušte“ usled vazdušnih strujanja. Može doći i do ispoljavanja simptoma rupičavosti lišća usled ispadanja nekrotisanih zona (Šutić, 1995). Na krompiru virus prouzrokuje plutaste prstenaste pege u tkivu krtole. Biljke razvijene iz zaraženih krtola su zakržljale i formiraju mozaične listove i listove sa žutim pegama (Robinson, 2003).

Prouzrokuje pukotine na listu gladiole, nekrotičnu pegavost zumbula, žutu pegavost šećerne repe i žuto šarenilo na spanaću.

TRV se u savremenoj biotehnologiji često koristi za tehnologiju „utišavanja gena“ (Ratcliff et al., 2001; Senthil-Kumar i Mysore, 2014), kako je to već objašnjeno kod virusa prugastog mozaika ječma.

### *Mere suzbijanja*

U mere zaštite protiv oboljenja spadaju sadnja zdravih krtola krompira, uništavanje korova, uključivanje biljaka u plodored koji nisu domaćini nematoda i suzbijanje nematoda.

## EKONOMSKI ZNAČAJNIJI BILJNI VIRUSI ČIJI JE GENOM SAČINJEN OD JEDNOSPIRALNE NEGATIVNE (-) RNK

### *Virus nekrotičnog žutila salate (*Lettuce necrotic yellows virus, LNYV*)*

red *Mononegavirales*

Fam. *Rhabdoviridae*

Rod *Cytorhabdovirus*

### *Rasprostranjenost*

Prema Francki et al. (1989) virus je prisutan u Australiji i Novom Zelandu, a prema CABI opisana je i u Aziji i Srednjoj Americi (2016). Utvrđen je i u Italiji (Ragozzino et al., 1985).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima čestice baciloidnog oblika dužine 227 nm i širine 68 nm širine. U nekim preparatim utvrđene su i čestice oblika puščanog zrna. Genom virusa je ss(-)RNK. Čestice imaju i lipidni omotač. Genom virusa ima šest gena (Dietzgen et al., 2007).

### *Krug domaćina*

Domaćin virusa je salata, korov gorčika (*Sonchus oleraceus*), a opisan je i na lupini, nautu i belom luku (Sward, 1990; CABI, 2016).

### *Patogeneza*

Prenosi se lisnim vašima *Hyperomyzus lactucae* i *H. carduellinu* na perzistentan način. Virus se prenosi i jajnim leglima na sledeću generaciju (Dietzgen et al., 2007). Izvor zaraze često predstavlja korov gorčika.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Najstariji listovi zaražene salate postaju hlorotočni, dobijaju bronzanu boju i nekrotiraju. Može se javiti i sistemično žutilo i deformacija biljaka. U slučaju infekcije mladih biljaka zakržljavanje je izraženije. Zaražene biljke ne formiraju glavicu i nemaju ekonomsku vrednost. Ekonomski gubici u proizvodnji salate u Australiji iznosili su 15-20% (Dietzgen et al., 2007).

### *Mere suzbijanja*

Važna mera zaštite su suzbijanje korova-izvora zaraze i uništavanje vektora. U Australiji su radi suzbijanja vaši *H. lactucae* introdukovali parazitnu osu *Aphidius sonchi*, i u proizvodnju uveli transgenu salatu koja je otporna prema virusu (Dietzgen et al., 2007).

## *Virus kovrdžavosti jagode (Strawberry crinkle virus, SCV)*

red *Mononegavirales*

Fam. *Rhabdoviridae*

Rod *Cytorhabdovirus*

### *Rasprostranjenost*

Prema podacima EPPO (2015) virus je prisutan na svim kontinentima, a utvrđen je i u Srbiji. Prema Sylvester et al. (1976) rasprostranjenost je uslovljena prisustvom ili odsustvom vektora virusa, odnosno vrsta lisnih vaši *Chaetosiphon fragaefolii* i *C. jacobi*.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Čestice virusa su baciloidnog oblika, dužine 190-380 nm, širine 69 nm. Genom virusa je ss(-) RNK. Pored proteinskog omotača virus ima i lipoproteinsku ovojniciu (membranu) oko kapsida. Prema Hunter et al. (1990) proteinski profil ovog virusa je sličan kao i kod drugih citorabdovirusa, odnosno postoji glikoprotein (G), protein nukleokapsida (Nk), nestrukturani protein (NS) matriks protein (M), RNK zavisna polimeraza (L protein).

### *Krug domaćina*

Virus ima uzan krug prirodnih domaćina u koje spadaju gajene vrste, kao i biljke iz spontane vegetacije iz roda *Fragaria* (Sylvester et al., 1976).

### *Patogeneza*

Virus se širi putem lisnih vaši *Chaetosiphon fragaefolii* i *C. jacobi* na perzistentan način (Posthuma et al. 2002). Na veće udaljenosti virus se širi zaraženim sadnim materijalom.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus se u prirodi često nalazi u mešovitim infekcijama sa drugim virusima patogenima jagode. Simptomi variraju od hlorotičnih pega, deformacija liske, formiranja listova različitih dimenzija na istoj biljci do kovrdžanja listova. Neki genotipovi su tolerantni, pa ne ispoljavaju simptome, iako se virus nalazi u tkivu. Prema američkim podacima virusne zaraze jagode mogu smanjiti prinos i za 64% (CABI, 2016).

### *Mere suzbijanja*

Prema zaključcima sastanka komiteta za zdravlje bilja EFSA /European Food Safety Authority) istovremena primena zabrane uvoza sadnog materijala, obaveza sertifikacije u proizvodnji reproduktivnog sadnog materijala, agrotehničkih metoda i gajenja otpornih genotipova predstavlja efektivnu meru zaštite protiv oboljenja (EFSA, 2014). Selekcija na otpornost se vrši kako u pogledu otpornosti na virus, tako i u pravcu otpornosti prema vektoru. Termine insekticidnog tretmana treba uskladiti tako da se izbegnu ostaci pesticida u plodu jagode. Bezvirusne biljke se mogu dobiti kombinacijom termoterapije i kulture tkiva. Prema (Frazier et al., 1988) tokom termoterapije biljke se tokom nekoliko meseci drže na temperaturi od 38 °C ili pod dnevnom fluktuacijom temperatura između 35 i 41°C.

### *Virus žute kržljivosti krompira (Potato yellow dwarf virus, PYDV)*

red *Mononegavirales*

Fam. *Rhabdoviridae*

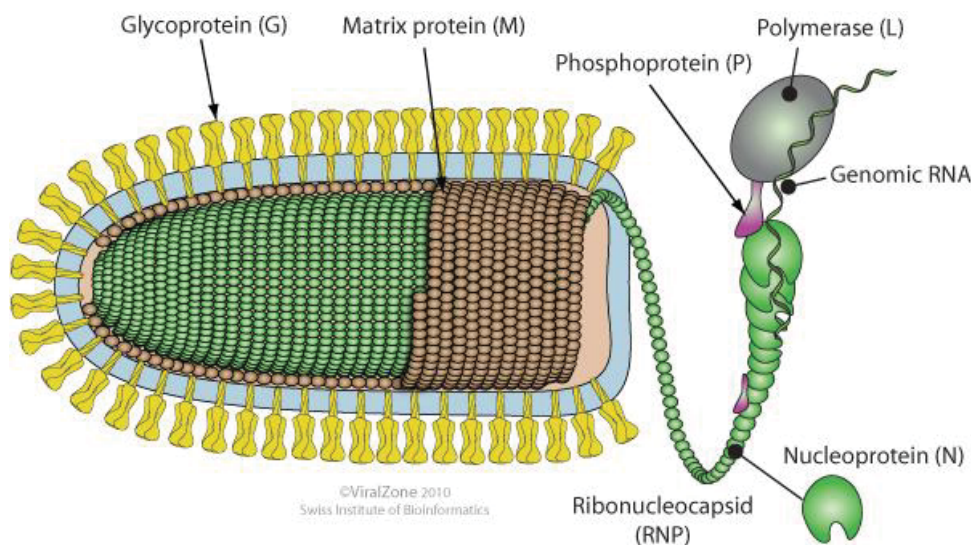
Rod *Nucleorhabdovirus*

### *Rasprostranjenost*

Prema podacima EPPO (2015) virus je prisutan u Severnoj Americi (SAD, Kanada). Nije prisutan u EU.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus je baciloidnog oblika, dimenzija 380x75nm (Slika XIII.66.). Genom virusa je ss(-) RNK. Virus se sastoji od kapsida oko kojeg se nalazi lipoproteinska ovojnica. Čestica sadrži više od 20% lipida (Black, 1970a). Bandyopadhyay et al. (2010) navode da genom ima sedam otvorenih okvira čitanja i kodira nukleokapsidni protein, fosfoprotein, protein koji obezbeđuje kretanje među ćelijama, matriks protein, glikoprotein, RNK zavisnu polimerazu, kao i protein čija funkcija još nije poznata. Prema istim autorima glikoproteinski izraštaji na površini čestica imaju značajnu ulogu u prenošenju virusa putem cikada.



Slika XIII.66. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Nucleorhabdovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini pripadaju porodici *Solanaceae*, pri čemu su štete zabeležene pre svega na krompiru. U domaćine spadaju i korovi, kao i ukrasne biljke. Putem veštačkih inokulacija prenet je i na predstavnike drugih biljnih porodica (EPPO, 2015a).

#### *Patogeneza*

Prema EPPO (2015a) postoji uska povezanost između serotipa virusa i vektora. Prvi serotip prenosi cikada *Aceratagallia sanguinolenta* i druge vrste roda *Aceratagallia* (to je "*sanguinolenta yellow dwarf virus*"), a drugi se prenosi vrstom *Agallia constricta* ("*constricta yellow dwarf virus*"). Oba serotipa se prenose sa *Agallia quadripunctata*. Virus ima dug inkubacioni period u vektoru tokom kojeg se umnožava u vektoru. Nimfe i odrasli insekti oba pola prenose virus.

Virus se tokom zime može održati u vektoru koji prezimi. Takođe virus se održava i u biljkama domaćinima, kao što je velika bela rada (*Leucanthemum vulgare*), kao i u krtolama krompira.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Zaražene biljke su zakržljale, sa simptomima hloroze i nekroze. Na stablu se stvaraju nekrotične pege. Formira se mali broj sitnih krtola, koje pucaju i imaju nekrotične pege (EPPO, 2015a). U poslednjih 40 godina (Falk et al., 1981) ne javlja se u značajnom intenzitetu ni u Severnoj Americi, te ne spada u značajne parazite krompira.

#### *Mere suzbijanja*

Sadnja zdravih krtola predstavlja osnovnu meru zaštite. U slučaju pojave oboljenja uništavanje izvora zaraza i vektora predstavljaju glavne mere zaštite.

## *Virus bronzavosti paradajza (Tomato spotted wilt virus, TSWV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Bunyaviridae*  
Rod *Tospovirus*

### *Rasprostranjenost*

Virus je opisan i značajan na svim kontinentima (EPPO, 2015a). Veoma je značajan i raširen fitopatogeni virus i u Srbiji (Jasnić et al., 2000; Krstić et al., 2008; Stanković et al., 2011; 2013; Duduk i Duduk, 2013). Značaj virusa se povećava usled procesa globalnog zagrevanja, pošto se u regionima u kojima se ranije javljao samo u proizvodnji u zatvorenom prostoru sve više javlja i u poljskim uslovima (EPPO, 2015a). Prema Evropskoj organizaciji za zaštitu bilja virus je svrstan u A2 listu (EPPO, 2015), odnosno među parazite koji su prisutni na teritoriji EU i čije je prisustvo neophodno kontinuirano pratiti.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima čestice izometrijskog oblika prečnika 80-120 nm (Kormelink, 2005). Čestice su okružene dvostrukom lipoproteinskom membranom u koju su uronjena dva tipa glikoproteina u vidu površinskih šiljaka (Kormelink, 2005; Krstić et al., 2008; Slika V.36.). Genom se sastoji od tri linearne ssRNK (jedna je ss(-)RNK, a dve su ambivalentne, odnosno ss(+/-) RNK), koje kodiraju ukupno pet proteina: RNA polimeraza-transkriptaza (L – large protein) koju kodira L RNA; NSM protein koji je uključen u kretanje virusa od ćelije do ćelije (movement, transportni protein), koji kodira M RNK; glikoproteini Gc i Gn, koje kodira virusno-komplementarni lanac M RNK; NSS nestrukturani protein nepoznate funkcije koji kodira virusna S RNK; N strukturani protein koji je kodiran virusno-komplementarnim lancem S RNK (Krstić et al., 2008). Isti autori navode da je trodelni genom smešten u virion pomoću brojnih kopija proteinskih subjedinića (N) formirajući kružne (pseudocirkularne) nukleokapside koji su povezani sa 10-20 kopija L (large) proteina (transkriptaza, RNK zavisna RNA polimeraza) koji (-) lanac RNK prepisuje u iRNK. Glikoproteini Gc i Gn imaju značajnu ulogu na relaciji virus vektor i prenošenju virusa. Čestice virusa sadrže oko 65% proteina, 20% lipida, 7% ugljenih hidrata i 5% RNK (Kormelink, 2005).

### *Krug domaćina*

Smatra da je TSWV biljni virus sa najširim krugom domaćina (EPPO, 2015a). Prema Kormelink-u (2005) za preko 800 monokotiledonih i dikotiledonih biljaka iz 82 porodice je dokazano da su domaćini patogena. Među najznačajnije gajene biljke domaćine virusa spadaju paprika, paradajz, duvan i brojne ukrasne biljke. Domaćini su takođe grašak, salata, arahis, krompir, sočivo, krastavac, lubenica, dinja, luk, beli luk i druge biljke (Stanković et al., 2012; EPPO, 2015a). Ima brojne domaćine među ukrasnim biljkama, te se virus javlja na ciklami, begoniji, gladioli, perunici, daliji, gerberi, hrizantemi i drugim biljkama (Kormelink, 2005; Stanković et al., 2011b, 2013a). Rezervoari virusa mogu biti korovi domaćini virusa, među kojima su mišljakinja, štir, maslačak, bokvica, pomoćnica itd. (EPPO, 2015a).

### *Patogeneza*

Vektori virusa su tripsi, a među njima vrste *Thrips tabaci*, *T. setosus*, *Frankliniella occidentalis*, *F. fusca*, *F. intonsa*, *F. schultzei* i *Scirtothrips dorsalis* (EPPO, 2015a), koji prenose virus na perzistentan način. Vektor usvaja virus tokom larvenog stadijuma, i nakon

inkubacionog perioda od 3-10 dana postaje prenosilac virusa do kraja života. Nema podataka o prenošenju virusa na potomstvo vektora. Virus se na veće udaljenosti prenosi putem zaraženog biljnog materijala, a izvor zaraze su i zaraženi korovi, zaostale zaražene gajene biljke iz prošlogodišnje vegetacije, kao i biljke koje se održavaju u zaštićenom prostoru. Naglo širenje tripsa *Frankliniella occidentalis* (zapadnog cvetnog tripsa) krajem prošlog i početkom ovog veka na svetskom nivou je doprinelo eksplozivnom širenju oboljenja i značajnim štetama.

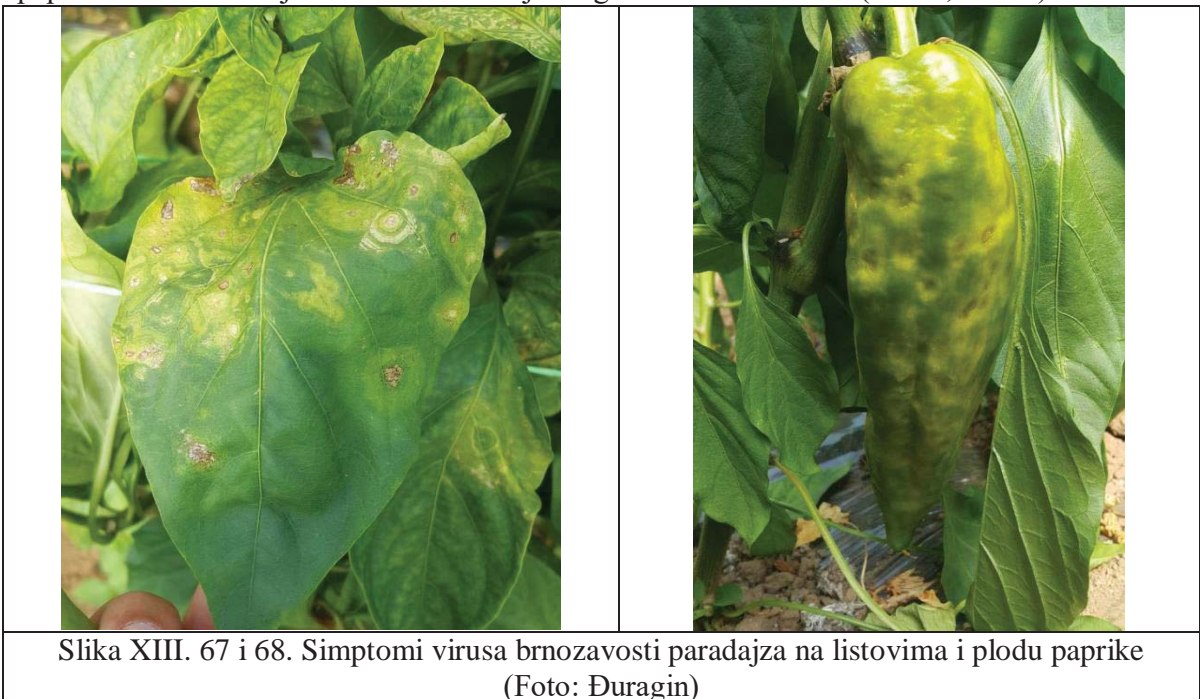
#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus prouzrokuje širok spektar simptoma koji zavise od domaćina, sorte, fenofaze razvoja, uslova sredine i soja virusa (Đekić et al., 2008a). Ime virusa potiče od pojave bronzane boje koja je karakterističan simptom na biljkama paradajza. Ove promene se dešavaju na lisnim drškama, stablu i tački porasta (EPPO, 2015a). Zaražene biljke su zakržljale, na njima plodovi neravnomerno sazrevaju. Sazreli plodovi na svojoj površini imaju žute ili blede crvenkaste zone, kao i koncentrične prstenaste pege (Krstić et al., 2008). U nekim slučajevima nastupa izumiranje usled nekroze vršnog meristema.

Na paprici se često javlja žućenje i patuljanje cele biljke. Nekrotični prstenovi ili linije se mogu pojaviti na plodu i stablu, a mozaik i nekrotične pege i bronzavost na lišću paprike (Slika XIII. 67 i 68). Plodovi su deformisani. Na salati se javlja opšta hloroza, praćena tamnim pegama i nekrozom nerava (Krstić et al., 2008).

Dukić et al. (2006a) na duvanu opisuju simptome u vidu hrastolikog mozaika ili šara nalik na list paprati, nekrotičnih pega i šara na nervima ili između njih, koncentričnih hlorotičnih ili nekrotičnih pega, sivobeličastih nekroza okruženih smeđim nekrotičnim crticama, i pucanje lisnog tkiva usled neravnomernog porasta lista.

Usled intenzivnog širenja vektora viroza prouzrokuje ogromne štete u proizvodnji paradajza, paprike i ukrasnih biljaka širom sveta koje mogu dostići i do 100% (EPPO, 2015a).





### *Mere suzbijanja*

Usled razvoja rezistentnosti, specifične biologije, uslova sredine u proizvodnji u zaštićenom prostoru, obaveze pridržavanje karence i skrivenog načina života tripsa, suzbijanje vektora virusa je izuzetno teška i zahtevna mera, ali je važna u sprečavanju virusnih infekcija. U suzbijanju tripsa važnu ulogu mogu imati predatori koji se unose u zaštićeni prostor, među kojima su značajni grinja *Neoseiulus cucumeris* i stenica *Orius insidiosus* (EPPO, 2015a). Momol et al. (2004) zaključuju da je u prevenciji i suzbijanju oboljenja svakako potreban integralni pristup zaštite bilja, a na osnovu svojih rezultata preporučuju kombinaciju mera koje uključuju korišćenje UV-odbijajućeg malča, insekticida i SAR aktivatora otpornosti. Mere kontrole zdravstvene ispravnosti biljnog materijala su važne od nivoa države pa do nivoa svakog gazdinstva i pojedinačnog plastenika. Unošenje u zaštićeni prostor biljnog materijala neproverenog zdravstvenog statusa predstavlja značajan rizik po proizvodnju. Uništavanje zaraženih biljaka, prostorna izolacija, prekidanje vegetacije, odnosno izbegavanje preklapanja vegetacije, zabrana istovremenog uzgoja više vrsta biljaka domaćina virusa u istom zatvorenom prostoru, uništavanje korova, postavljanje mreža na otvore zatvorenog prostora predstavljaju važne preventivne mere.

Napori da se oplemenjivanjem stvore otporne sorte nisu dale zadovoljavajuće rezultate, iako su definisani pojedini geni otpornosti (Stoeva et al., 1999; Gordillo et al., 2008; Aramburu et al., 2015). U slučaju arahisa i paprike utvrđena je otpornost koja se bazira na opornosti sorte prema tripsu (Amin, 1985; Maris et al., 2003). U pojedinim delovima sveta istraživanja su usmerena ka transgenoj otpornosti.

Ministarstvo poljoprivrede i zaštite životne sredine Republike Srbije je Pravilnikom o utvrđivanju mera zaštite zdravlja bilja za 2015. i 2016. godinu predvidelo poseban nadzor na prisustvo ovog virusa u krompiru.

### *Virus žute pegavosti irisa (Iris yellow spot virus, IYSV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Bunyaviridae*

Rod *Tospovirus*

### *Rasprostranjenost*

Postoje podaci o virusu na svim kontinentima (EPPO, 2015a). Nakon usavršavanja dijagnostičkih metoda i sve intenzivnijih proučavanja ovog virusa, očekuju se novi podaci o rasprostranjenju i iz država u kojima još nije opisan (Cabi, 2015). Kao i drugi predstavnici porodice *Bunyaviridae*, i ovaj virus spada u takozvane „emerging“ viruse čiji značaj se sve više povećava. Virus je utvrđen i u Srbiji (Bulajić et al., 2008; Bulajić et al., 2009).

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice. Genom virusa reprezentuje jedna ss(-)RNK koja ima oznaku L (large), i dve ss(+-) RNK (M-medium i S –small). Nukleinska kiselina L kodira polimerazu, M glikoproteine Gn i Gc, kao i nestrukturani protein NSm, a S protein kapsida N i nestrukturani protein NSs. Sve tri nukleinske kiseline su smeštene u jednoj čestici koja ima lipidni omotač (Pappu et al., 2008; EPPO, 2015).

### *Krug domaćina*

Ima uži krug domaćina u odnosu na TSWV. Domaćini su gajene i divlje vrste lukova (crni i beli luk, praziluk, aljma itd.), ukrasne biljke perunika, alstromerija, liziantus, amarilis, hrizantema i druge, kao i korovi tatula, pepeljuga, maslačak, štir, vodopija, gorčika i druge (Nischwitz et al., 2012; Stanković et al., 2013; Cabi, 2015).

### *Patogeneza*

Zasad je utvrđeno da je jedini vektor virusa duvanov tripsa -*Thrips tabaci* (Kritzman et al., 2001). Virus se tokom zime održava u živim biljkama- domaćinima, a posebno u lukovicama, a tokom vegetacije se prenosi larvama i odraslim jedinkama duvanovog tripsa na perzistentan način (Gent et al., 2006). Trgovina ukrasnim biljkama ili drugim domaćinima virusa doprinosi širenju virusa na veće udaljenosti (Cabi, 2015).

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Na listovima luka virus prouzrokuje izdužene sočivaste pege koje su svetlozelene ili slamasto žute boje, koje vremenom nekrotiraju. Ovalne pege su često koncentrično zonirane. U literaturi se pri opisu simptoma za oblik pega često spominje da imaju oblik dijamanta (Bulajić et al., 2009). Zaraženi listovi vremenom izumiru. Pege na cvetonosnom stablu luka prouzrokuju prelamanje stabla (Bulajić et al., 2008). Virus prouzrokuje poremećaj fotosinteze, dovodi do kvalitativnih i kvantitativnih gubitaka koji zavise od vremena ostvarene infekcije, genotipa i stanja vitalnosti domaćina, kao i od uslova spoljne sredine. Postoji podaci o potpunim gubicima prinosa luka (Córdoba-Sellés et al., 2005), kao i podatak iz Slovenije da zaraze useva od 90% nisu prouzrokovale značajno smanjenje prinosa (Mavrić i Ravnikar, 2001). Kod ukrasnih biljaka simptomi zakžljavanja i deformacija cvetova u značajno smanjuju tržišnu vrednost biljaka.

### *Mere suzbijanja*

U prevenciji oboljenja neophodno je primeniti integralne mere zaštite koje uključuju fitosanitarne, agrotehničke, hemijske i biološke mere zaštite. Radi eliminacije izvora zaraze potrebno je uništiti prošlogodišnje i samonikle biljke, kao i korove domaćine patogena (Hsu et al., 2011). Smenu useva i plodored planirati tako da u delu vegetacije u uzgoju nema ni domaćina virusa i izvora hrane za njegovog vektora. Neophodna je kontrola zdravstvenog stanja biljaka koji se uvoze, kao i biljnog materijala u unutrašnjem prometu. Kontrolisano premeštanje biljaka unutar gazdinstva i između objekata zaštićenog prostora je takođe važno. Hemijsko i/ili biološko uništavanje vektora virusa je izuzetno važno. U cilju ove mere neophodno je pratiti brojnost populacije insekata. Primena odbijajućeg malča, kao i predatorskih stenica i tripsa se preporučuju kao deo integralnog pristupa zaštite (Gent et al., 2006). Utvrđeno je postojanje razlika u osetljivosti genotipova luka.

U Srbiji je Pravilnikom o utvrđivanju programa mera zaštite zdravlja bilja propisano sprovođenje posebnog nadzora na prisustvo virusa u proizvodnji ukrasnog bilja u zatvorenom prostoru.

## *Virus nekrotične pegavosti impatienta (Impatiens necrotic spot virus, INSV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Bunyaviridae*  
Rod *Tospovirus*

### *Rasprostranjenost*

Najviše podataka o virusu potiče iz Severne Amerike i Evrope, ali je virus utvrđen i na drugim kontinentima (EPPO, 2015). Razlog manjeg broja literaturnih podataka o rasprostranjenju ovog virusa u odnosu na TSWV se može pripisati relativno skorom definisanju ove vrste, te se mogu očekivati dalji, novi nalazi o prisustvu INSV širom sveta (Stanković et al., 2013). Pojava virusa je uslovljena rasprostranjenjem vektora, tripsa *Frankliniella occidentalis*.

### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus je izometrijskog oblika sa fizičkim karakteristikama i organizacijom genoma i čestice kao kod TSWV (Law et al., 1992).

### *Krug domaćina*

Virus ima manje opisanih biljaka-domaćina u odnosu na TSWV, ali se mogu očekivati novi nalazi. INSV se smatra prevashodno patogenom ukrasnih biljaka, pošto zaražava značajan broj ukrasnog bilja: begoniju, daliju, gerberu, ciklamu, primulu, gladiolu, hrizantemu i druge (Kondo et al., 2011; Trkulja et al., 2013; EPPO, 2015). Među povrtarskim biljkama opisan je na paprici, krastavcu, salati, spanaću i dr. (González-Pacheco i Silva-Rosales, 2013; Kuo et al., 2014; EPPO, 2015). Postoje podaci i o pojavi na korovima, kao što je mišljakinja, taržuzak i slez (Kuo et al., 2014; EPPO, 2015).

### *Patogeneza*

Vektor virusa je trips *Frankliniella occidentalis*. INSV je i po patogenezu sličan TSWV i veoma često se javlja u mešanim infekcijama. Ne prenosi se semenom, značajan put širenja na velike udaljenosti je međunarodna trgovina saksijским ili rezanim cvećem. Virus se ređe sreće na otvorenom polju u odnosu na TSWV i više se povezuje sa pojavom u zaštićenom prostoru.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Prema Stanković et al. (2013) simptomi u značajnoj meri variraju čak i na istoj biljnoj vrsti gajenoj u istom objektu. Ovi autori navode simptome u vidu nekrotičnih i hlorotičnih prstenastih pega, linijskih šara, nekroze listova i propadanja biljaka. U nekim slučajevima promene podsećaju na fitotoksična oštećenja od pesticida. Virus dovodi do zaostajanja u porastu i obezvređuje tržišnu vrednost zaražene biljke. Navedeni simptomi su karakteristični i u slučaju pojave virusa na salati (Kuo et al., 2014).

### *Mere suzbijanja*

Kontrola zdravstvenog statusa i korišćenje zdravog sadnog materijala je elementarna mera zaštite protiv virusa (EPPO, 2015). Praćenje populacije i suzbijanje vektora, montiranje mreža na otvore zaštićenog prostora, izbegavanje istovremenog gajenja više vrsta ukrasnog

bilja, izolacija biljaka koje se unose u zaštićeni prostor, suzbijanje korova domaćina virusa, uništavanje zaraženih biljaka su takođe važne mere prevencije (Stanković et al., 2013).

## EKONOMSKI ZNAČAJNIJI BILJNI VIRUSI ČIJI JE GENOM SAČINJEN OD DVOSPIRALNE DNK

### *Virus mozaika karfiola (Cauliflower mosaic virus, CaMV)*

Nije svrstan u red

Fam. *Caulimoviridae*

Rod *Caulimovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Rasprostranjen je širom umerenog klimatskog područja (Shepherd, 1981).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika 50 nm. Genom virusa je cirkularna, dvospiralna dezoksiribonukleinsku kiselinu (ds DNK), koja je okružena proteinskim omotačem sa triangulacionim brojem 7 (Cheng et al., 1992). Građa čestica virusa je detaljno obrađena u okviru poglavlja „Građa virusa“. Genom ima sedam otvorenih okvira čitanja, sa sledećim funkcijama (Haas et al., 2002; Hulo et al., 2011): ORF 1 – protein za kretanje iz ćelije u ćeliju (Movement Protein); ORF 2 – proteins zadužen za prenošenje virusa insektima; ORF 3 – strukturalni protein, za vezivanje sa DNK; ORF 4 – kapsidni protein; ORF 5 – proteaza, reversna transkriptaza; ORF 6 – protein translacioni aktivator, protein inkluzije; ORF 7 – nepoznata funkcija.

#### *Krug domaćina*

Prirodni domaćini virusa su biljke iz porodice *Brassicaceae*, kao što su karfiol, uljana repica, rotkva, kupus i druge. Među domaćinima se nalaze i korovi iz porodice kupusnjača.

#### *Patogeneza*

Prema Shepherd-u (1981) najmanje 27 vrsta lisnih vaši prenosi virus na neperzistentan ili poluperzistentan način. Vaši mogu preneti virus oko sat vremena nakon ishrane na zaraženoj biljci i ostaju infektivne do tri dana u zavisnosti od vrste lisne vaši. Najčešće vrste lisnih vaši vektora virusa su *Aphis fabae*, *Brevicoryne brassicae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae*, i dr. Virus se održava u zaraženim izvodnicama za proizvodnju semena i korovima i lako se prenosi sokom zaraženih biljaka (Šutić, 1995).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Zaražene biljke imaju bledu boju, često dolazi do smanjenja porasta. Simptomi se takođe ispoljavaju u vidu prstenastih pega na listovima, prosvetljavanja, hloroze i žućenja nerava i šarenila listova. Virus značajno smanjuje veličinu i kvalitet glavice kupusa odnosno cvasti karfiola i time prouzrokuje ekonomske štete (Hunter et al., 2002). U metodologiji genetske modifikacije virus mozaika karfiola često ima značajnu ulogu kao „promoter“ gena, odnosno u aktivaciji unetih gena i ispoljavanja njihovih karakteristika (Ho et al., 1999).

### *Mere suzbijanja*

Važno je suzbijanje korova domaćina virusa, pošto predstavljaju izvor zaraze, kao i vektora. Prostorna udaljenost od prošlogodišnjeg useva kupusnjača ili semenskih useva je takođe važna. Preporučuje se pažljiv odabir vremena setve kako bi se izbeglo poklapanje mladog uzrasnog stadijuma useva sa visokom populacijom lisnih vaši. Gušći sklop uljane repice pomaže bržem zatvaranju redova i smanjenju šteta. Prema Randles i Crowley (1967) gajenje robusnih ivičnih biljaka koje služe kao fizičke barijera oko useva kupusnjača može smanjiti zarazu virusom.

## EKONOMSKI ZNAČAJNIJI BILJNI VIRUSI ČIJI JE GENOM SAČINJEN OD JEDNOSPIRALNE DNK

### *Virus žute kovrdžavosti lista paradajza (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)*

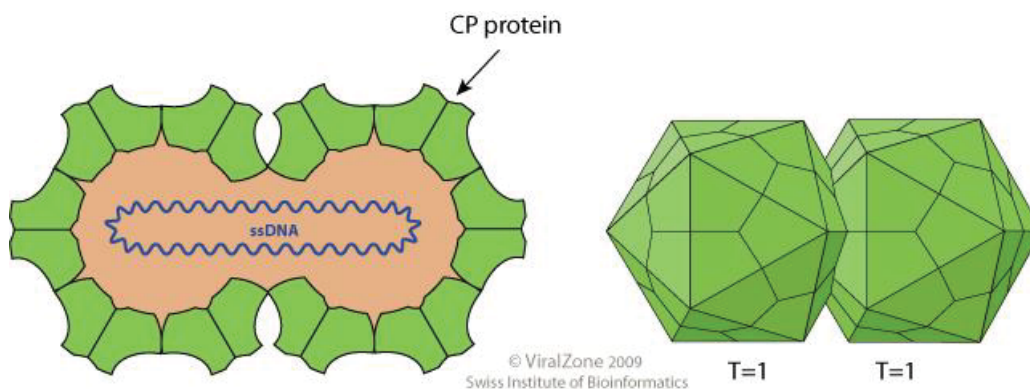
Nije svrstan u red  
Fam. *Geminiviridae*  
Rod *Begomovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Virus je utvrđen u Severnoj i Srednjoj Americi, Africi, Aziji i Australiji. U Evropi je raširen na Kipru i u Grčkoj, ograničeno je raširen u Španiji, Portugaliji i Turskoj, dok se za ostale države u kojima je opisan (Italija, Holandija, Francuska) smatra da se radi o pojedinačnim nalazima (EPPO, 2015). U Evropskoj Uniji je svrstan na A2 listu, dok je u Srbiji prema Pravilniku o listama štetnih organizama i listama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata (Sl. glasnik RS", br. 7/2010, 22/2012 i 57/2015) ovaj virus svrstan na listu IA deo I, odnosno među štetne organizme za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije i čije je unošenje i širenje u Republiku Srbiju zabranjeno. Rasprostranjenost je usko povezana sa naglim osvajanjem prostora od strane vektora, leptiraste vaši *Bemisia argentifolii* (CABI, 2015). TYLC se može smatrati kompleksom vrsta, pošto su u zavisnosti od porekla opisane vrste *TYLC China virus*, *TYLC Indonesia virus*, *TYLC Malaga virus*, *TYLC Sardinia virus*, *TYLC Mali virus*, itd. (ICTV, 2015).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Ime porodice odražava građu čestica, naime čestica je sastavljena od spojenih polovina tzv. „blizanaca“ (Slika XIII.69.). Dimenzija čestice je 38 nm dužine i 22 nm u prečniku. Čestica sadrži jednu cirkularnu ssDNK (Hulo et al., 2011). Omotač čestice ima triangulacioni broj 1.



Slika XIII.69. Šematski prikaz građe čestica virusa iz roda *Begomovirus* (uz dopuštenje ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

#### *Krug domaćina*

Virus ima širok krug domaćina, pri čemu je najnačajniji na paradajzu. Prema EPPO (2015) virus je opisan na paprici, lubenici i pamuku, a virus bez simptoma zaražava duvan i plavi patlidžan (Li et al., 2014). Domaćini virusa su i biljke iz spontane vegetacije kao što su divlja ljubičica (*Viola prionantha*), abutilon (*Abutilon theophrasti*) i azijska biljka *Acalypha australis*. Među ukrasnim biljkama domaćin je *Lisianthus* (Cohen et al., 1995).

#### *Patogeneza*

Vektor virusa je leptirasta vaš *Bemisia argentifolii*, koja je ranije bila poznata kao *B. tabaci* biotip B. Ona virus prenosi na perzistentan način. Vektor usvaja virus ishranom na zaraženoj biljci u dužini od oko 30 ili 60 minuta, u zavisnosti od izolata virusa, a latentni period traje do 24 časa (EPPO; 2015a). Većina jediniki prenosi virus tokom 10-12 dana nakon usvajanja. Ghanim et al. (1998) su utvrdili da se virus prenosi jajnim leglima vektora. Virus se ne prenosi semenom niti dodiranjem biljaka. Na veće udaljenosti virus se širi zaraženim rasadom paradajza ili prometom biljaka na kojima se nalazi vektor.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Promene na biljkama često liče na promene izazvanih drugim virusom, fiziološkim stresom ili nedostatkom fosfora ili magnezijuma (Anonimus, 2013). Simptomi uključuju kržljivost biljaka, formiranje sitnih i kašikasto uvijenih listova, zadebljalost i kožastu strukturu listova, hlorozu lišća, pri čemu lisni nervi ostaju zeleni, opadanje cvetova i formiranje sitnih plodova bez upotrebne vrednosti (Anonimus, 2013). Nakon pojave virusa na području gde ranije nije postojao rapidno se širi usled prisustva vektora i može prouzrokovati značajne štete. U Libanu je usled visokih šteta napuštena proizvodnja paradajza (Abou-Jawdah i Shebaro, 1993).

#### *Mere suzbijanja*

Pošto se radi o karantinskom virusu za Srbiju, veoma su važne mere koje se sprovode u cilju sprečavanja uvoza zaraženog sadnog materijala. Pravilnikom o utvrđivanju posebnih mera zaštite zdravlja bilja, Ministarstvo poljoprivrede je propisalo poseban nadzor u usevu paradajza na teritoriji Republike Srbije na prisustvo ovog virusa.

U slučaju pojave virusa efikasne mogu biti mere eradikacije. Na Kipru su merama eradikacije na državnom nivou sprečili širenje virusa nakon pojave (Sastry i Zitter, 2014). U područjima u kojima je virus već prisutan su veoma važne sve mere koje sprečavaju pojavu odnosno povećanje populacije vektora. Hemijska zaštita je usled pojave rezistencije i biologije insekta često nedovoljno efikasna (EPPO, 2015a). Neophodno je saditi isključivo zdrav rasad. U oblasti Mediterana se protiv vektora-leptirastih vaši i virusa štite pokrivanjem useva paradajza mrežom kroz koju insekti ne mogu prodrati (Cohen i Antignus, 1994). Preporučljivo je u delu vegetacije pauzirati sa proizvodnjom paradajza. Prema Maruthi et al. (2003) geni otpornosti prema ovom virusu se mogu pronaći u divljem paradajzu *Lycopersicon hirsutum*. Unošenjem gena koji kodira proteinski omotač virusa stvorene su otporne transgene biljke paradajza (Kunik et al., 1994).

### *Virus kovrdžavosti vrha šećerne repe (Beet curly top virus, BCTV)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Geminiviridae*  
Rod *Curtovirus*

#### *Rasprostranjenost*

Najveći broj podataka o pojavi virusa potiču iz Severne i Južne Amerike, kao i oblasti Mediterana- Italije, Turske, Španije i Kipra. Opisan je i u Japanu (EPPO, 2015). U EPPO zoni virus je svrstan na A2 listu, a u Srbiji se nalazi na Lista IA deo I, odnosno među štetnim organizmima za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji Republike Srbije.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa virusa*

Virus ima izometrijske čestice prečnika oko 20 nm, koje se pojavljuju u paru, tzv. čestice blizanci (Thomas i Mink, 1979). Genom je jednodelna, cirkularna ssDNK (Hulo et al., 2011). Otvoreni okviri čitanja kodiraju protein za kretanje (MP), proteinski omotač (CP), V2 protein, replikazu (Rep), C2 protein, poboljšivač reprikaze (REn) i C4.

#### *Krug domaćina*

Ima širok krug domaćina, ali je ekonomski značajan pre svega na šećernoj repi, krompiru i paradajzu. Parazitira predstavnike većeg broja porodica, kao što su biljke iz porodica *Chenopodiaceae*, *Solanaceae*, *Brassicaceae*, *Violaceae*, *Geraniaceae*, *Cucurbitaceae*, *Caryophyllaceae*, *Fabaceae*, *Asteraceae*, *Linaceae* i *Apiaceae* (EPPO, 2015a). Među korovima domaćini su mišljakinja, pepeljuga, tatula, tarčuzak, kiseljak i druge (EPPO, 2015a).

#### *Patogeneza*

Virus kovrdžavosti vrha šećerne repe (*Beet curly top virus*, BCTV) se prenosi cikadom *Circulifer tenellus* u Severnoj Americi, dok se u oblasti Mediterana prenosi vrstom *C. opacipennis*, pri čemu vektori mogu preneti virus i na neperzistentan i na perzistentan način (EPPO, 2015a). Virus se održava u zaraženoj šećernoj repi, korovima ili drugim domaćinima. Na veće udaljenosti virus se može preneti zaraženim biljnim materijalom.

### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Virus prouzrokuje neoplastične promene u tkivu floema zaraženih biljaka. Prvo se javlja degeneracija prvobitnog floema, a zatim dolazi do hiperplastičnog stvaranja novog floemskog i ksilemskog tkiva, koje prati obrazovanje velikog broja sitastih ćelija od kojih se formiraju nove sitaste cevi (Esau, 1941., loc.cit.Gibbs i Harisson, 1976).

Ukoliko virus zarazi mlade biljke šećerne repe, one često izumiru (Harveson, 2015). U slučaju kasnijih zaraza karakteristični simptomi su hloroza, izumiranje starijih listova, formiranje većeg broja sitnih listova koji imaju uspravan položaj, kao i formiranje plikova i sitnih izraslina sa naličja lista. Na preseku korena se mogu uočiti nekroza tkiva floema u vidu prstenova (Slika XIII.70 i 71). Može se pojaviti i bradatost korena.

Na paradajzu se simptomi ispoljavaju u vidu uvijanja listova nadole, klonulosti listova, zadebljanja i žućenja listova (Slika XIII.72). Plodovi se ne formiraju ili prevremeno sazrevaju i sadrže sterilno seme. Biljke prevremeno izumiru (EPPO, 2015a). Tokom XX veka ovaj virus je prouzrokovao ogromne štete u SAD i doveo do zatvaranja brojnih šećerana. Danas su štete ograničene na zapadne delove SAD (Harveson, 2015). Strausbaugh et al. (2007) su utvrdili značajnu negativnu korelaciju između ocene zaraze i prinosa korena i šećera.



Slika XIII.70. Virus kovrdžavosti lišća šećerne repe (Foto: Neher)



Slika XIII.71. Nekroza floema na preseku zaraženog korena šećerne repe (Foto: Neher)



Slika XIII.72. Simptom uvijanja listova i izumiranja na paradajzu (Foto: Neher)



### *Mere suzbijanja*

Preporučuje se suzbijanje korova-domaćina virusa i vektora virusa. Pored suzbijanja vektora folijarnim tretiranjem Strausbaugh et al. (2014) preporučuju tretiranje semena šećerne repe insekticidima. U SAD se smanjenje intenziteta zaraze postiže i kasnijom setvom spanaća i cvekle, čime se izbegava preklapanja perioda visoke aktivnosti vektora i osetljive fenofaze useva (Nischwitz i Olsen, 2011). U vreme značajnih šteta od virusnog oboljenja izdvajana su značajna sredstva za pronalaženja gena otpornosti (poseban fond Kongresa SAD, 1929). Uvođenje otpornih sorti šećerne repe prema virusu (1933) znatno je redukovalo štete.

## EKONOMSKI ZNAČAJNIJI VIROIDI

### *Latentni viroid breskve (Peach latent mosaic viroid, PLMVd )*

Nije svrstan u red  
Fam. *Avsunviroidae*  
Rod *Pelamoviroid*

#### *Rasprostranjenost*

Viroid je rasprostranjen na svim kontinentima (EPPO, 2015). Opisan je i u Srbiji u niskom procentu (Jevremović i Paunović, 2014a). Značajan je u glavnim regionima gajenje breskve: Francuskoj, Španiji, Italiji, Grčkoj i Severnoj Africi (Flores et al., 1998). U Srbiji se nalazi na Listi IA deo II, odnosno poznato je da je ograničeno prisutan, ali je unošenje biljnog materijala koje je zaraženo viroidom zabranjeno.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa viroida*

Viroid čini cirkularna ssRNK razgranate strukture od 336 do 351 nukleotida (Flores et al., 2006; Fekih Hassen et al., 2007). Odnos nukleotida u lancu je (G:A:C:U) 27.0 : 23.7 : 25.5 : 23.7 (Flores et al., 1998).

#### *Krug domaćina*

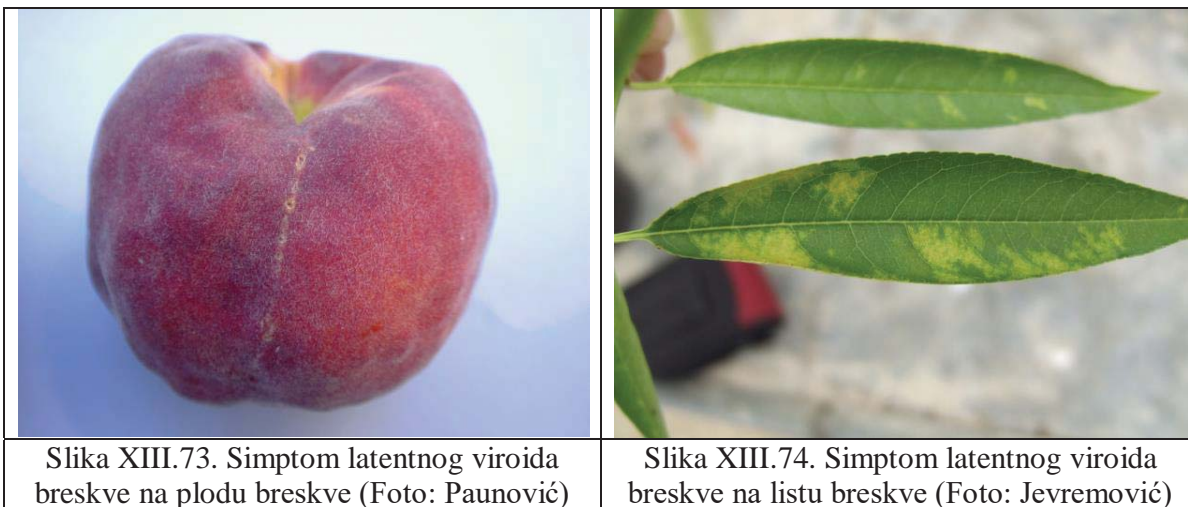
Najpoznatiji domaćin virusa je breskva, ali prema Giunchedi et al., (2011) i Jevremović i Paunović, (2014a) prirodno zaražava i kajsiju, trešnju, šljivu, badem, krušku i divlju krušku.

#### *Patogeneza*

Viroid se prenosi kalemljenjem i zaraženim polenom (Barba et al., 2007; Jevremović i Paunović, 2014a). Ne prenosi se semenom. Eksperimentalno je prenet i putem lisne vaši *Myzus persicae*, ali ne postoje dalji podaci o značaju prenošenja putem lisnih vaši u praksi (Jevremović i Paunović, 2014a).

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Većina izolata ne prouzrokuje vidljive promene na domaćinima. Određen broj izolata međutim nakon latentnog perioda od 5-7 godina prouzrokuje pojavu mozaika, hlorotičnih pega, albinizam (kaliko), deformacije i promenu boje plodova (Flores et al., 2006, Jevremović i Paunović, 2014a; Slika XIII.73 i 74). U promene prouzrokovane viroidom spadaju i kašnjenje u formiranju lisne mase, cvetanju i sazrevanju, nekroza pupoljaka, jamičavost stabla i prevremeno starenje stabla, povećana osetljivost na mraz. Smatra se da su ekonomske štete od viroida značajne.



#### *Mere suzbijanja*

Kontrola sadnog materijala iz uvoza, pridržavanje pravila propisanih sertifikacionim šemama, odnosno proizvodnja zdravog sadnog materijala predstavljaju osnovne mere zaštite. Kontrola zdravstvenog statusa i propisanih mera pri kalemljenju i termoterapija takođe doprinose sprečavanju širenja ovog oboljenja. Prema podacima Thresh-a (1988) mere eradikacije sprovedene u državama Kolorado i Kalifornija su dale dobre rezultate.

#### *Viroid ožiljaka pokožice jabuke (Apple scar skin viroid, ASSVd)*

Nije svrstan u red

Fam. *Pospiviroidae*

Rod *Apscaviroid*

#### *Rasprostranjenost*

Viroid je prvo opisan u Kini, a nakon toga i u Japanu, Iranu, Indiji, Argentini, SAD i Kanadi (Walia et al., 2009; Yazarlou et al., 2012; Nome et al., 2012; CABI, 2016). Desvignes et al. (1999) smatraju da nije raširen u Evropi, iako postoji podaci o nalazu viroida sa Krita, iz Grčke, Italije, Francuske, Velike Britanije, Poljske i Danske (CABI, 2016).

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa viroida*

Viroid se sastoji od cirkularne ssRNK koja je sagrađena od 330 nukleotida (Koganezawa, 1989).

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćini viroida su biljke iz roda *Malus* i *Pyrus*, ali je opisan i na trešnji -*Prunus avium* (CABI, 2016).

#### *Patogeneza*

Prema Koganezawa, (1989) viroid se prenosi kalemljenjem, i kao i srašćivanjem korena obolelih i zdravih stabala u voćnjaku. Prema novim istraživanjima (Walia et al., 2015) viroid je u eksperimentalnim uslovima prenet putem bele leptiraste vaši (*Trialeurodes vaporariorum*), ali još treba ispitati značaj ovog načina prenošenja u prirodi. Ne prenosi se semenom. Na veće udaljenosti prenosi se zaraženim sadnim materijalom.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Viroid ne ispoljava upadljive simptome na krušci. Na jabuci simptomi variraju u zavisnosti od sorte jabuke (Desvignes et al., 1998). Najupadljiviji simptomi su promene na pokožici ploda jabuke, na kojoj se stvaraju ožiljci, odnosno uzdužne šare mrke boje, koje mogu dovesti do jamičavosti i pucanja plodova (Slika XIII.75.). Plodovi su smanjenih dimenzija (CABI, 2016). Listovi su deformisanog oblika i uvijeni. Devignes et al. (1998) na plodovima sorti Fudži i Gala opisuju promene u boji, a kod Crvenog delišesa i nekrotične ožiljke. Plodovi sa ispoljenim simptomima u potpunosti gube svoju tržišnu vrednost.



Slika XIII.75. Simptom viroida pokožice jabuke (Foto: Paunović)

#### *Mere suzbijanja*

Proizvodnja zdravog sadnog materijala i zdravstvena kontrola u voćnjaku predstavljaju osnovu zaštite protiv oboljenja. Hao et al. (2016) su razvili modifikovanu RT-PCR metodu kojom se simultano testiraju jabuke na tri virusa i tri viroida, među kojima je i ASSVd. Zaražena stabla je potrebno uništiti. Viroid se iz zaraženog tkiva može eliminisati termoterapijom (Desvignes et al., 1999). Desvignes et al. (1998) su ispitivali osetljivost 42 sorte jabuke prema viroidu i ustanovili su da su sorte Elstar, Zlatni delišes i Greni smit tolerantne prema oboljenju.

#### *Viroid vretenavosti krtola krompira (Potato spindle tuber viroid, PSTVd)*

Nije svrstan u red  
Fam. *Pospiviroidae*  
Rod *Pospiviroid*

#### *Rasprostranjenost*

Viroid je opisan na svim kontinentima, ali je u mnogim državama uspešno izvršena mera eradikacije, te se smatra da nije prisutan (EPPO, 2015). U zoni EPPO je svrstan na A2 listu, dok je u Srbiji na listi IA deo I, odnosno nije prisutan i zabranjuje se uvoz zaraženog biljnog materijala. Viroid je eradikovao u Francuskoj i Finskoj, dok je u Mađarskoj, Holandiji,

Velikoj Britaniji i Švajcarskoj u toku eradikacija. Smatra se da je prisutan u Hrvatskoj, Crnoj Gori, Nemačkoj, Rusiji, Sloveniji, itd.

#### *Fizičke i hemijske karakteristike, građa viroida*

Viroid je sastavljen od ssRNK sa 359 nukleotida (EPPO, 2015a).

#### *Krug domaćina*

Glavni domaćini viroida su krompir i paradajz, kao i druge biljke iz roda *Solanum*. U Crnoj Gori je izolovan i iz jasmína *Solanum jasminoides* i anđeoske trube –*Brugmansia* sp. (Luigi et al., 2016).

#### *Patogeneza*

Viroid se uspešno prenosi mehanički dodiranjem biljaka, pneumaticima traktora ili nožem za sečenje krtola pri sadnji (Donald i Bonde, 1954; EPPO, 2015a). Prema Mackie et al. (2015), viroid ostaje infektivan *in vitro* na podlogama kao što su guma, pamučna odeća, metal i plastika i do 24 časa, tako da je opasnost od mehaničkog prenošenja značajna. Utvrđeno je da u prenošenju ulogu mogu imati lisne vaši (*Macrosiphum euphorbiae* i *Myzus persicae*), krompirova zlatica (*Leptinotarsa decemlineata*), stenica (*Lygus pratensis*), cikade (*Eupteryx atropunctata* i *Empoasca flavescens*) (Werner-Solska, 1983; EPPO, 2015a). Prenosi se krtolama krompira, a utvrđeno je i prenošenje semenom paradajza (Matsushita i Tsuda, 2014; EPPO, 2015a). Ovi načini prenošenja su razlog širenja viroida na veće udaljenosti. Prema Mehle et al. (2014) viroid se može preneti i putem vode za navodnjavanje.

#### *Simptomatologija i ekonomski značaj*

Blagi sojevi viroida ne prouzrokuju upadljive simptome na zaraženim biljkama. Patogeniji sojevi na krompiru prouzrokuju pojavu „filotaksije“. Ukoliko se biljke posmatraju od dole, zapaža se kružni raspored listova na stablu, koji su spiralno raspoređeni u pravcu kretanja kazaljke na satu (EPPO, 2015a). Listovi su rapave površine, uspravnog položaja i tamno zelene boje. Vršni listovi se uvijaju na gore. Biljke su zakržljale, a usled aktivacije vršnih pupoljaka može doći do intenzivnog bokorenja i formiranja simptoma „veštičine metle“. Krtole su sitne, izduženo-vretenastog oblika (EPPO, 2015a). Kod paradajza se takođe javlja zakržljavanje, zatim hrapavost i uvijanje listova koja je praćena hlorozom i nekrozom. Patogeni sojevi viroida prouzrokuju gubitke u prinosu krompira i do 40% (EPPO, 2015a).

#### *Mere suzbijanja*

Ministarstvo Poljoprivrede Republike Srbije je tokom 2013.godine izdalo naredbu o sprovođenju posebnih fitosanitarnih pregleda radi otkrivanja štetnog organizma viroida vretenavosti krtola krompira, kao i o merama koje se preduzimaju u slučaju pojave štetnog organizma (Službeni Glasnik RS broj 41/09). Glavne mere zaštite od oboljenja su karantinske mere, sertifikovana proizvodnja sadnog materijala krompira i setva zdravog semena paradajza. Pri uvozu sadnog materijala krompira posebno treba obratiti pažnju na pošiljke koje stižu iz država u kojima je opisan viroid. Eradikacija oboljenja organizovanom akcijom državnih organa dala je pozitivne rezultate u pojedinim državama (Catley, 1987; Singh, 2014). Donald i Bonde (1954) su utvrdili da pranje pneumatika traktora deterdžentom značajno smanjuje stepen prenošenja. Prema Mackie et al. (2015) za dezinfekciju površina na koje je dospelo sok iz zaraženih biljaka najbolje je koristiti razređeni rastvor natrijum

hipohlotita ili obrano mleko. Yang et al. (1997) su objavili podatak o transgenoj otpornosti prema ovom viroidu.

## LITERATURA

### A

- Abdalla, O. A. and Ali, A. (2012). First report of *Alfalfa mosaic virus* associated with severe mosaic and mottling of pepper (*Capsicum annuum*) and white clover (*Trifolium repens*) in Oklahoma. *Plant Disease*, 96, 1705-1705.
- Abe, H., Tamada, T. (1986). Association of *Beet necrotic yellow vein virus* with isolates of *Polymyxa betae* Keskin. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 52, 235-247.
- AbouHaidar, M.G. and Erickson, J.W. (1985). Structure and in vitro assembly of papaya mosaic virus. In: J.W. Davies (ed.) *Molecular Plant Virology*, pp. 85-121. CRC Press, Boca Raton.
- Aboughanem-Sabanadzovic, N., Allen, T. W., Broome, M., Lawrence, A., Moore, W. F. and Sabanadzovic, S. (2014). First report of Kudzu (*Pueraria montana*) infections by *Tobacco ringspot virus* in Mississippi. *Plant Disease*, 98, 12.
- Abou-Jawdah, Y., Shebaro, W.A. (1993). Situation of TYLCV in Lebanon. *Tomato Leaf Curl Newsletter*, 4, 2-3.
- Acotto, G.P., Vaira, A.M., Vecchiati, M., Finetti Sialer, M.M., Gallitelli, D. and Davino, M. (2001). First report of *Tomato chlorosis virus* in Italy. *Plant Disease* 85, 1208.
- Adams, A. N. and Barbara, D. J., (1980). Host range, purification and some properties of hop mosaic virus. *Ann. Appl. Biol.*, 96, 201.
- Adams, M.J. and Antoniw, J.F. (2005). DPVweb: An open access internet resource on plant viruses and virus diseases. *Outlooks on Pest Management*, 16, 268-270.
- Adams, M.J. & Antoniw, J.F. (2006). DPVweb: a comprehensive database of plant and fungal virus genes and genomes. *Nucleic Acids Research*, 34, Database issue, D382-D385.
- Agbas, B. and Degirmenci, K. (2009). Incidence and natural spread of *Apple mosaic virus* on hazelnut in the West Black Sea coast of Turkey and its effect on yield. *Journal of Plant Pathology*, 91, 767-771
- Agranovsky, A.A. and Lesemann, D.E. (2000). *Beet yellows virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 377, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Agrios, G.N. (2005): *Plant Pathology*. Fifth edition. Elsevier Inc.
- Ahlquist, P, French, R, Janda, M. and Loesch-Fries, L.S. (1984). Multicomponent RNA plant virus infection derived from cloned viral cDNA. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81, 7066-7070.
- Ahlquist, P, Dasgupta, R. and Kaesberg, P. (1984a). Nucleotide sequence of brome mosaic virus genome and its implications for virus replication. *J. Mol. Biol.*, 172, 369-383.
- Ahmed, M.E., Black, L.M., Perkins, E.G., Walker, B.L. and Kummerow, F.A. (1964). Lipid in potato yellow dwarf virus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 17, 103-107.
- Akbaş, B., Kunter, B., and Ilhan, D. (2007). Occurrence and distribution of *Grapevine leafroll-associated viruses 1, 2, 3 and 7* in Turkey. *J. Phytopathol.*, 155, 122-124.
- Akinbade, S.A., Villamor, D.V., Eastwell, K.C. (2012). Genetic diversity of *Apple stem grooving virus* and *Apple stem pitting virus* in North America. APS Annual meeting, Providence, August 4-8, USA.
- Akbaş, B. and Değirmenci, K. (2010). First report from Turkey of European plum line pattern caused by *Apple mosaic virus*. *Plant Disease*, 94, 641.
- Alayasa, N., Al Rwahnih, M., Myrta, A., Herranz, M.C., Minafra, A., Boscia, D., Castellano, M.A. and Pallás, V. (2003). Identification and characterization of an *American plum line pattern virus* isolate from Palestine. *Journal of Plant Pathology*, 85, 3-7.

- Albrecht, H., Geldreich, A., Menissier de Murcia, J., Kirchherr, D., Mesnard, J.-M. and Lebeurier, G. (1988). Cauliflower mosaic virus gene 1 product detected in a cell-wall-enriched fraction. *Virology*, 163, 503-508.
- Alconero, R., Fiori, B., Sherring, W. (1986). Relationships of virus infections to field performance of six clover species. *Plant Disease*, 70, 119-121.
- Alemu, K. (2015). Detection of diseases, identification and diversity of viruses: A review. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5, 204-214.
- Alfaro-Fernández, A., Córdoba-Sellés, C., Cebrián, M.C., Herrera-Vásquez, J.A., Sánchez-Navarro, J.A., Juárez, M., Espino, A., Martín, R., Jordá, C. (2008). First report of *Tomato torrado virus* on weed hosts in Spain. *Plant Disease*, 92, 831.
- Alfaro-Fernández, A., Bese, G., Cordoba-Selles, C., Cebrian, M.C., Herrera-Vasquez, J.A., Forray, A., Jorda, C. (2009). First report of *Tomato torrado virus* infecting tomato in Hungary. *Plant Disease*, 93, 554.
- Alfaro-Fernández, A., Córdoba-Sellés, M.C., Juárez, M., Herrera-Vásquez, J.A., Sánchez-Navarro, J.A., Cebrián, M.C., Font, M.I., Jordá, C. (2010). Occurrence and geographical distribution of the 'Torrado' disease in Spain. *Journal of Phytopathology*, 158, 457-469.
- Ali, A., Natsuaki, T. (2007). *Watermelon mosaic virus*. *Plant viruses*, 1, 80-84.
- Ali, A., Mohammad, O., and Khattab, A. (2012). Distribution of viruses infecting cucurbit crops and isolation of potential new virus-like sequences from weeds in Oklahoma. *Plant Disease*, 96:243-248.
- Ali, M.E., Waliullah, S., Nishiguchi, M. (2016). Molecular analysis of an attenuated strain of *Cucumber green mottle mosaic virus* using in vitro infectious cDNA clone: pathogenicity and suppression of RNA silencing. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 25, 79-86.
- Allen, E., Wang, S. and Miller, W.A. (1999). Barley yellow dwarf virus RNA requires a cap-independent translation sequence because it lacks a 5' cap. *Virology*, 253, 139-144.
- Allison, R.F., Johnston, R.E. and Dougherty, W.G. (1986). The nucleotide sequence of the coding region of tobacco etch virus genomic RNA: evidence for the synthesis of a single polyprotein. *Virology*, 154, 9-20.
- Almeida, R. P. P., Daane, K. M., Bell, V. A., Blaisdell, G. K., Cooper, M. L., Herrbach, E., & Pietersen, G. (2013). Ecology and management of grapevine leafroll disease. *Frontiers in Microbiology*, 4, 94.
- Alrefai, R. H., Shiel, P. J., Domier, L. L., D'Arcy, C. J., Berger, P. H. and Korban, S. S. (1994). Nucleotide sequence of apple mosaic virus coat protein gene: no homology with other *Bromoviridae* coat protein genes. *Journal of General Virology*, 75, 2847-2850.
- Alvarez, M., and Campbell, R. N. (1978). Transmission and distribution of squash mosaic virus in seeds of cantaloupe. *Phytopathology*, 68, 257-263.
- Al Rwahnih, M., Osman, F. and Rowhani, A. (2008). Molecular characterization of Californian isolates of *Grapevine leafroll-associated viruses 7* (GLrav-7) and development of detection methods. Proceedings of the 2nd Annual National Viticulture Research Conference, July 9-11, 2008, University of California, Davis.
- Al Rwahnih, M., Dolja, V.V., Daubert, S., Koonin, E.V., Rowhani, A. (2012). Genomic and biological analysis of Grapevine leafroll-associated virus 7 reveals a possible new genus within the family *Closteroviridae*. *Virus Research*, 163, 302-309.
- Amari, K., Gonzalez-Ibeas, D., Gómez, P., Sempere, R.N., Sanchez-Pina, M.A., Aranda, M.A., Diaz-Pendon, J.A., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Blanca, J., Hernandez-Gallardo,

- M.D., Anastasio, G. (2008). *Tomato torrado virus* is transmitted by *Bemisia tabaci* and infects pepper and eggplant in addition to tomato. *Plant Disease*, 92, 1139.
- Amin, P.W. (1985). Apparent resistance of groundnut cultivar Robut 33-1 to bud necrosis disease. *Plant Disease*, 69, 718-719.
- Anderer, F.A., Uhlig, H., Weber, E. and Schramm, G. (1960). Primary structure of the protein of tobacco mosaic virus. *Nature (London)*, 186, 922-925.
- Anonimus (2013). *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Begomovirus*, *Geminiviridae*. Virus koji predstavlja potencijalnu opasnost za paradajz. Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Uprava za zaštitu bilja.
- Antignus, Y., Klein, M., Ovadia, S. (2008). The use of insecticides to control maize rough dwarf virus (MRDV) in maize. *Annals of Applied Biology*, 110, 557-562.
- Anzola, J.V., Xu, Z., Asamizu, T. and Nuss, D.L. (1987). Segment-specific inverted repeats found adjacent to conserved terminal sequences in wound tumor virus genome and defective interfering RNAs. *Proc. Natl Acad. Sci., USA* 84, 8301-8305.
- Aparicio, F., Myrta, A., Di Terlizzi, B., and Pallás, V. (1999). Molecular variability among isolates of *Prunus necrotic ringspot virus* from different *Prunus* spp. *Phytopathology*, 89, 991-999.
- Aramburu, J., Galipienso, L., Soler, S., Rubio, L., López, C. (2015). A severe symptom phenotype in pepper cultivars carrying the *Tsw* resistance gene is caused by a mixed infection between resistance-breaking and non-resistance-breaking isolates of *Tomato spotted wilt virus*. *Phytoparasitica*, 43,597-605.
- Arguello-Astorga, G.R., Guevara-Gonzalez, R.G., Herrera- Estrella, L.R. and Rivera-Bustamante, R.F. (1994). Geminivirus replication origins have a group-specific organization of iterative elements: a model for replication. *Virology*, 203, 90-100.
- Asher, M.J.C. and Kerr, S. (1996). Rhizomania: Progress with resistant varieties. *Brit. Sugar*, 64, 19-22.
- Atabekov, J.G., Dorokhov, Yu.L. and Taliansky, M.E. (1983). A virus- coded function responsible for the transport of virus genome from infected to healthy cells. *Tag. ungs ber. Akad. Landwirtschafts. DDR* 216, 53-58.
- Atabekov, J.G., Novikov, V.K. (1989). *Barley stripe mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 344, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

## B

- Babović, M. (1965). Viroze lucerke u Jugoslaviji. *Agrohemija*, 12, 701-707.
- Babović, M. (2003). Osnovi patologije biljaka. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Bachman, E. J., Scott, S. W., Xin, G., and Vance, V. B. (1994). The complete nucleotide sequence of *Prune dwarf ilarvirus* RNA 3: Implications for coat protein activation of genome replication in *Iilarviruses*. *Virology*, 201, 127-131.
- Bagi, F., Berenji, J., Jasnić, S. (2002). Osetljivost različitih genotipova gajenog sirka prema virusu mozaične kržljivosti kukuruza. Eko-konferencija sa međunarodnim učešćem, Zdravstveno bezbedna hrana, monografija, Novi Sad, 25-28.09. 329-334.
- Bagi, F., Berenji, J., Jasnić, S. (2002a). Reakcija genotipova sirka metlaša (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) sa Krish genom otpornosti na prirodnu infekciju sa virusom mozaične kržljivosti kukuruza. *Letopis naučnih radova*, 26, 51-59.



- Bagi, F., Berenji, J., Jasnić, S., Stojšin, V. (2004). Otpornost genotipova sirka metlaša prema virusu mozaične kržljivosti kukuruza. *Pesticidi i fitomedicina*, 19, 167-172.
- Bagi, F. (2006). Viroze gajenog sirka u Vojvodini. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Bagi, F., Gvozdanović Varga, J., Budakov, D., Stojšin, V., Jančićević, M., Šantić, M., Jasnić, S. (2010). Zaraženost belog luka virusom žute patuljivosti luka (OYDV) i virusom žute prugavosti praziluka (LYMV). X savetovanje o zaštiti bilja, 29.11-03.12., Zlatibor, 57-58.
- Bagi, F., Gvozdanović-Varga, J., Budakov, D., Stojšin, V., Jančićević, M., Šantić, M., Jasnić, S. (2011): Intenzitet zaraze belog luka virusom žute patuljivosti crnog luka (OYDV) i virusom žute prugavosti praziluka (LYMV). *Biljni lekar*, 39, 389-393.
- Bagi, F., Bese, G., Budakov, D., Ognjanov, V., Ljubojević, M., Váczi, A., Stojšin, V. (2012). Testing of rootstocks for sweet cherry for prune dwarf virus. *Biljni lekar*, 40, 498-502.
- Bagi, F. Gvozdanović-Varga, J., Budakov, D., Stojšin, V. Moh. A. El Swaeh, S. (2012a). Effect of Onion yellow dwarf virus (OYDV) on yield components of fall garlic (*Allium sativum* L.) in Serbia. *African Journal of Agricultural Research*, 7, 2386-2390.
- Balachandran, A., Osmond, C.B., Makino, A. (1994). Effects of two strains of *Tobacco mosaic virus* on photosynthetic characteristics and nitrogen partitioning in leaves of *Nicotiana tabacum* cv Xanthi during photoacclimation under two nitrogen nutrition regimes. *Plant Physiol.*, 104, 1043-1050.
- Balaž, F., Balaž, J., Tošić, M., Stojšin, V., Bagi, F. (2010): Fitopatologija. Bolesti ratarskih i povrtarskih biljaka. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Baltimore, D. (1971). Expression of animal virus genomes. *Bacteriol. Rev.*, 35, 235-241.
- Bandyopadhyay, A., Kopperud, K., Anderson, G., Kate Martin, K, and Goodin M. (2010). An integrated protein localization and interaction map for *Potato yellow dwarf virus*, type species of the genus *Nucleorhabdovirus*. *Virology*, 402, 61-71
- Barba, M., Ragozzino, E., and Faggioli, F. (2007). Pollen transmission of *Peach latent mosaic viroid*. *Journal of Plant Pathology*, 89, 287-289.
- Bar-Joseph, M., Roistacher, C.N., Garnsey, S.M. (1983). The epidemiology and control of citrus tristeza disease. In: Plant virus epidemiology (Ed. by Plumb, R.T.; Thresh, J.M.), pp. 61-72. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Bar-Joseph, M., Lee, R.F. (1989). Citrus tristeza virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 353, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Baratova, L.A., Grebenshchikov, N.I., Dobrov, E.N., Gedrovich, A.V., Kashirin, I.A., Shiskov, A.V., Efimov, A.V., Jarvekulg, L., Radavsky, Y.L. (1992). The organization of potato virus X coat proteins in virus particles studied by tritium planigraphy and model building. *Virology*, 188, 175-180.
- Barba, M., Pasquini, G. & Quacquarelli, A. (1986). Role of seeds in the epidemiology of two almond viruses. *Acta Hort.*, 193, 127-130.
- Barbara, D.J., Adams, A.E. (1981). *Hop mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Barker, H. and Harrison, B.D. (1986). Restricted distribution of potato leafroll virus antigen in resistant potato genotypes and its effect on transmission of the virus by aphids. *Ann. Appl. Biol.*, 109, 595-604.
- Bartels, R. (1971). *Potato virus A*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 54, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

- Bassi, M. and Favali, M.A. (1972). Electron microscopy of maize rough dwarf virus assembly sites in maize: cytochemical and autoradiographic observations. *J. Gen. Virol.* 16, 153-160.
- Baumann, G., Casper, R., Converse, R.H. (1982) The occurrence of *Apple mosaic virus* in red and black raspberry and in blackberry cultivars. *Acta Horticulturae*, 129, 13-20.
- Bawden, F.C. and Pirie, N.W. (1936). Experiments on the chemical behaviour of *Potato virus X*. *Br. J. Exp. Pathol.*, 17, 64-74.
- Bawden, F.C. and Pirie, N.W. (1937). The isolation and some properties of liquid crystalline substances from solanaceous plants infected with three strains of *Tobacco mosaic virus*. *Proc. R. Soc. London B*, 123, 274-320.
- Bawden, F.C. (1950). Plant viruses and virus diseases. 3<sup>rd</sup> Edit. Chronica Botanica Co. Waltham Mass.
- Bawden, F.C. (1964). *Plant Viruses and Virus Diseases*, 4th edn. Ronald Press, New York.
- Beachy, R.N. and Zaitlin, M. (1975). Replication of tobacco mosaic virus: VI. Replicative intermediate and TMV-RNA- related RNAs associated with polyribosomes. *Virology*, 63, 84-97.
- Beachy, R.N., Loesch-Fries, S. and Tumer, N.E. (1990). Coat protein-mediated resistance against virus infection. *Annu.Rev.Phytopathol.*, 28, 451-474.
- Beale, F.T.P. (1928). Immunologic reactions with *Tobacco mosaic virus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 25, 602.
- Beck, D.L., Van Dolleweerd, J., Lough, T., Balmori, E., Voot, D.M., Andersen, M.T., O'Brien, I.E.A. and Forstes, R.L. (1994): Disruption of virus movement confers broad-spectrum resistance against systemic infection by plant viruses with triple gene block. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 91, 10310 - 10314.
- Beczner, L. (1968). A lucerna mozaik vírus elterjedése Magyarországon. *Kül. és Kis. Közlöny. Növénytermesztés*, 61, 51-65
- Beemster, A.B.R., de Heij, A. (1984). A method for detecting *Polymyxa betae* and beet necrotic yellow vein virus in soil using sugar-beet as a bait plant. *J Netherlands Journal of Plant Pathology*, 93, 91-93.
- Beier, H., Mundry, K.W. and Issinger, O.G. (1980). In vivo and in vitro translation of the RNAs of four tobamoviruses. *Intervirology*, 14, 292-299.
- Bendahmane, M., Szecsi, J., Chen, I., Berg, H. and Beachy, R. (2002). Characterization of mutant tobacco mosaic virus coat protein that interferes with virus cell-to-cell movement. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 99, 3645-3650.
- Bennet, C. W. (1939). The nomenclature of plant viruses. *Phytopathology*, 29, 422-430.
- Berenji, J., Mijavec, A. and Tošić, M. (1993). Broomcorn breeding for MDMV and anthracnose resistance. 16<sup>th</sup> Conference of Eucarpia Maize and Sorghum. Bergamo.
- Bertolini, E., García, J., Yuste, A., and Olmos, A. (2010). High prevalence of viruses in table grape from Spain detected by real-time RT-PCR. *Eur. J. Plant Pathol.*, 128, 283-287.
- Bese, G., Bóka, K., Krizbai, L. and Takács, A. (2011). First report of *Tomato chlorosis virus* in tomato from Hungary. *Plant Disease*, 95, 363-363.
- Best, R.J. and Katekar, G.F. (1964). Lipid in a purified preparation of *Tomato spotted wilt virus*. *Nature (London)*, 203, 671-672.
- Beier, H., Barciszewska, M., Krupp, G., Mitnacht, R. and Gross, H.J. (1984). UAG readthrough during TMV RNA translation: Isolation and sequence of two tRNA<sup>tyr</sup> with suppressor activity from tobacco plants. *EMBO J.*, 3, 351-356.

- Beijerinck, M.W. (1898). Over een contagium vivum fluidum als oorzaak van de vlekziekte der tabaksbladen. *Versl. Gewone Vergad. Wis. Natuurkd. Afd., K. Akad. Wet. Amsterdam*, 7, 229-235.
- Bird, L.E., Subramanya, H.S. and Wigley, D.B. (1998). Helicases: a unifying structural theme. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 8, 14-18.
- Black, L.M. and Markham, R. (1963). Base pairing in the ribonucleic acid of wound-tumor virus. *Neth. J. Plant Pathol.*, 69, 215.
- Black, L.M. (1970). Wound tumor virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 34, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Black, L.M. (1970a). *Potato yellow dwarf virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 35, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Blanch, E.W., Robinson, D.J., Hecht, L. and Barron, L.D. (2001). A comparison of the solution structures of *Tobacco rattle* and *Tobacco mosaic viruses* from Raman optical activity. *J. Gen. Virol.*, 82, 1499-1502.
- Blanc, S., Schmidt, I., Kuhl, G. (1993). Paracrystalline structure of cauliflower mosaic virus aphid transmission factor produced both in plants and in a heterologous system and relationship with a solubilized active form. *Virology*, 197, 283-292.
- Bleeker, P.M, Diergaarde, P.J., Ament, K., Guerra, J., Weidner, M., Schutz, S., de Both, M.T.J., Haring, M.A., Schuurink, R.C. (2009). The role of specific tomato volatiles in tomato-whitefly interaction. *Plant Physiol.*, 151, 925-935.
- Blencowe, J.W. and Tinsley, T.W. (1951). The influence of density of plant population on the incidence of yellows in sugar beet crops. *Ann. Appl. Biol.* 38, 395-401.
- Blunt, S.J., Asher, M.J.C., Gilligan, C.A. (1992). The effect of sowing date on infection of sugar beet by *Polymyxa betae*. *Plant Pathology*, 41, 148-153.
- Blystad, D.R., Vlugt, R., Alfaro-Fernandez, A., Cordoba, M.C., Bese, G., Hristova, D. (2015). Host range and symptomatology of Pepino mosaic virus strains occurring in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 143, 43.
- Boccaro, M., Hamilton, W.D.O. and Baulcombe, D.C. (1986). The organisation and interviral homologies of genes at the 3' end of tobacco rattle virus RNA1. *EMBO J.*, 5, 223-229.
- Boonham, N., Kreuze, J., Winter, S., van der Vlugt, R., Bergervoet, J., Tomlinson, J., Mumford, R. (2014). Methods in virus diagnostics: From ELISA to next generation sequencing. *Virus Research*, 186, 20-31.
- Borkakati, R. N., Gogoi, R. and Borah, B.K. (2009). Snail: Present perspective to the history of assam. *Journal of Asian Agri History*, 13, 227-234
- Bornemann, K., Varrelmann, M. (2011). Analysis of the resistance-breaking ability of different *Beet necrotic yellow vein virus* isolates loaded into a single *Polymyxa betae* population in soil. *Phytopathology*, 101, 718-724.
- Bornemann, K., Hanse, B., Varrelmann, M., Stevens, M. (2015). Occurrence of resistance-breaking strains of *Beet necrotic yellow vein virus* in sugar beet in northwestern Europe and identification of a new variant of the viral pathogenicity factor. *Plant Pathology*, 64, 25-34.
- Borodynko, N., Hasiow-Jaroszewska, B., Pospieszny, H. (2011). Influence of defective RNAs of *Tomato black ring virus* on symptoms expression. APS, IPPC Joint Meeting, Hawaii, USA, *Phytopathology*, 101, S18
- Bos, L. (1970). *Bean yellow mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 40, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

- Bos, L. (1972). *Soybean mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 93, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Bos, L. (1976). *Onion yellow dwarf virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 158, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Botjes, J.G.O. (1920). De bladrolziekte van de aardappelplant. Proefschr. Landbouwhoogeschool Wageningen.
- Bradley, R.H.E. (1956). Effects of depth of stylet penetration on aphid transmission of *Potato virus Y*. *Can J Microbiol.*, 2, 539–547.
- Bradley, R.H.E., Wade, C.V., Wood, F.A. (1962), Aphid transmission of *Potato virus Y* inhibited by oils. *Virology*, 18, 327–328.
- Bragard, C., Caciagli, P., Lemaire, O., Lopez-Moya, J.J., MacFarlane, S. Peters, D., Susi, P. and Torrance, L. (2013). Status and prospects of plant virus control through interference with vector transmission. *Annual Review of Phytopathology*, Vol. 51: 177-201.
- Brakke, M. K. (1951). Density gradient centrifugation: A new separation technique. *J. Amer. Chem. Soc.*, 73, 1847-1848.
- Brakke, M. K. (1953). Zonal separations by density-gradient centrifugation. *Arch. Biochem.*, 45, 275-290.
- Brakta, A., Thakur, P. D. and Handa A. (2013). First Report of Apple Top Working Disease Caused by Viruses (Apple stem grooving virus, Apple chlorotic leaf spot virus, and Apple stem pitting virus) in Apple in India. *Plant Disease*, 97, 1001-1001.
- Brandes, J. (1964). Identifizierung von gestrecten planzenpathogenen Viereen auf morphologischer Grundlage. *Mitt. biol. BundesAnst. Land. Forstw.*, 110, 130.
- Bristow, P.R., Martin, R.R., Windom, G.E. (2000). Transmission, field spread, cultivar response, and impact on yield in highbush blueberry infected with blueberry scorch virus. *Phytopathology*, 90, 474-479.
- Brlansky, R. H., Damsteegt, V. D., Howd, D. S., and Roy, A. (2003). Molecular analyses of *Citrus tristeza virus* subisolates separated by aphid transmission. *Plant Disease*, 87, 397-401.
- Broadbent, L., Gregory, P.H. and Tinsley, T.W. (1950). Rouging potato crops for virus diseases. *Ann. Appl. Biol.*, 4, 640-650.
- Broadbent, L., Tinsley, T.W., Buddin, W., Roberts, E.T. (1951). The spread of lettuce mosaic in the field. *Ann. Appl. Biol.*, 38, 689–706.
- Broadbent, L., Gregory, P.H. and Tinsley, T.W. (1952). The influence of planting date and manuring on the incidence of virus diseases in potato crops. *Ann. Appl. Biol.*, 39, 509-524.
- Broadbent, L. (1957). Investigations of virus diseases of brassica crops. A.R.C. Report Series No. 14. Cambridge University Press, London
- Broadbent, L., and Fletcher, J.T. (1963). The epidemiology of tomato mosaic. IV Persistence of the virus on clothing and glasshouse structures. *Ann. Appl. Biol.*, 52, 233-241.
- Brown, D.J.F. and Trudgill, D.L. (1988). Nematode transmission of plant viruses-a 30 year perspective. *Scottish Crop Research Institute. Ann. Rep. 1997/1998. Invergowrie*, 121-125.
- Brown, D.J.F. (1989). Virus transmitted by nematodes. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 19, 453-461.
- Brown, J.E., Dangler, J.M., Woods, F.M., Henshaw, M.C., Griffy, W.A., West, M.W. (1993). Delay in mosaic virus onset and aphid vector reduction in summer squash grown on reflective mulches. *Hortic Sci.*, 28, 895–896.
- Bruening G. (1998): Plant gene silencing regularized. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 95, 13349-13351.

- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. and Zurcher, E.J. (eds.) (1996). Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20<sup>th</sup> August 1996. URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- Buck, K.W. (1996). Comparison of the replication of positive- stranded RNA viruses of plants and animals. *Adv. Virus Res.*, 47, 159-251.
- Budakov, D., Dragičević, M., Đuragin, N., Marković, V., Gerić, S., Bagi, F. (2015). Testiranje slabobujnih podloga za trešnju i višnju na prisustvo virusa. *Biljni lekar*, 43, 468-471.
- Bulajić, A., Krstić, B., Ivanović, M. (2008). Important onion diseases and control measures. *Biljni lekar*, 36, 103-113.
- Bulajić, A., Djekić, I., Jović, J., Krnjajić, S., Vučurović, A., and Krstić, B. (2009). Incidence and distribution of *Iris yellow spot virus* on onion in Serbia. *Plant Disease*, 93, 976-982.
- Bulajić, A., Vučurović, A., Stanković, I., Ristić, D., Berenji, J., & Krstić, B. (2010). Novel approaches to implementation of pumpkin resistance in control of viral diseases. *Pesticidi i fitomedicina*, 25, 201-211.
- Bulajić, A., Stanković, I., Vučurović, A., Ristić, D., Milojević, K., Trkulja, V., Krstić, B. (2012). *Iris yellow spot virus* - emerging pathogen and serious threat for the production of *Allium* species. Proceedings of „International Symposium on Current Trends in Plant Protection“, Belgrade, Serbia, 231-238.
- Bulajić, A., Stanković, I., Vučurović, A., Ristić, D., Milojević, K., Ivanović, M., Krstić, B. (2013). *Tomato spotted wilt virus* - Potato Cultivar Susceptibility and Tuber Transmission. *American Journal of Potato Research*, 91, 186-194.
- Butler, P.J.G. and Klug, A. (1971). Assembly of the particle of tobacco mosaic virus from RNA and disks of protein. *Nature (London)*, 229, 47-50.
- Buzkan, N., Minafra, A., Saldarelli, P., Castellano, A., Dell'Orco, M., Martelli, G.P., Gölles, R., Machado, M.L.C. (2001). Heterologous encapsidation in non-transgenic and transgenic *Nicotiana* plants infected by *Grapevine viruses A* and *B*. *Journal of Plant Pathology*, 83, 37-43.
- Byamukama, E., Tatineni, S., Hein, G., McMechan, J. and Wegulo, S. N. (2016). Incidence of *Wheat streak mosaic virus*, *Triticum mosaic virus*, and *Wheat mosaic virus* in wheat curl mites recovered from maturing winter wheat spikes. *Plant disease*, 100, 318-323.

## C

- CABI (2015). Invasive species compendium. Datasheets, maps, images, abstracts, and full text on invasive species of the world. <http://www.cabi.org>
- CABI (2016). Plantwise, CABI-led initiative. <http://www.plantwise.org/>
- Campbell, A. I. (1963). The effect of some latent virus infections on the crop and cropping of apples. *J. Hort. Sci.*, 38: 15-19.
- Camerini-Otero, R.D., Posey, P.N., Koppel, D.E., Schaefer, D.W. and Franklin, R.M. (1974). Intensity fluctuation spectroscopy of laser light scattered by solutions of spherical viruses: R17, Q, BSV, PM2 and T7: II. Diffusion coefficients, molecular weights, salvation, and particle dimensions. *Biochemistry*, 13, 960-970.
- Campbell, R.N. (1971). *Squash mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 43, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Canady, M.A., Larson, S.B., Day, J. and McPherson, A. (1996). Crystal structure of *Turnip yellow mosaic virus*. *Nat. Struct. Biol.*, 3, 771-781.

- Cann, H.J. (1952). Bunchy top virus of bananas' at all time low' in New South Wales. *Agr Gaz.*, 63, 73–76.
- Carrillo-Tripp, M., Shepherd, C.M., Borelli, I.A., Venkataraman, S., Lander, G., Natarajan, P., Johnson, J.E., Brooks, C.L. III and Reddy, V.S. (2009). VIPERdb2: an enhanced and web API enabled relational database for structural virology. *Nucleic Acid Research*, 37, D436-D442.
- Carrington, J.C. and Dougherty, W.G. (1987a). Small nuclear inclusion protein encoded by a plant potyvirus genome is a protease. *J. Virol.*, 61, 2540-2548.
- Carrington, J.C. and Dougherty, W.G. (1987b). Processing of the tobacco etch virus 49K protease requires autoproteolysis. *Virology*, 160, 355-362.
- Carrington, J.A. and Freed, D.D. (1990). Cap-dependent enhancement of translation by a plant potyvirus 5' nontranslated region. *J. Virol.*, 64, 1590-1597.
- Carter, W. (1973). Insects in relation to plant disease. 2nd ed. New York, Wiley-Interscience, 759.
- Cartwright, B., Smale, C.J., Brown, F. and Hull, R. (1972). Model for vesicular stomatitis virus. *J. Virol.*, 10, 256-260.
- Caspar, D.L.D. and Klug, A. (1962). Physical principles in the construction of regular viruses. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 27, 1-24.
- Cassone, B.J., Wijeratne, S., Michel, A.P., Stewart, L.R., Chen, Y., Yan, P., Redinbaugh, M.G. (2014). Virus-independent and common transcriptome responses of leafhopper vectors feeding on maize infected with semi-persistently and persistent propagatively transmitted viruses. *BMC Genomics*, 15, 133.
- Castle, S. J., Perring, T. M., Farrar, C. A., and Kishaba, A. N. (1992). Field and laboratory transmission of *Watermelon mosaic virus 2* and *Zucchini yellow mosaic virus* by various aphid species. *Phytopathology*, 82, 235- 240.
- Catley, A. (1987). Outbreaks and new records. Australia: eradication of potato spindle tuber viroid. *FAO Plant Protection Bulletin*, 35, 32.
- Celebi-Toprak, F., Thompson, J.R., Perry, K.L., Fuchs, M. (2013). *Arabidopsis mosaic virus* in grapevines in New York State. *Plant Disease*, 97, 849.
- Cembali, T., Folwell, R.J., Wandschneider, P., Eastwell, K.C., Howell, W. (2003). Economic implications of a virus prevention program in deciduous tree fruits in the US. *Crop protection*, 22, 1149-1156.
- Cerni, S., Skoric, D., Ruscic, J., Krajacic, M., Papic, T., Djelouah, K., Nolasco, G. (2009). East Adriatic—a reservoir region of severe Citrus tristeza virus strains. *Eur J Plant Pathol*, 124, 701–706.
- Champness, J.N., Bloomer, A.C., Bricogne, G., Butler, P.J.G. and Klug, A. (1976). The structure of the protein disk of tobacco mosaic virus to 5 Å resolution. *Nature (London)*, 259, 20-24.
- Chapman, M. and Kao, C. (1999). A minimal RNA promoter for minus-strand RNA synthesis by brome mosaic virus polymerase complex. *J. Mol. Biol.*, 286, 709-720.
- Chauhan, R. P., Hamon, H. F., Rajakaruna, P., Webb, M. A., Payton, M., and Verchot, J. (2015). Reliable detection for *Bean yellow mosaic virus*, *Canna yellow streak virus*, and *Canna yellow mottle virus* in canna varieties with red foliage. *Plant Disease*, 99, 188-194.
- Chauvin, C, Jacrot, B., Lebourier, G. and Hirth, L. (1979). The structure of *Cauliflower mosaic virus*: a neutron diffraction study. *Virology*, 96, 640-641.

- Chellappan, P., Vanitharani, R., Ogbe, F., Fauquet, C.M. (2005). Effect of temperature on geminivirus-induced RNA silencing in plants. *Plant Physiol*, 138, 1828-1841
- Chen, H. and Ahlquist, P. (2000). *Brome mosaic virus* polymerase like protein 2a is directed to the endoplasmic reticulum by helicase-like viral protein. *J. Virol.*, 74, 4310-4318.
- Chen, G., Pan, H., Xie, W., Wang, S., Wu, Q., Fang, Y., Sh, X., Zhang, Y. (2013). Virus infection of a weed increases vector attraction to and vector fitness on the weed. *Scientific reports, Scientific Reports*, 3, Article no: 2253.
- Cheng, R.H., Olson, N.H., Baker, T.S. (1992). *Cauliflower mosaic virus*: a 420 subunit (T = 7), multilayer structure. *Virology*, 186, 655-68.
- Cheong, E.J., Jeon, A.R., Kang, J.W., Mock, R. Kinard, G., Li, R. (2014). In vitro elimination of *Black raspberry necrosis virus* from black raspberry (*Rubus occidentalis*). *Hort. Sci. (Prague)*, 41, 95-99.
- Chester, K.S. (1936). Separation and analysis of virus strains by means of precipitin tests. *Phytopathology*, 26, 778-785.
- Childress, A.M. and Ramsdell, D.C. (1987). Bee-mediated transmission of *Blueberry leaf mottle virus* via infected pollen in highbush blueberry. *Phytopathology*, 77, 167.
- Chirkov, S., Ivanov, P., Sheveleva, A. (2013). Detection and partial molecular characterization of atypical *Plum pox virus* isolates from naturally infected sour cherry. *Archives of Virology*, 158, 1383-1387.
- Choi, Y.G., Rao, A.L.N. (2003). Packaging of brome mosaic virus RNA3 is mediated through a bipartite signal. *J Virol*, 77, 9750-9757.
- Choi, J., Phat, C., Kim, E., Kim, M., Lee, G.P., Ryu, K.-H., Lee, C. (2015). Improved detection of *Cucumber mosaic virus* coat protein (CMV-CP) in genetically modified pepper (*Capsicum annuum*) using a polyclonal antibody to a synthetic CP peptide. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 56, 316-323.
- Chowrira, G.M., Cavileer, T.D., Gupta, S.K., Lurquin, P.F., Berger, P.H. (1998). Coat protein-mediated resistance to *Pea enation mosaic virus* in transgenic *Pisum sativum* L. *Transgenic Research*, 7, 265-271.
- Chrzanowska, M. (1976). Variation in symptoms caused by potato virus M on the potato variety Uran. *Potato Research*, 19, 141-146.
- Chung, B.N., Yoon, J.Y., Palukaitis, P. (2013). Engineered resistance in potato against potato leafroll virus, potato virus A and potato virus Y. *Virus genes*, 47, 86-92.
- Ciafardani, G. (1991). Evaluation of *Polymyxa betae* Keskin contaminated by *Beet necrotic yellow vein virus* in soil. *Appl Environ Microbiol.*, 57, 1817-1821.
- Clark, M.F. and Adams, A.N. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.*, 34, 475-483.
- Clover, G. R. G., Pearson, M. N., Elliot, D. R., Tang, Z., Smales, T. E. and Alexander, B. J. R. (2003). Characterization of a strain of apple stem grooving virus in *Actinidia chinensis* from China. *Plant Pathol.*, 52, 371-378.
- Coast, E.M. and Chant, S.R. (1970): The effect of light wavelength on the susceptibility of plants to virus infection. *Annals of Applied Biology*, 65, 403-409.
- Cocking, C. (1966). An electron microscope study of the initial stages of infection of isolated tomato fruit protoplasts by *Tobacco mosaic virus*. *Planta*, 68, 206-214.
- Cohen, S., Marco, S. (1979). Reducing virus spread in vegetables and potato by net cover. *Phytoparasitica*, 7, 40-41.

- Cohen, S., Antignus, Y. (1994). *Tomato yellow leaf curl virus*—a whitefly-borne geminivirus of tomatoes. *Adv. Dis. Vector Res.*, 10, 259–288.
- Cohen, J., Gera, A., Ecker, R., Ben-Joseph, R., Perlsman, M., Gokkes, M., Lachman, O., Antignus, Y. (1995). Lisianthus leaf curl - a new disease of lisianthus caused by *Tomato yellow leaf curl virus*. *Plant Disease*, 79, 416-420.
- Cohn, E., Tanne, E., and Nitzany, F. E. (1970). *Xiphinema italiae*, a new vector of *Grapevine fanleaf virus*. *Phytopathology*, 60, 181-182.
- Conci, V., Canavelli, A., Lunello, P., Rienzo, J., Nome, S.F., Zumelzu, G., R. Italia (2003). Yield losses associated with virus-infected garlic plants during five successive years. *Plant Disease*, 87, 1411-1415.
- Constable, F. and Rodoni, B. (2011). Grapevine fleck and associated viruses. Australian Government, Grape and Wine Research Development Corporation. Fact Sheet, July, 1-4.
- Conti, M., Milne, R.G. (1985). *Closterovirus* associated with leafroll and stem pitting in grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, 24, 110-113.
- Conti, G., Rodriguez, M. C., Manacorda, C. A. and Asurmendi, S. (2012). Transgenic expression of *Tobacco mosaic virus* capsid and movement proteins modulate plant basal defense and biotic stress responses in *Nicotiana tabacum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25, 1370–1384.
- Converse, R.H., Casper, R. (1975). A member of the *Apple mosaic virus* group occurring in *Rubus*. *Acta Horticulturae*, 44, 63.
- Córdoba, M.C., Martínez-Priego, L., Jordá, C. (2004). New natural hosts of *Pepino mosaic virus* in Spain. *Plant Disease*, 88, 906.
- Córdoba-Sellés C., Martínez-Priego, L., Muñoz-Gómez, R., Jordá-Gutiérrez, C. (2005). *Iris yellow spot virus*: a new onion disease in Spain. *Plant Disease*, 89, 1243.
- Costa, A.S., de Silva, D.M., Duffus, J.E. (1958). Plant virus transmission by a leaf-miner fly. *Virology*, 5, 145-149.
- Costa, A.S. and Muller, G.W. (1980). *Tristeza* control by crossprotection: a U.S.-Brazil cooperative success. *Plant Disease*, 64, 538-541.
- Coutts, B.A., Prince, R.T., Jones, R.A.C. (2009). Quantifying the effects of seed-borne virus inoculum on virus spread, yield losses and seed infection in the Pea seed-borne mosaic virus—field pea pathosystem. *Phytopathology*, 10, 1156–1167.
- Coutts, B. A., Kehoe, M. A., and Jones, R. A. C. (2013). *Zucchini yellow mosaic virus*: Contact transmission, stability on surfaces, and inactivation with disinfectants. *Plant Disease*, 97, 765-771.
- Crick, F.H.C. and Watson, J.D. (1956). Structure of small viruses. *Nature (London)*, 177, 473-475.
- Cronshaw, J., Hoefert, L. and Esau, K. (1966). Ultrastructural features of *Beta* leaves infected with *Beet yellows virus*. *J. Cell Biol.*, 31, 429-443.
- Crowther, R.A., Geelen, J.L.M.C. and Mellema, J.E. (1974). A three- dimensional image reconstruction of *Cowpea mosaic virus*. *Virology*, 57, 20-27.
- Cui, H., Hong, N., Wang, G. and Wang, A. (2012). Molecular characterization of two *Prunus necrotic ringspot virus* isolates from Canada. *Arch Virol*, 157, 999–1001.
- Cui, X. Y., Shen, L., Yuan, X. X., Gu, H. P. and Chen X. (2014). First report of *Bean common mosaic virus* infecting mungbean (*Vigna radiata*) in China. *Plant Disease*, 98, 1590-1590.



## Č

Čepin, U., Gutiérrez-Aguirre, I., Balažic, L., Pompe-Novak, M., Gruden, K., Ravnikar, M. (2010). A one-step reverse transcription real-time PCR assay for the detection and quantitation of *Grapevine fanleaf virus*. *Journal of Virological Methods*, 170, 47-56.

## D

Dallot, S., Gottwald, T., Labonne, G., Quiot, J.B. (2004). Factors Affecting the Spread of Plum pox virus Strain M in Peach Orchards Subjected to Roguing in France. *Phytopathology*, 94, 1390-1398.

Dalmasso, A., Boubals, D., Bongiovanni, M., Pistre, R. (1972). Distribution of nematode vectors of fanleaf in vineyards of southern France. *Progr. Agric. Vitic.*, 89, 456–462.

D'Arcy, C.J., (1995). Symptomatology and host range of barley yellow dwarf. In: D'Arcy CJ, Burnett PA, eds. *Barley Yellow Dwarf - 40 Years of Progress*. St. Paul, USA: APS Press, 9-28.

D'Arcy, C.J. and Domier, L.L. (2000). Barley yellow dwarf. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1103-01, Updated 2005.

Daros, J.A. and Carrington, J.C. (1997). RNA-binding activity of NIa proteinase of tobacco etch potyvirus. *Virology*, 237, 327-336

Daros, J.A., Schaad, M.C. and Carrington, J.C. (1999). Functional analysis of the interaction between VPg-proteinase (NIa) and RNA polymerase (Nib) of tobacco etch potyvirus, using conditional and suppressor mutants. *J. Virol.*, 73, 8732-8740.

Daubeny, H. A., Freeman, J.A., Stage-Smith, R. (1970). Effects of virus infection on drupelet set of four Red Raspberry cultivars. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 95, 730-731.

Daubeny, H.A., Freeman, J.A., Stage-Smith, R. (1975). Effects of *Tomato ringspot virus* on drupelet set of red raspberry cultivars. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 55, 755-759.

Daubert, S.D., Richins, R., Shepherd, R.J. and Gardner, R.C. (1982). Mapping of the coat protein gene of cauliflower mosaic virus by its expression in a prokaryotic system. *Virology*, 122, 444-449.

Davies, J.W. (1979). Translation of plant virus ribonucleic acids in extracts from eukaryotic cells. In T.C. Hall and J.W. Davies (eds) *Nucleic Acids in Plants*, Vol. 2, pp. 111-149. CRC Press, West Palm Beach, FL

Davino, S., Bivona, L., Iacono, G., Davino, M. (2010). First report of *Tomato torrado virus* infecting tomato in Italy. *Plant Disease*, 94, 1172.

Davis, J. A., and Radcliffe, E. B. (2008). The importance of an invasive aphid species in vectoring a persistently transmitted potato virus: *Aphis glycines* is a vector of *Potato leafroll virus*. *Plant Disease*, 92, 1515-1523.

Dawson, W.O. and Schlegel, D.E. (1976). The sequence of inhibition of TMV synthesis by actinomycin D, 2-thiouracil and cycloheximide in a synchronous infection. *Phytopathology*, 66, 177-181.

Dawson, W.O. (1978). Time-course of actinomycin D inhibition of tobacco mosaic virus multiplication relative to the rate of spread of the infection. *Intervirology*, 9, 304-309.

De Assis Filho, F.M., Sherwood, J.L. (2000). Evaluation of seed transmission of *Turnip yellow mosaic virus* and *Tobacco mosaic virus* in *Arabidopsis thaliana*. *Phytopathology*, 90, 1233–1238

- De Bokx, J.A. and Huttinga, H. (1981). *Potato virus Y*. Descriptions of plant viruses, No. 242. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- De Buck A., Stijger I., (2002). Schade door Pepinomazaïekvirus Onderzoek en Aanbevelingen. Report no. 539. Wageningen, the Netherlands: Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Sector Glastuinbouw
- De Cara, M., López, V., Córdoba, M. C., Santos, M., Jordá, C., and Tello, J. C. (2008). Association of *Olpidium bornovanus* and *Melon necrotic spot virus* with vine decline of melon in Guatemala. *Plant Disease*, 92, 709-713.
- Decroocq, V., Foulongne, M., Lambert, P., Le Gall, O., Mantin, C., Pascal, T., Schurdi-Levraud, V. and Kervella, J. (2005). Analogues of virus resistance genes map to QTLs for resistance to sharka disease in *Prunus davidiana*. *Mol. Genet. Genomics*, 272, 680-689.
- Deiman, B.A.L.M., Kortlever, R.M. and Pleij, C.W.A. (1997b). The role of the pseudoknot at the 3' end of turnip yellow mosaic virus RNA in minus-strand synthesis by the viral RNA-dependent RNA polymerase. *J. Virol.*, 71, 5990-5996.
- De Jager, C.P (1976). Genetic analysis of cowpea mosaic virus mutants by supplementation and reassortment tests. *Virology*, 70, 151-163.
- De Koeijer, K.J. and van der Werf, W. (1999). Effects of *Beet yellows virus* and *Beet mild yellowing virus* on leaf area dynamics of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Field Crops Research*, 61, 163-177.
- Delibašić, G., Tanović, B., Hrustić, J., Stanković, I., Bulajić, A., Vučurović, A., Krstić, B. (2013). First report of the natural infection of *Robinia pseudoacacia* with *Alfalfa mosaic virus*. *Plant Disease*, 97, 851.
- Delić, D., Jovanović-Cvetković, T., and Đurić, G. (2007). Presence and distribution of *Grapevine leafroll-associated virus 1 and 3* in Bosnia and Herzegovina. *Pesticidi i fitomedicina*, 22, 45-50.
- Dempsey, D'M.A., Silva H. and Klessig D. F. (1998): Engineering disease and pest resistance in plants. *Trends in Microbiol.*, 6, 54-61.
- Demski, J.W. and Kuhn, C.W. (1989). *Tobacco ringspot virus*. In: Compendium of soybean diseases (3rd edition), pp. 57-59. American Phytopathological Society, St. Paul, USA.
- Denloye, A.O., Homer, R.B. and Hull, R. (1978). Circular dichroism studies on *Turnip rosette virus*. *J. Gen. Virol.*, 41, 77-85.
- Desbiez, C., Costa, C., Wipf-Scheibel, C., Girard, M. and Lecoq, H. (2007). Serological and molecular variability of *Watermelon mosaic virus* (genus *Potyvirus*). *Archives of Virology*, 152, 775-781.
- Desbiez, C. and Lecoq, H. (1997). *Zucchini yellow mosaic virus*. *Plant Pathology*, 46, 809-829.
- De Sequeira, O.A. and Posnette, AF (1969). Apple stem gooving. In: Virus diseases of apples and pears. *Commonw. Bur. Hort. Pl. Crops. Tech. Commun.* No. 30, Suppl. 2/3/4, 76a-76d.
- Desjardins, P.R., Drake, R.J. and French, J.V. (1969). Transmission of *Citrus ringspot virus* to citrus and non-citrus hosts by dodder (*Campestris subinclusa*). *Plant Dis. Rep.*, 53, 947-948.
- Desvignes, J. C., Boyé, R., Grasseau, N. (1998). Varietal susceptibility to the apple scar skin viroid. *Arboriculture Fruitière*, 515, 17-20.
- Desvignes, J. C., Grasseau, N., Boyé, R., Cornaggia, D., Aparicio, F., Di Serio, F., and Flores, R. (1999). Biological properties of apple scar skin viroid: Isolates, host range,

- different sensitivity of apple cultivars, elimination, and natural transmission. *Plant Disease*, 83, 768-772.
- De Wijs, J.J. (1980). The characteristics of mineral oils in relation to their inhibitory activity on the aphid transmission of potato virus Y. *Neth. J. Plant Pathol.* 86, 291-300.
- De Zoeten, G.A., Gaard, G. and Diez, F.B. (1972) Nuclear vesiculation associated with *Pea enation mosaic virus*-infected plant tissue. *Virology*, 48, 638-647.
- Dhingra, K.L. (1972). Transmission of *Apple mosaic* by natural root grafting. *Indian Journal of Horticulture*, 29, 348-350.
- Dhir, S., Tomar, M. Thakur, P.D., Ram, R., Hallan, V. and Zaidi, A.A. (2009). Molecular evidence for *Apple stem pitting virus* infection in India. *New Disease Reports*, 19, 45.
- Di, R., Purcell, V., Collins, G.B., Ghabrial, S.A. (1996). Production of transgenic soybean lines expressing the bean pod mottle virus coat protein precursor gene. *Plant Cell Reports*, 15, 746-750.
- Di, R., Hu, C.C., Ghabrial, S.A. (1999). Complete nucleotide sequence of *Bean pod mottle virus* RNA1: sequence comparisons and evolutionary relationships to other *Comoviruses*. *Virus Genes*, 18, 129-137.
- Dias, H.F., Cation, D. (1976). The characterization of a virus responsible for peach rosette mosaic and grape decline in Michigan. *Canadian Journal of Botany*, 54, 1228-1239.
- Díaz-Pendón, J. A., Fernández-Muñoz, R., Gómez-Guillamón, M. L., and Moriones, E. (2005). Inheritance of resistance to *Watermelon mosaic virus* in *Cucumis melo* that impairs virus accumulation, symptom expression, and aphid transmission. *Phytopathology*, 95, 840-846.
- Diaz, A. and Wang, X. (2014). Bromovirus-induced remodeling of host membranes during viral RNA replication. *Curr Opin Virol.*, 9, 104-110.
- Diener, T.O. (1971). *Potato spindle tuber virus*. IV. A replicating, low molecular weight RNA. *Virology*, 45, 411-428.
- Dietzgen, R.G., Callaghan, B., Campbell, P.R. (2007). Biology and genomics of *Lettuce necrotic yellows virus*. *Plant viruses*, 1, 85-92.
- Di Franco, A., Russo, M. and Martelli, G.P. (1984). Ultrastructure and origin of cytoplasmic multivesicular bodies induced by *Carnation italian ringspot virus*. *J. Gen. Virol.*, 65, 1233-1237.
- Di Franco, A. and Martelli, G.P. (1987). Some observations on the ultrastructure of *Galinsoga mosaic virus* infections. *Phytopathol. Mediterr.*, 26, 54-56.
- Dijkstra, J. i de Jager, C. P. (1998). UV Light Absorption. U: Practical Plant Virology: Protocols and Exercises. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 277-283
- Dinant, S., Lot, H., Albouy, J., Kuziak, C., Meyer, M., Astier-Manifacier, S. (1991). Nucleotide sequence of the 3' terminal region of lettuce mosaic potyvirus RNA shows a Gln/Val dipeptide at the cleavage site between the polymerase and the coat protein. *Archives of Virology*, 116, 235-252.
- Di Serio, F., Schoeb, H., Iglesias, A., Tarina, C., Bouldoires, E. and Meins, F. (2001). Sense- and antisense-mediated gene silencing in tobacco is inhibited by the same viral suppressors and is associated with accumulation of small RNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 98, 6506-6510.
- Di Serio, F., Flores, R., Verhoeven, J. Th. J., Li, S.-F. , Palla's, V., Randles, J. W., Sano, T., Vidalakis, G., Owens, R. A. (2014). Current status of viroid taxonomy. *Arch Virol.* 159, 3467-3478.

- Donald, M., Bonde, R. (1954). Dissemination of spindle tuber by contaminated tractor wheels and by foliage contact with diseased potato plants. *Phytopathology*, 44, 111
- Dovas, C.I., Hatziloukas, E., Salomon, R., Barg, E., Shibolet, Y., Katis, N.I. (2001). Incidence of viruses infecting *Alliums spp.* in Greece. *Eur. J. Plant Pathol.* 107, 677-684.
- Dovas, C.I., Katis, N.I. and Avgelis, A.V. (2002). Multiplex detection of criniviruses associated with epidemics of a yellowing disease of tomato in Greece. *Plant Disease*, 86, 1345-1349.
- Dovas, C.I., Eythymiou, K. and Katis, N.I. (2003). First report of *Maize rough dwarf virus* (MRDV) on maize crops in Greece. *New Disease Reports*, 8, 17.
- Dowson Day, M.J., Ashurst, J.L., Mathias, S.F., Watts, J.W., Wilson, T.M.A. and Dixon, R.A. (1993). Plant viral leaders influence expression of a reporter gene in tobacco. *Plant Mol. Biol.*, 23, 97-109.
- Duduk, N. I. and Duduk, B. (2013). Some important viruses and phytoplasmas of pepper in Serbia. *Biljni lekar*, 41, 328-340.
- Duijsings, D., Kormelink, R. and Goldbach, R. (1999). *Alfalfa mosaic virus* RNAs serve as cap donors for *Tomato spotted wilt virus* transcription during coinfection of *Nicotiana benthamiana*. *J. Virol.*, 73, 5172-5175.
- Dukić, N., Krstić, B., Katis, N.I., Papavassiliou, C., Berenji, J. i Vico, I. (2001). Etiologija propadanja tikvica (*Cucurbita pepo* L.) u Jugoslaviji. Zbornik rezimea V jugoslovenskog savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, 85.
- Dukić, N., Berenji, J., Krstić, B., Vico, I. & Bulajić, A. (2004). Prisustvo i rasprostranjenost viroza obične tikve (*Cucurbita pepo* L.) u Vojvodini. *Bilten za hmelj, sirak i lekovito bilje*, 35/36, 71-79.
- Dukić, N., Krstić, B., Vico, I., Katis, N.I., Papavassiliou, C. and Berenji, J. (2006). First report of *Zucchini yellow mosaic virus*, *Watermelon mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* in bottlegourd (*Lagenaria siceraria*) in Serbia. *Plant Disease*, 90, 380.
- Dukić, N., Bulajić, A., Berenji, J., Đekić, I., Duduk, B., Krstić, B. (2006a). Presence and distribution of tobacco viruses in Serbia. *Pesticidi i fitomedicina*, 21, 205-214.
- Duriat, A.A., Karyadi, A.K., Miura, M., Sukarna, E. (1990). Influence of border crops on virus incidence of potato tuber. *Bul. Penel. Hortic.*, 19, 94-108.
- Dwyer, G.I., Gibbs, M.J., Gibbs, A.J. and Jones, R.A.C. (2007). *Wheat streak mosaic virus* in Australia: relationship to isolates from the Pacific Northwest of the USA and its dispersion via seed transmission. *Plant Disease*, 91, 164-170.
- Dzahini-Obiatey, H., Domfeh, O., and Amoah, F. M. (2010). Over seventy years of a viral disease of cocoa in Ghana: From researchers' perspective. *African Journal of Agricultural Research*, 5, 476-485.

## Đ

- Đekić, I., Bulajić, A., Jović, J., Krnjajić, S., Vučurović, A., Berenji, J. i Krstić, B. (2008): Učestalost i molekularna detekcija *Cucumber mosaic virus* u usevu duvana. *Bilten za hmelj, sirak i lekovito bilje*, 40, 70-82.
- Đekić, I., Bulajić, A., Vučurović, A., Ristić, D., & Krstić, B. (2008a). Influence of *Tomato spotted wilt virus* uneven distribution on its serological detection in tomato, pepper and ornamentals. *Pesticidi i fitomedicina*, 23, 225-234.

## E

- Eastwell, K.C., Mekuria, T.A., Druffel, K.L. (2012). Complete nucleotide sequences and genome organization of a cherry isolate of cherry leaf roll virus. *Archives of Virology*, 157, 761-764.
- Edwardson, J.R. (1974). Host ranges of viruses in the PVY group. *Fla. Agric. Exp. Stn. Monogr.*, 5, 225 pp.
- Edwardson, J.R., and Christie, R.G. (1986). *Cucumoviruses*. In: Viruses Infecting Forage Legumes. pp: 143–215. J.R. Edwardson and R.G. Christie (eds.). Monogram 14, IFAS, University of Florida, Gainesville, Florida, USA
- EFSA (2013). Scientific opinion on the risk to plant health posed by *Arabid mosaic virus*, *Raspberry ringspot virus*, *Strawberry latent ringspot virus* and *Tomato black ring virus* to the EU territory with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal*, 11, 3377.
- EFSA (2014). Scientific opinion on the risk to plant health posed by *Strawberry crinkle virus* to the EU territory with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal*, 12, 3630.
- Elford, W. J. (1931). A new series of graded collodion membranes suitable for general bacteriological use, especially in filtrable virus studies. *J. Path. Bacteriol.* Edinburg, 34, 505-521.
- Elmer, J.S., Brand, L., Sunter, G., Gardiner, W.E., Bisaro, D.M. and Rogers, S.G. (1988). Genetic analysis of tomato golden mosaic virus: II. The product of the AL1 coding sequence is required for replication. *Nucl. Acids Res.*, 16, 7043-7060.
- Elnagar, S. and Murant, A.F. (1976). The role of the helper virus, anthriscus yellows, in the transmission of *Parsnip yellow fleck virus* by the aphid *Cavariella aegopodii*. *Ann. Appl. Biol.*, 84, 169-181.
- Elnagar, S., Murant, F. (1978). Relations of carrot red leaf and carrot mottle viruses with their aphid vector, *Cavariella aegopodii*. *Ann. appl. Biol.*, 89, 231-244.
- El-Wahab, A.S.A. (2009). Aphid-transmission efficiency of two main viruses on garlic in Egypt, *Onion yellow dwarf virus* (OYDV-G) and *Leek yellow stripe virus* (LYSV-G). *Academic Journal of Entomology*, 2, 40-42.
- EPPO (1994). Certification schemes No. 10, pathogen-tested material of *Rubus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24, 865-874.
- EPPO (1994a) Certification schemes No. 11, Pathogen-tested strawberry. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24 875-889.
- EPPO (1998). EPPO standards. Certification schemes, pathogen tested material of hop. PM 4/16(1).
- EPPO (1998a). EPPO standars. Certification schemes, pathogen tested material of grapevine varieties and rootstocks. PM 4/1-26.
- EPPO (1998b). EPPO standars. Guidelines on good plant protection practice vegetable brassicas PP 2/7(1).
- EPPO (1999). EPPO standards. Certification schemes, pathogen tested material of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*. PM 4/27(1).
- EPPO (1999a). EPPO standards. Certification schemes. Seed potatoes. PM 4/28(1).
- EPPO (2000). EPPO standards. Schemes for the production of healthy plants for planting Certification scheme for cherry. PM 4/29(1).

EPPO (2000a). EPPO standards. Schemes for the production of healthy plants for planting Certification scheme for almond, apricot, peach and plum. PM 4/30(1).

EPPO (2005). *Blueberry scorch carlavirus*. EPPO datasheet. EPPO RS 2005/101, 2005/145.

EPPO (2014). EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests (version 2014-09). <http://www.eppo.int/QUARANTINE/listA2.htm>

EPPO (2015). PQR - EPPO database on quarantine pests (available online). <http://www.eppo.int>

EPPO (2015a). Data Sheets on Quarantine Pests, Prepared by CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003.

Esau, K., Cronshaw, J. and Hoefert, L.L. (1966). Organisation of beet- yellows inclusions in leaf cells of *Beta*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 55, 486-493.

Esau, K. and Cronshaw, J. (1967). Relation of *Tobacco mosaic virus* with host cells. *J. Cell Biol.*, 33, 665-678.

Estabrook, E., Tsai, J. and Falk, B.W. (1998). In vivo transfer of barley stripe mosaic hordeivirus ribonucleotides to the 5' terminus of maize stripe tenuivirus RNAs. *Proc. Natl Acad. Sci., USA* 95, 8304-8309.

## F

Faccioli, G. and Marani, F. (1998). Virus elimination by meristem tip culture and tip micrografting. Breeding for resistance to plant viruses. In: A. Hadidi, R.K. Khetarpal and H. Koganezawa (eds) *Plant Virus Disease Control*, pp. 346-380. APS Press, St. Paul, MN.

Fagoaga, C., López, C., Hermoso de Mendoza, A., Moreno, P., Navarro, L., Flores, R., Peña, L. (2006). Post-transcriptional gene silencing of the p23 silencing suppressor of *Citrus tristeza virus* confers resistance to the virus in transgenic mexican lime. *Biotechnology and Sustainable Agriculture 2006 and Beyond.*, 211-213.

Fairall, L., Finch, J.I., Hui, C.-F. and Cantor, C.R. and Butler, P.J.G. (1986). Studies of tobacco mosaic virus reassembly with an RNA tail blocked by a hybridised and cross-linked probe. *Eur. J. Biochem.*, 156, 459-465.

Fajardo, T. V. M., Eiras, M., Nickel, O., Dubiela, C. R., Souto, E. R. (2012). Detection and partial molecular characterization of *Grapevine fleck virus*, *Grapevine virus D*, *Grapevine leafroll-associated virus-5* and *-6* infecting grapevines in Brazil. *Ciência Rural*, 42, 2127-2130.

Falk, B.W., Weathers, L.G., Greer, C. (1981). Identification of *Potato yellow dwarf virus* occurring naturally in California. *Plant Disease*, 65, 81-83.

Falk, B.W. and Tian, T. (1999). *Lettuce infectious yellows virus*. Descriptions of plant viruses, No. 369. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.

Fauquet, C.M. (1999). Taxonomy, classification and nomenclature of viruses. In: A. Granoff and R.G. Webster (eds) *Encyclopedia of Virology*, 2nd edn, pp. 1730-1756. Academic Press, New York.

Favali, M.A., Bassi, M. and Appiano, A. (1974). Synthesis and migration of maize rough dwarf virus in the host cell: an autoradiographic study. *J. Gen. Virol.*, 24, 563-565.

Fekih Hassen, I., Massart, S., Motard, J., Roussel, S., Parisi, O., Kummert, J., Fakhfakh, H., Marrakchi, M., Perreault, J.P., Jijakli, M.H. (2007). Molecular features of new *Peach latent mosaic viroid* variants suggest that recombination may have contributed to the evolution of this infectious RNA. *Virology*, 360, 50-57.

Feng, X., Poplowsky, A. R., Nikolaeva, O. V., Myers, J. R., and Karasev, A. V. (2014). Recombinants of Bean common mosaic virus (BCMV) and genetic determinants of BCMV involved in overcoming resistance in common bean. *Phytopathology*, 104, 786-793.

Fenner, F. and Gibbs, A. (1983). Cryptograms - 1982. *Intervirology*, 19, 121-128

Finch, J.T. and Klug, A. (1966). Arrangement of protein subunits and the distribution of nucleic acid in *Turnip yellow mosaic virus*: II. Electron microscopic studies. *J. Mol. Biol.*, 15, 344-364.

Finch, J.T. and Klug, A. (1967). Structure of *Broad bean mottle virus*: 1. Analysis of electron micrographs and comparison with *Turnip yellow mosaic virus* and its top component. *J. Mol. Biol.*, 24, 289-302.

Fiore, N., Zamorano, A., Rivera, L., González, F., Aballay, E., Montealegre, J., and Pino, A. M. (2011). Grapevine viruses in the Atacama region of Chile. *J. Phytopathol.* 159, 743-750.

Fletcher, J. T., George, A. J., Green, D.E. (1969). *Cucumber green mottle mosaic virus*, its effect on yield and its control in the Lea Valley, England. *Plant Pathology*, 18, 16-22.

Flores, R., Hernández, C., Llácer, G., Desvignes, J.C. (1998). *Peach latent mosaic viroid*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 362, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

Flores, R., Delgado, S., Rodio, M.E., Ambrós, S., Hernández, C., Serio, F.D. (2006). *Peach latent mosaic viroid*: not so latent. *Mol Plant Pathol.* 7, 209-221.

Fontes, E.P.B., Eagle, P.A., Sipe, P.S., Luckow, V.A. and Hanley- Bowdoin, L. (1994). Interaction between a geminivirus replication protein and origin DNA is essential for viral replication. *J. Biol. Chem.*, 11, 8459-8465.

Ford, R.E., Tošić, M., Shukla, D.D. (1989). *Maize dwarf mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 341, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

Fortusini, A., Scattini, G., Prati, S., Cinquanta, S., Belli, G., (1997). Transmission of grapevine leafroll virus 1 (GLRV-1) and grapevine virus A (GVA), by scale insects. Extended Abstracts 12th Meeting of ICVG, Lisbon, 121-122.

Foster, T.M., Lough, J.T., Emerson, S.J., Lee, R.H., Bowman, J.L., Forster, R.L.S. and Lucasa, W.J. (2002). A Surveillance System Regulates Selective Entry of RNA into the Shoot Apex. *The Plant Cell*, 14, 1497-1508.

Fraenkel-Conrat, H. (1956). The role of nucleic acid in the reconstitution of active *Tobacco mosaic virus*. *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 882-883.

Franck, A., Guilley, H., Jonard, G., Richards, K., Hirth, L. (1980). Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. *Cell*, 21, 285-294.

Francki, R.I.B. (1980). Limited value of the thermal inactivation point, longevity in vitro and dilution endpoint as criteria for the characterization, identification and classification of plant viruses. *Intervirology*, 13, 91-98.

Francki, R.I.B., Hatta, T., Boccardo, G. and Randles, J.W. (1980). The composition of *Chloris striate mosaic virus*, a geminivirus. *Virology*, 101, 233-241.

Francki, R.I.B., Randles, J.W. and Dietzgen, R.G. (1989). *Lettuce necrotic yellows virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 343, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

Franssen, H., Goldbach, R., Broekhuijsen, M., Moerman, M. and van Kämnen, A. (1982). Expression of middle-component RNA of cowpea mosaic virus: in vitro generation of a precursor to both capsid proteins by a bottom-component RNA- encoded protease from infected cells. *J. Virol.*, 41, 8-17.

- Franssen, H., Leunissen, J., Golbach, R., Lomonosoff, G. and Zimmern, D. (1984). Homologous sequences in non-structural proteins from cowpea mosaic virus and picornaviruses. *EMBO J.*, 3, 855-861.
- Frazier, N.W., Sylvester, E.S., Richardson, J. (1988). Strawberry crinkle. In: Virus diseases of small fruits (Ed. by Converse, R.H.). USDA Agriculture Handbook No. 631.
- Freeman, J.A., Stace-Smith, R., Daubeny, H.A. (1975). Effects of *Tomato ringspot virus* on the growth and yield of red raspberry. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 55, 749-754.
- Freeman, A. (2008). Industry biosecurity plan for the grains industry threat specific contingency plan . *Red clover vein mosaic virus*. 1-20.
- French, R., Janda, M. and Ahlquist, P. (1986). Bacterial gene inserted in an engineered RNA virus: efficient expression in mono- cotyledonous plant cells. *Science*, 231, 1294-1297.
- French, R. and Stenger, D.C. (2002). *Wheat streak mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 393, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Fritsch, C., Koenig, I., Murrant, A.F., Raschke, J.H., Mayo, M.A. (1984). Comparison among satellite RNA species from five isolates of tomato black ring virus and one isolate of myrobalan latent ringspot virus. *Journal of General Virology*, 65, 289-294.
- Fritzsche, R., and Kegler, H. (1968). Nematoden als vektoren von Viruskrankheiten der Obstgewächse. Deutsche Acad. Landwirtsch. Wiss. Berlin 97, 289-295.
- Frosheiser, F.I. (1969). Variable influence of *Alfalfa mosaic virus* strains on growth and survival of alfalfa and on mechanical and aphid transmission. *Phytopathology*, 59, 857-862.
- Fuchs, M. (2003). Transgenic resistance: state of art and perspectives. 14th ICSVG Conference, Locorotondo, 12-17th September, 221-222.
- Fuchs, M., Marsella-Herrick, P., Loeb, G.M., Martinson, T.E., Hoch, H.C. (2009). Diversity of ampeloviruses in mealybug and soft scale vectors and in grapevine hosts from leafroll-affected vineyards. *Phytopathology*, 99, 1177-1184.
- Fukushi, T. (1940). Further studies on the dwarf disease of rice plant. *J. Fac. Agric., Hokkaido Univ.*, 45, 83-154.
- Fulton, R.W. (1970). *Prune dwarf virus*. Descriptions of plant viruses, No. 19. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- Fulton, R.W. (1970a). *Prunus necrotic ringspot virus*. Descriptions of plant viruses, No. 5. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- Fulton, R.W. (1972). *Apple mosaic virus*. Descriptions of plant viruses, No. 83. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- Fulton, R.W. (1984). *American plum line pattern virus*. Descriptions of plant viruses, No. 280. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- Funayama, S., Terashima, I., Yahara, T. (2001): Effect of virus infection and light environment on population dynamics of *Eupatorium makinoi* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 88, 616–622.
- Fütterer, J. and Hohn, T. (1987). Involvement of nucleocapsids in reverse transcription: A general phenomenon? *Trends Biochem. Res.*, 12, 92-95.
- Fütterer, J. Potrykus, I., Bao, Y. et al. (1996). Position-dependent ATT initiation during plant pararetrovirus rice tungro bacilliform virus translation. *J. Virol.*, 70, 2999-3010.

## G

- Gallagher, W.H. and Lauffer, M.A. (1983). Calcium ion binding by *Tobacco mosaic virus*. *J. Mol. Biol.*, 170, 905-919.



- Gallie, D.R., Tanguay, R. and Leathers, V. (1995). The tobacco etch viral 5' leader and poly(A) tail are functionally synergistic regulators of translation. *Gene*, 165, 233-238.
- Gallie, D.R. (1996). Translational control of cellular and viral mRNAs. *Plant Mol. Biol.*, 32,145-158.
- Gallie, D.R. (1998). A tale of two termini: a functional interaction between the termini of an mRNA is a prerequisite for efficient translation initiation. *Gene*, 216,1-11.
- Gallitelli, D., Vovlas, C., Martelli, G., Montasser, M.S., Tousignant, M.E. and Kaper, J.M. (1991). Satellite-mediated protection of tomato against *Cucumber mosaic virus*: II. Field test under natural epidemic conditions in southern Italy. *Plant Disease*, 75, 93-95.
- Gal-On, A. (2007). *Zucchini yellow mosaic virus*: insect transmission and pathogenicity -the tails of two proteins. *Mol. Plant Pathol.*, 8, 139-150.
- Gambino, G., Di Matteo, D., Gribaudo I. (2009). Elimination of Grapevine fanleaf virus from three *Vitis vinifera* cultivars by somatic embryogenesis. *European Journal of Plant Pathology*, 123, 57-60.
- Garzo, E., Soria, C., Gómez-Guillamón, M. L., and Fereres, A. (2002). Feeding behavior of *Aphis gossypii* on resistant accessions of different melon genotypes (*Cucumis melo*). *Phytoparasitica*, 30, 129-140.
- Gao, L., Zhai, R., Zhong, Y. K., Karthikeyan, A., Ren, R., Zhang, K. Li, K. and Zhi, H. J. (2015). Screening isolates of *Soybean mosaic virus* for infectivity in a model plant, *Nicotiana benthamiana*. *Plant Disease*, 99, 442-446
- Garcia-Arenal, F. (1988). Sequence and structure at the genome 3'- end of the U2 strain of *Tobacco mosaic virus*, a histidine accepting tobamovirus. *Virology* 167, 201-206.
- Gardner, W. S. (1967). Electron microscopy of *Barley stripe mosaic virus*: Comparative cytology of tissues infected during different stages of maturity. *Phytopathology*, 57, 1315-1326.
- Gay, J.D., Johnson, A.W. and Chalfant, R.B. (1973). Effects of a trapcrop on the introduction and distribution of cowpea virus by soil and insect vectors. *Plant Dis. Rep.*, 57, 684-688.
- Geelen, J.L.M.C., van Kammen, A. and Verduin, B.J.M. (1972). Structure of the capsid of *Cowpea mosaic virus*. The chemical subunit: molecular weight and number of subunits per particle. *Virology*, 49, 205-213.
- Gell, Gy., Balázs, E., Petrik, K. (2010). Genetic diversity of Hungarian *Maize dwarf mosaic virus* isolates. *Virus Genes*, 40, 277-281.
- Gent, H.D., du Toit, L.J., Fichtner, S.F., Mohan, S.K., Pappu, H.R., and Schwartz, H.F. (2006). *Iris yellow spot virus*: An emerging threat to onion bulb and seed production. *Plant Disease*, 90, 1468-1480.
- Gera, A., Loebenstein, G. and Raccach, B. (1979). Protein coats of two strains of *Cucumber mosaic virus* affect transmission by *Aphis gossypii*. *Phytopathology*, 69, 396-399.
- Ghanim, M., Morin, S., Zeidan, M. and Czosnek, H. (1998). Evidence for transovarial transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* by its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Virology*, 240, 295-303.
- Gibbs, A. J., Harrison, B. D., Watson, D. H., Wildy, P. (1966). What's in a virus name. *Nature*, 200, 450-454.
- Gibbs, A.J. and Harrison, B. (1976). *Plant Virology: The Principles*. Edward Arnold, London.
- Gibbs, M. J., Cooper, J. I., Waterhouse, P. M. (1996). The genome organization and affinities of an Australian isolate of *Carrot mottle umbravirus*. *Virology*, 224, 310-313.

- Gibbs, A. (1999). Tymoviruses. In: A. Granoff and R.G. Webster (eds) *Encyclopedia of Virology*, 2nd edn, pp. 1859-1853. Academic Press, San Diego.
- Gibson, R.W., Pickett, J.A., Dawson, G.W., Rice, A.D., Stribley, M.F. (1984). Effects of aphid alarm pheromone derivatives and related compounds on non- and semi-persistent plant virus transmission by *Myzus persicae*. *Ann. Appl. Biol.*, 104, 203–209.
- Gierer, A. and Schramm, G. (1956). Infectivity of ribonucleic acid from *Tobacco mosaic virus*. *Nature (London)*, 177, 702-703.
- Giesler, L. J., Ghabrial, S. A., Hunt, T. E., and Hill, J. H. (2002). Bean pod mottle virus. A threat to U.S. soybean production. *Plant Disease*, 86, 1280-1289.
- Gilmer, R.M., Whitney, W.K., Williams, R.J. (1974). Epidemiology and control of cowpea mosaic in Western Nigeria in: *Proceedings of the 1st IITA Grain Legume Improvement Workshop*, Ibadan: IITA, 269.
- Gispert, C., Oldfield, G. N., Perring, T. M., and Creamer, R. (1998). Biology of the transmission of peach mosaic virus by *Eriophyes insidiosus* (Acari: Eriophyidae). *Plant Disease*, 82, 1371-1374.
- Giunchedi, L., Kyriakopoulou, P., Barba, M., & Hadidi, A. (2011). *Peach latent mosaic viroid* in naturally infected temperate fruit trees. In A. Hadidi, M. Barba, T. Candresse & W. Jelkmann (Eds.), *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*, St. Paul, MN, USA: The American Phytopathological Society Press, pp. 225-227.
- Givord, L., Dixon, L., Rauseo-Koenig, I. and Hohn, T. (1988). *Cauliflower mosaic virus* ORF VII is not required for aphid transmissibility. *Ann. Inst. Pasteur Virol.*, 139, 227-231
- Givord, L., Xiong, C., Giband, M. (1984). A second cauliflower mosaic virus gene product influences the structure of the viral inclusion body. *EMBO J.*, 3,1423-1427.
- Glasa, M., Labonne, G., Quiot, J.B. (2003). Effect of temperature on *Plum pox virus* infection. *Acta virologica*, 47, 49-52.
- Glasa, M. (2004). Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of *Plum pox virus* (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. *Journal of General Virology*, 85, 2671-2681.
- Glasa, M., Bananej, K., Predajňa, L., and Vahdat, A. (2011). Genetic diversity of *Watermelon mosaic virus* in Slovakia and Iran shows distinct pattern. *Plant Disease*, 95, 38-42.
- Glasa, M., Malinowski, T., Predajna, L., Pupola, N., Dekena, D., Michalczuk, L., and Candresse, T. (2011a). Sequence variability, recombination analysis, and specific detection of the W strain of *Plum pox virus*. *Phytopathology*, 101, 980-985.
- Goelet, P., Lomonosoff, G.P., Butler, P.J.G., Akam, M.E., Gait, M.J. and Karn, J. (1982). Nucleotide sequence of tobacco mosaic virus RNA. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 79, 5818-5822.
- Goldbach, R. and Wellink, J. (1996). Comoviruses: molecular biology and replication. In: B.D. Harrison and A.F. Murant (eds) *The Plant Viruses. Vol. 5: Polyhedral Virions and Bipartite Genomes*, pp. 35-76. Plenum Press, New York.
- Goldstein, B. (1924). Cytological study of living cells of tobacco plants affected with mosaic disease. *Bull. Torrey Botan. Club* 51, 261–272.
- Golnaraghi, A. R., Shahraeen, N., Pourrahim, R., Farzadfar, Sh., and Ghasemi, A. (2004). Occurrence and relative incidence of viruses infecting soybeans in Iran. *Plant Disease*, 88, 1069-1074.

- Gómez, P., Sempere, R., Aranda, M.A. (2012). Pepino mosaic virus and Tomato torrado virus: two emerging viruses affecting tomato crops in the Mediterranean basin. *Adv Virus Res.*, 84, 505-532.
- Gonsalves, D. (2004). Transgenic papaya in Hawaii and beyond. *Agric Bio Forum* 7, 36–40.
- González-Pacheco, B. E., Silva-Rosales, L. (2013). First report of *Impatiens necrotic spot virus* in Mexico in tomatillo and pepper plants. *Plant Disease*, 97, 1124.
- Gooding, G.V. (1975). Inactivation of tobacco mosaic virus on tomato seed with trisodium orthophosphate and sodium hypochlorite. *Plant Dis. Rep.*, 59, 770-772.
- Goodman, N. R., Kiraly, Z. Zailin, M. (1967). The biochemistry and physiology of infectious plant disease. D. Van Nostrand Company, Inc.
- Goodman, R.M. (1977). Single-stranded DNA genome in a whitefly- transmitted plant virus. *Virology*, 83,171-179.
- Goodwin, J., Chapman, K., Swaney, S., Parks, T.D., Wernsman, E.A. and Dougherty, W.G. (1996). Genetic and biochemical dissection of transgenic RNA-mediated virus resistance. *Plant Cell*, 8, 95-105.
- Gorbalenya, A.E. and Koonin, E.V. (1993). Helicases: amino acid sequence comparisons and structure-function relationships. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3, 419-429.
- Gordillo, L. F., Stevens, M. R., Millard, M. A., and Geary, B. (2008). Screening two *Lycopersicon peruvianum* collections for resistance to *Tomato spotted wilt virus*. *Plant Disease*, 92, 694-704.
- Gordon, K.H.J., Pfeiffer, P., Fütterer, J. and Hohn, T. (1988). In vitro expression of cauliflower mosaic virus genes. *EMBO J.* 7, 309-317.
- Gratia, A. (1933). Pluralité antigénique et identification sérologique des virus de plantes. *CR Seances Soc. Biol. Ses Fil.*, 114, 923.
- Gracia, O. and Shepherd, R.J. (1985). *Cauliflower mosaic virus* in the nucleus of *Nicotiana*. *Virology*, 146,141-145.
- Greber, R. S., Teakle, D. S., and Mink, G. I. (1992). Thrips-facilitated transmission of Prune dwarf and *Prunus necrotic ringspot* viruses from cherry pollen to cucumber. *Plant Disease*, 76, 1039-1041.
- Griffiths, H.M., Slack, S.A., Dodds, J.H. (1990). Effect of chemical and heat therapy in virus concentrations in vitro potato plantlets. *Can J Bot.*, 68, 1515–1521.
- Grimová, L., Winkowska, L., Ryšánek, P., Svoboda, P., Petrzik, K. (2013). Reflects the coat protein variability of apple mosaic virus host preference? *Virus Genes*, 47, 119-125.
- Grogan, R. G., Hall, D. H. and Kimble, K. A. (1959). Cucurbit mosaic viruses in California. *Phytopathology*, 49, 366-376
- Groves, R. L., Walgenbach, J. F., Moyer, J. W., and Kennedy, G. G. (2002). The role of weed hosts and tobacco thrips, *Frankliniella fusca*, in the epidemiology of *Tomato spotted wilt virus*. *Plant Disease*, 86, 573-582.
- Gugerli, P. (1976). Different states of aggregation of *Tobacco rattle virus* coat protein. *J. Gen. Virol.*, 33, 297-307.
- Guilford, P.J. (1989). A Molecular Analysis of Tobacco Rattle Mosaic Virus RNA1. PhD thesis, University of Cambridge, UK.
- Guilley, H., Richards, K.E. and Jonard, G. (1983). Observations concerning the discontinuous DNAs of cauliflower mosaic virus. *EMBO J.*, 2, 277-282.

- Gunasinghe, U.B., Irwin, M.E., Kampmeier, G.E. (1988). Soybean leaf pubescence affects aphid vector transmission and field spread of soybean mosaic virus. *Ann Appl Biol*, 112, 259–272.
- Gungoosingh-Bunwaree, A., Menzel, W., Winter, S., Vally, V., Seewoogoolam, R., Beni Madhu, S. P. and Vetten, H. J. (2009). First report of *Carrot red leaf virus* and *Carrot mottle virus*, causal agents of carrot motley dwarf, in carrot in Mauritius. *Plant Disease*, 93, 1218–1218.
- Guo, H.S., Lopez-Moya, J. and Garcia, J.A. (1999). Mitotic stability of infection-induced resistance to plum pox potyvirus associated with transgene silencing and DNA methylation. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 12, 103-111.
- Gutierrez, C. (2000a). DNA replication and cell cycle in plants: learning from geminiviruses. *EMBO J.*, 19, 792-799.
- Gutierrez, C. (2000b). Geminiviruses and the plant cell cycle. *Plant Mol. Biol.*, 43, 763-772.
- Gvozdanović-Varga, J., Vasić, M., Takač, A., Bugarski, D., Jovičević, D., Červenski, J., Stojšin, V. (2009). Proizvodnja belog luka sa aspekta sadnog materijala. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, 46, 99-109.
- H
- Haas, M., Bureau, M., Geldreich, A., Yot, P., and Keller, M. (2002). *Cauliflower mosaic virus*: still in the news. *Molecular plant pathology*, 3, 419-429.
- Hahn, P. and Shepherd, R.J. (1982). Evidence for a 58-kilodalton polypeptide as precursor of the coat protein of cauliflower mosaic virus. *Virology*, 116, 480-488.
- Halgren, A. B., Tzanetakis, I. E., and Martin, R. R. (2003). Characterization of an aphid-transmitted virus associated with black raspberry decline in Oregon. *Phytopathology*, 93, S32.
- Hamilton, R.I. (1983). Certification schemes against seed-borne viruses in leguminous hosts, present status and further areas for research and development. *Seed Sci Technol.*, 11, 1051–1062
- Hamilton, W.D.O., Boccara, M., Robinson, D.J. and Baulcombe, D.C. (1987). The complete nucleotide sequence of *Tobacco rattle virus* RNA1. *J. Gen. Virol.*, 68, 2563-2575.
- Hampton, R.O. (1967). Seed transmission of viruses in red clover. *Phytopathology*, 57, 98.
- Hampton, R. O. and Mink, G.I. (1975). *Pea seed-borne mosaic virus*. Descriptions of plant viruses, No. 146. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- Hampton, R., Ball, E. and De Boer, S. (Eds) (1990). Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens. APS Press, Minnestota, 1-387.
- Hanley-Bowdoin, L., Settlege, S.B., Orozco, B.M., Nagar, S. and Robertson, D. (1999). Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 18, 71-106.
- Hanna, E., Digiario, M., Elbeaino, T., Choueiri, E., Jawhar, J., and Martelli, G. P. (2008). Incidence of viruses and nematode vectors in Lebanese vineyards. *J. Phytopathol.*, 156, 304-310.
- Hansen, A.J., Nylland, G., McElroy, F.D., Stace-Smith, R. (1974). Origin, cause, host range and spread of cherry rasp leaf disease in North America. *Phytopathology*, 64, 721-727.
- Hansen, A.J. (1984). Effect of Ribavirin on green ring mottle causal agent and necrotic ringspot virus in *Prunus* species. *Plant Disease*, 68, 216–218.

- Hanssen, I.M., Thomma, B.P. (2010). *Pepino mosaic virus*: a successful pathogen that rapidly evolved from emerging to endemic in tomato crops. *Mol Plant Pathol.*, 11, 179-189.
- Hao, L., Xie, J., Chen, S., Wang, S., Gong, Z., Ling, K.S., Guo, L., Fan, Z., Zhou, T. (2016). A multiple RT-PCR assay for simultaneous detection and differentiation of latent viruses and apscarviroids in apple trees. *J Virol Methods.*, 234, 16-21.
- Harrington, R. and Gibson, R.W. (1989). Transmission of *Potato virus Y* by aphids trapped in potato crops in southern England. *Potato research*, 32, 164-174.
- Harrison, B.D. (1957). Studies on the host range, properties and mode of transmission of *Beet ringspot virus*. *Annals of Applied Biology*, 45, 462-472.
- Harrison, B. D. and Woods, R. D. (1966). Serotypes and particle dimensions of *Tobacco rattle viruses* from Europe and America. *Virology*, 28, 610.
- Harrison, B. D. and Roberts, I.M. (1968). Association of *Tobacco rattle virus* with mitochondria. *J. Gen. Virol.*, 3, 121-124.
- Harrison, B.D. (1970). *Tobacco rattle virus*. Descriptions of plant viruses, No. 12. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- Harrison, S.C., Olson, A.J., Schutt, C.E., Winkler, F.K. and Bricogne, G. (1978). *Tomato bushy stunt virus* at 2.9 Å resolution. *Nature (London)*, 276, 368-373.
- Harrison, B.D. (1984). *Potato leafroll virus*. Descriptions of plant viruses, No. 291. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- Harrison, B.D. (2008a). Studies on the effect of temperature on virus multiplication in inoculated leaves. *Annals of Applied Biology*, 44, 215-226.
- Hartman, K.A., McDonald-Ordzie, P.E., Kaper, J.M., Prescott, B. and Thomas, G.J. (1978). Studies of virus structure by laser Raman spectroscopy: *Turnip yellow mosaic virus* and capsids. *Biochemistry*, 17, 2118-2123.
- Harveson, R.M. (2015). Beet curly top: America's first serious disease of sugar beets. APS Features. doi:10.1094/APSFeature-2015-02.
- Haseloff, J., Goelet, P, Zimmern, D., Ahlquist, P, Dasgupta, R. and Kaesberg, P. (1984). Striking similarities in amino acid sequence among non-structural proteins encoded by RNA viruses that have dissimilar genomic organisation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81, 4358-4362.
- Hatta, T., Nakamoto, T., Takagi, Y. and Ushiyama, R. (1971). Cytological abnormalities of mitochondria induced by infection with *Cucumber green mottle mosaic virus*. *Virology*, 45, 292-297.
- Hatta, T. and Matthews, R.E.F. (1976). Sites of coat protein accumulation in *Turnip yellow mosaic virus* - infected cells. *Virology*, 73, 1-16.
- Hayashi, T. (1974). Fate of tobacco mosaic virus after entering the host cell. *Jpn J. Microbiol.*, 18, 279-286.
- Heijbroek, W. (1988), Dissemination of rhizomania by soil, beet seeds and stable manure. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 94, 9-15.
- Heaton, L.A., Hillman, B.I., Hunter, B.G., Zuidema, D. and Jackson, A.O. (1989). A physical map of the genome of *Sonchus yellow net virus*, a plant rhabdovirus with six genes and conserved genejunction sequences. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 86, 8665-8668.
- Heijtink, R.A. and Jaspars, E.M.J. (1976). Characterization of two morphologically distinct top component particles from *Alfalfa mosaic virus*. *Virology*, 69, 75-80.
- Hein, A. (1984). Transmission of *Turnip yellow mosaic virus* through seed of *Camelina sativa* (gold of pleasure). *Z. Pflanzenkr Pflanzenschutz*, 91, 549-551.

- Helms, K., Muller, W. J., and Waterhouse, P. M. (1987). Subterranean clover red leaf virus disease: Effects of light intensity on plant symptoms, growth, and virus content. *Phytopathology*, 77, 1297-1300.
- Hernandez, C., Visser, P.B., Brown, D.J., Bol, J.F. (1997a). Transmission of *Tobacco rattle virus* isolate PpK20 by its nematode vector requires one of the two non-structural genes in the viral RNA 2. *J. Gen Virol.*, 78, 465-467.
- Hernandez, R., Fontanella, J., Noa, J.C., Pichardo, T., Manzo, R., Cardenas, H. (1997b). Electrotherapy a novel method for eliminating viruses from garlic (*Allium sativum* L.). *Hortic Argent*, 16:68–71
- Herranz, M.C., Al Rwahnih, M., Sánchez-Navarro, J.A., Elena, S.F., Choueiri, E., Myrta, A., Pallás, V. (2008). Low genetic variability in the coat and movement proteins of *American plum line pattern virus* isolates from different geographic origins. *Arch Virol.*, 153, 367-373.
- Herrbach, E. (1992). Alarm pheromones and allelochemicals as a means of aphid control. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98, 63-71
- Hiebert, E. and McDonald, J.G. (1973). Characterisation of some proteins associated with viruses in the potato Y group. *Virology*, 56, 349-361.
- Hillman, B.I. and Nuss, D.L. (1999). Phytoreoviruses (Reoviridae). In: A. Granoff and R.G. Webster (eds) *Encyclopedia of Virology*, 2nd edn, pp. 1262-1267. Academic Press, San Diego.
- Hirai, A. and Wildman, S. G. (1969). Effect of TMV multiplication on RNA and protein synthesis on tobacco chloroplasts. *Virology*, 38, 73-82.
- Hiruki, C. and Tu, J.C. (1972). Light and electron microscopy of *Potato virus M* lesions and marginal tissue in red kidney bean. *Phytopathology*, 62, 77-85.
- Ho, M.W., Ryan, A. and Cummins, J. (1999). Cauliflower mosaic viral promoter - A recipe for disaster? *Microbial Ecology in Health and Disease*, 11, 194–197.
- Hofer, J.M.I., Dekker, E.L., Reynolds, H.V., Woolston, C.J., Cox, B.S and Mullineaux, PM. (1992). Coordinate regulation of replication and virion sense gene expression in wheat dwarf virus. *Plant Cell*, 4, 213-223.
- Hohn, T., Hohn, B. and Pfeiffer, P. (1985). Reverse transcription in CaMV. *Trends Biochem. Sci.*, 10, 205-209.
- Hohn, T. and Fütterer, J. (1997). The proteins and functions of plant pararetroviruses: known and unknowns. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 16, 133-161.
- Hollings, M., Komuro, Y., Tochihara, H. (1975). *Cucumber green mottle mosaic*. Descriptions of plant viruses, No. 154. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, UK.
- Holmes, F.O. (1939). *Handbook of Phytopathogenic Viruses*. Burgess, Minneapolis, MI.
- Hooks, R.R., Fereres, A. (2006). Review Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Research*, 120, 1–16.
- Hormozi-Nejad, M.H., Mozafari, J., Rakhshandehroo, F. (2010). Elimination of *Bean common mosaic virus* using an electrotherapy technique. *J Plant Dis Prot*, 117, 201–205
- Horváth, J. (1972). *Növényvírusok, vektorok, vírusátvitel*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Horváth, J. (1993). Hosts and non-hosts in the diagnostic strategy of plant viruses. *Acta Phytopath. Et Entomol. Hung.*, 28, 257-354.
- Horváth, J. és Gáborjányi, R. (1999): *Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek*. Mezőgazda Kiadó, Budapest.

Horne, R.W. and Wildy, P. (1961). Symmetry in virus architecture. *Virology* 15, 348-373.

Horváth, J., Juretić, N., Krajačić, M. and Mamula, D. (1986). *Tobacco mosaic virus* in Danube water in Hungary. *Acta Phytopath. et Entomol. Hung.*, 21, 337-340.

Hsu, C.H., Sehgal, O.P. and Pickett, E.E. (1976). Stabilizing effect of divalent metal ions on virions of *Southern bean mosaic virus*. *Virology*, 69, 587-595.

Hsu, C. L., Hoeping, C. A., Fuchs, M., Smith, E. A., and Nault, B. A. (2011). Sources of Iris yellow spot virus in New York. *Plant Disease*, 95, 735-743.

Hull, R., Hills, G.J. and Markham, R. (1969). Studies on *Alfalfa mosaic virus*: II. The structure of the virus components. *Virology*, 37, 416-428.

Hull, R. and Plaskitt, A. (1974). The *in vivo* behaviour of *Broad bean wilt virus* and three of its strains. *Intervirology*, 2, 352-359.

Hull, R. (1976). The structure of tubular viruses. *Adv. Virus Res.*, 20, 1-32.

Hull, R. and Covey, S.N. (1983). Does cauliflower mosaic virus replicate by reverse transcription? *Trends Biochem. Sci.*, 8, 119-121.

Hull, R., Covey, S.N. and Maule, A.J. (1987). Structure and replication of caulimovirus genomes. *J. Cell Sci., Suppl.*, 7, 213-229.

Hull, R. (1996). Molecular biology of *Rice tungro viruses*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 34, 275-297.

Hull, R. (2004). *Matthew's plant virology*. Elsevier academic press, USA.

Hulo C, de Castro E, Masson P, Bougueleret L, Bairoch A, Xenarios I, Le Mercier P. (2011). ViralZone: a knowledge resource to understand virus diversity. *Nucleic Acids Res.*, Jan; 39, D576-82. <http://viralzone.expasy.org/>

Hunter, B.G., Richardson, J., Dietzgen, R.G., Karu, A., Sylvester, E.S., Jackson, A.O., Morris, T.J. (1990). Purification and characterization of *Strawberry crinkle virus*. *Phytopathology*, 80, 282–287.

Hunter, P. J., Jones, J. E., and Walsh, J. A. (2002). Involvement of *Beet western yellows virus*, *Cauliflower mosaic virus*, and *Turnip mosaic virus* in internal disorders of stored white cabbage. *Phytopathology*, 92, 816-826.

Huxley, H.E. and Zubay, G. (1960). The structure of the protein shell of *Turnip yellow mosaic virus*. *J. Mol. Biol.*, 2,189-196.

## I

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses. (2012). Ed: King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B. and Lefkowitz, E.J. San Diego: Elsevier.

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses. (2015). Virus Taxonomy: 2015 Release. <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>

Immanuel, T. M., Delmiglio, C., Ward, L. I., Denton, J. O. and Clover, G. R. G. (2015). First Reports of *Grapevine virus A*, *Grapevine fleck virus*, and *Grapevine leafroll-associated virus 1* in the United Kingdom. *Plant Disease*, 99, 6.

Inouye, T. (1962). Studies on barley stripe mosaic in Japan. *Ber Ohara Inst Landw Biol* 11:413–496. Inter-African Phyto-sanitary Commission (1962) A memorandum for phytosanitary procedures in Africa. Scientific Council for African South of the Sahara. Publication no. 82. London, CCTA.

Inoue, H. and Timmins, PA. (1985). The structure of *Rice dwarf virus* determined by small-angle neutron scattering measurements. *Virology*, 147, 214-216.

- Ishihama, A. and Barbier, P. (1994). Molecular anatomy of viral RNA-directed RNA polymerases. *Arch. Virol.*, 134, 235-258.
- Ishikawa, M., Obata, F., Kumagai, T. and Ohno, T. (1991). Isolation of mutants of *Arabidopsis thaliana* in which accumulation of tobacco mosaic virus coat protein is reduced to low levels. *Mol. Gen. Genet.*, 230, 33-38.
- Ishikawa, M., Naito, S and Ohno, T. (1993). Effects of the toml mutation of *Arabidopsis thaliana* on the multiplication of tobacco mosaic virus RNA in protoplasts. *J. Virol.*, 67, 5328-5338.

## J

- Jackson, A.O., Goodin, M., Moreno, I., Johnson, J. and Lawrence, D.M. (1999). Rhabdoviruses (Rhabdoviridae): plant rhabdoviruses. In: A. Granoff and R.G. Webster (eds) *Encyclopedia of Virology*, pp. 1531-1541. Academic Press, San Diego.
- Jackson, A., Lim, H., Bragg, J., Ganesan, U., Lee, M. (2009). *Hordeivirus* replication, movement, and pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 385-422.
- Jalali, S., Masahebi, G. H., Okhovat, M. (2003). Effect of beet mosaic virus on sugarbeet seed yield in greenhouse condition. *Journal of Sugar Beet*, 18, 109-118.
- James, D. and Mukerji, S. (1993). Mechanical transmission, identification, and characterization of virus associated with mottle leaf in cherry. *Plant Disease*, 77, 271-275.
- James, D., Howell, W. E., Mink, G. I. (2000). Development of an RT-PCR procedure for the detection of flat apple virus and molecular evidence of identity with cherry rasp leaf virus. *Phytopathology*, 90, 38.
- James, D., Varga, A. (2005). Nucleotide sequence analysis of *Plum pox virus* isolate W3174: Evidence of a new strain. *Virus Research*, 110, 143-150.
- James, D., Varga, A., Croft, H., Rast, H., Thompson, D., and Hayes, S. (2006). Molecular characterization, phylogenetic relationships, and specific detection of *Peach mosaic virus*. *Phytopathology*, 96, 137-144.
- James, D. (2010). Confirmation of the elimination of *Apple stem grooving virus* from apple trees by in vitro chemotherapy. *Julius-Kühn-Archiv*, 427, 47-50.
- Janda, M. and Ahlquist, P. (1998). *Brome mosaic virus* RNA replication protein la dramatically increases in vivo stability but not translation of viral genomic RNA3. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 95, 2227-2232.
- Japars, E. M. J., Bos, L. (1980). *Alfalfa mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 229, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Jarošová, J., Kundu, J.K. (2010). Detection of *Prune dwarf virus* by one-step RT-PCR and its quantitation by real-time PCR. *Journal of Virological Methods*, 164, 139-144.
- Jasnić, S. (1978). Proučavanje epidemiologije virusa mozaika paradajza na paprici. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Jasnić, S. (1984). Mogućnost inaktiviranja virusa mozaika paradajza u zaraženom semenu paprike primenom toplote i hemijskih supstanci. Jugoslovensko savetovanje o povrću, Zbornik radova, Zadar, 59-62.
- Jasnić, S. (1988). Prenošenje virusa mozaika paradajza zaraženim biljnim ostacima u zemljištu. *Zaštita bilja*, 311-317.
- Jasnić, S.M., Stakić, D., Falak, I., Balaž, F. (1991). Distribution of *Barley yellow dwarf virus* in wheat and barley in Vojvodina. *Zaštita bilja*, 197, 191-197.



- Jasnić, S.M., Stakić, D., Falak, I. (1993). Uticaj virusa žute patuljavosti ječma na porast i prinos pšenice i ječma. *Zaštita bilja*, 203, 39-45.
- Jasnić, S., Bagi, F., Berenji, J. (1996). Rasprostranjenost nekih virusa duvana u Vojvodini. *Biljni lekar*, 6, 507-511.
- Jasnić, S.M., Kovačev, L.M., Čačić, N.A., Sklenar, P. (1999). Rasprostranjenost rizomanije u Vojvodini i mere suzbijanja. *Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad*, 31, 505-515.
- Jasnić, S., Bagi, F., Berenji, J., Jelinčić, K., and Mumović, J. (2000). Distribution of tobacco viroses in the Vojvodina Province. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, 34, 67-76.
- Jasnić, S., Milošević, D., Bagi, F. (2003): Virusi paraziti semena. *Biljni lekar*, 6, 610-621.
- Jasnić, S. (2005). Viroses of alfalfa and clover. *Biljni lekar*, 33, 576-579.
- Jasnić, S.M., Bagi, F. F., Stojšin, V. B., Jelinčić, K. D. (2006). Pojava i rasprostranjenost virusa nekrotičnog žutila nerava šećerne repe u Vojvodini. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 110, 85-89.
- Jaswal, A. S. (1990). Occurrence of blueberry leaf mottle, blueberry shoestring, tomato ringspot and tobacco ringspot viruses in eleven halfhigh blueberry clones grown in New Brunswick, Canada. *Canadian Plant Disease Survey*, 70, 113-117.
- Jensen, S. G. (1968). Photosynthesis, respiration and other physiological relationship in barley infected with *Barley yellow dwarf virus*. *Phytopathology*, 58, 204-208.
- Jeon, A., Cheong, E., Mock, R. (2010). Elimination of *Black raspberry necrosis virus* (BRNV) from *Rubus occidentalis* by *in vitro* thermotherapy. *Phytopathology*, 100, S56.
- Jerković-Mujkić, A., Bešta, R., Smajević, A. (2010). Transmission of tobacco rattle virus by *Saponaria officinalis* L. seeds. XXI Naučno-stručna konferencija poljoprivrede i prehrambene industrije. Zbornik radova. 29.09- 02.10. 2010, Neum, Bosnia i Hercegovina, 237-242.
- Jevremović, D. i Paunović, S. (2013). Sojevi virusa šarke šljive u Srbiji i njihove epidemiološke karakteristike. Zbornik rezimea radova 12. Savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, Srbija, Beograd, Društvo za zaštitu bilja Srbije, 149-150.
- Jevremović, D. and Paunović, S. (2014). *Plum pox virus* strains: Diversity and geographical distribution in Serbia. *Pesticidi i fitomedicina*, 29, 97-107.
- Jevremović, D. i Paunović, S. (2014a). Low incidence of *Peach latent mosaic viroid* in peach mother blocks in Serbia. *Pesticidi i fitomedicina*, 29, 109-114.
- Jin, H., Domier, L. L., Kolb, F. L., and Brown, C. M. (1998). Identification of quantitative loci for tolerance to barley yellow dwarf virus in oat. *Phytopathology*, 88, 410-415.
- Johnson, J. and Hoggan, I.A. (1935). A descriptive key for plant viruses. *Phytopathology*, 25, 328-343.
- Johnson, M.W. and Markham, R. (1962). Nature of the polyamine in plant viruses. *Virology*, 17, 276-281.
- Johnstone, G.R., Koen, T.B. and Conley, H.L. (1982). Incidence of yellows in sugar beet as affected by variation in plant density and arrangement. *Bull. Entomol. Res.*, 72, 289-294.
- Johnston, J.C. and Rochon, D.M. (1995). Deletion analysis of the promoter for cucumber necrosis virus 0.9-kb subgenomic RNA. *Virology*, 214, 100-109.
- Jonard, G., Richards, K.E., Guilley, H. and Hirth, L. (1977). Sequence from the assembly nucleation region of TMV RNA. *Cell*, 11, 483-493

- Jones, F.R., Chapman, R.K. (1968). Aluminum foil and other reflective surfaces to manipulate the movement of aphid vectors of plant viruses. *Proc North Central Branch Entom Soc Am* 23, 146–148.
- Jones R.A.C. and B.D. Harrison (1969). The behavior of *Potato mop-top virus* in soil and evidence for its transmission by *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. *Ann. appl. Biol.*, 63, 1-17.
- Jones, A.T. (1979). The effects of *Black raspberry necrosis* and *Raspberry bushy dwarf viruses* in Lloyd George raspberry and their involvement in raspberry bushy dwarf disease. *Journal of Horticultural Science*, 54, 267-272.
- Jones, A.T. (1985). *Cherry leaf roll virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 306, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Jones, T.A. and Liljas, L. (1984). Structure of satellite *Tobacco necrosis virus* after crystallographic refinement at 2.5 Å resolution. *J. Mol. Biol.*, 177, 735-767.
- Jones, A.T. (1988). *Black raspberry necrosis virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 333, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Jones, A.T., Brown, D.J.F., McGavin, W.J., Rüdell, M., Altmayer, B. (1994). Properties of an unusual isolate of raspberry ringspot virus from grapevine in Germany and evidence for its possible transmission by *Paralongidorus maximus*. *Annals of Applied Biology*, 124, 283-300.
- Jones, R. A. C., Coutts, B. A., and Cheng, Y. (2003). Yield limiting potential of necrotic and non-necrotic strains of *Bean yellow mosaic virus* in narrowleafed lupin (*Lupinus angustifolius*). *Aust. J. Agric. Res.*, 54:849-859.
- Jones, R.A.C. (2004). Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. *Virus Research*, 100, 5-30.
- Jones, R.A.C., Coutts, B.A., Mackie, A.E., Dwyer, G.I. (2005). Seed transmission of *Wheat streak mosaic virus* shown unequivocally in wheat. *Plant Disease*, 89, 1048-1050.
- Jooste, A. E., Maree, H. J., Bellstedt, D. U., Goszczynski, D. E., Pietersen, G., Burger, J. T. (2010). Three genetic *Grapevine leafroll-associated virus 3* variants identified from South African vineyards show high variability in their 5' UTR. *Arch. Virol.*, 155, 1997-2006.
- Jordović, M. (1955). Kržljavost šljive, virozna bolest u našoj zemlji. *Zaštita bilja*, 30, 61-62.
- Jordović, M. i Janda, Lj. (1963). Morfološko-anatomske i hemijske promene na plodovima nekih sorata šljive zaraženih virusom šarke. *Zaštita bilja*, 76, 653-670.
- Jordović, M., Dimitrijević, B. i Ranković, M. (1972). Identifikacija virusa prstenaste pegavosti paradajza (*Tomato ringspot virus*) na malini u Jugoslaviji. *Zaštita bilja*, 119-120, 147-158.
- Joshi, S., Pleij, C.W.A., Haenni, A.-L., Chapeville, F. and Bosch, L. (1983). Properties of the tobacco mosaic virus intermediate length RNA2 and its translocation. *Virology*, 127, 100-111.
- Juretić, N., Horváth, J. and Krajačić, M. (1986). Occuring of ribgrass mosaic virus in water of Hungarian river Zala. *Acta Phytopath. et Entomol. Hung.*, 21, 291-295.
- Juretić, N., Horváth, J. (1991). Some data on adsorption of two plant viruses to soil. *Acta Phytopath. et Entomol. Hung.*, 26, 423-426.
- Juretić, N. (2002). Osnove biljne virologije. Školska knjiga, Zagreb.
- Jossey, S., and Babadoost, M. (2008). Occurrence and distribution of pumpkin and squash viruses in Illinois. *Plant Disease*, 92, 61-68.

## K

- Kadarej, G. and Haenni, A.L. (1997). Virus-encoded RNA helicases. *J. Virol.* 71, 2583-2590.

- Kado, C.I. and Agrawal, H.O. (1972). *Principles and Techniques in Plant Virology*, Van Nostrand- Reinhold, Princeton, NJ.
- Kaiser, W.J. (1980). Use of thermotherapy to free potato tubers of *Alfalfa mosaic*, *Potato leaf roll*, and *Tomato black ring viruses*. *Phytopathology*, 70, 1119-1122.
- Kaliciak, A., Syller, J. (2009). New hosts of *Potato virus Y* (PVY) among common wild plants in Europe). *European Journal of Plant Pathology*, 124, 707-713.
- Kalinowska, E., Mroczkowska, K., Paduch-Cichal, E. Chodorska, M. (2014). Genetic variability among coat protein of *Prune dwarf virus* variants from different countries and different *Prunus* species. *Eur J Plant Pathol*, 140, 863–868.
- Kamberoglu, M.A., Desbiez, C. and Caliskan, A.F. (2015). Characterization of an emerging isolate of *Watermelon mosaic virus* in Turkey. *Int. J. Agric. Biol.*, 17, 211–215.
- Kamenova, I., Scorza, R., Ravelonandro, M., Callahan, A., Paunovic, S., Zagrai, I., Dorokhov, D., Blume, Y. (2010). Case study: reducing the harmful impacts of plum pox virus through the use of biotechnology. In: BSBA, Black Sea Biotechnology Association - (ROU), *Regional Consensus Document on Environmental Risk and Economic Assessment of Genetically Modified Crops. Case Studies: Soybean, Maize, Sugar Beet. Reducing the Harmful Impacts of Plum Pox Virus through the Use of Biotechnology*, 127-151.
- Kamer, G. and Argos, P. (1984). Primary structural comparison of RNA-dependent polymerases from plant, animal and bacterial viruses. *Nucl. Acids Res.*, 12, 7269-7282.
- Kan, J.H., Andree, P.-J., Kouijzer, L.C. and Mellema, J.E. (1982). Proton-magnetic-resonance studies on the coat protein of *Alfalfa mosaic virus*. *Eur. J. Biochem.*, 126, 29-33.
- Kanuya, E., Clayton, L. A., Naidu, R. A. and Karasev, A. V. (2012). First Report of *Grapevine fleck virus* in Idaho Grapevines. *Plant Disease*, 96, 11.
- Kao, C.C. and Ahlquist, P. (1992). Identification of the domains required for direct interaction of the helicase-like and polymerase-like RNA replication proteins of brome mosaic virus. *J. Virol.*, 66, 7293-7302.
- Kassanis, B. (1957). The use of tissue culture to produce virus free clone from infected potato varieties. *Ann. Appl. Biol.*, 45, 422.
- Kassanis, B., Tinsley, T.W. (1958). The freeing of tobacco tissue cultures from potato virus Y by 2- thiouracil. In: Proceedings of the 3rd conference on potato virus disease, Lisse-Wageningen, 1957, 153–155
- Kassanis, B. and Macfarlane, I. (1964). Transmission of *Tobacco necrosis virus* by zoospores of *Oplidium brassicae*. *J. Gen. Microbiology*, 36, 79-98.
- Kassanis, B. and Govier, D.A. (1971). New evidence on the mechanism of aphid transmission of *Potato C* and *Potato aucuba mosaic viruses*. *J. Gen. Virol.*, 10, 99-101.
- Kargiotidou, A., Chantzivassiliou, E., Tzantarmas, C., Sinapidou, E., Papageorgiou, A., Skaracis, G.N. and Tokatlidis I.S. (2014). Selection at ultra-low density identifies plants escaping virus infection and leads towards high-performing lentil (*Lens culinaris* L.) varieties. *The Journal of Agricultural Science*, 152, 749-758.
- Kausche, G.A., Pfankuch, E. and Ruska, A. (1939). Die Sichtbormachung von pflanzlichem Virus im Ubermikroskop. *Naturwissenschaften*, 27, 292-299.
- Kavanagh T.A. and Spillane C. (1995). Strategies for engineering virus resistance in transgenic plants. *Euphytica*, 85, 149-158.
- Keeling, J. and Matthews, R.E.F. (1982). Mechanism for release of RNA from turnip yellow mosaic virus at high pH. *Virology*, 119, 214-218.

- Kegler, H. (1977). Obstgehölze. In Klinkowski, M. Pflanzliche Virologie, Bd. 3, Akademie-Verlag, Berlin.
- Kekarainen, T., Savilahti, H., and Valkonen, J. P. T. (2002). Functional genomics on *Potato Virus A*: Virus genome-wide map of sites essential for virus propagation. *Genome Research*, 12, 584–594.
- Keller, K.E., Johansen, I.E., Martin, R.R., and Hampton, R. O. (1998). Potyvirus genome-linked protein (VPg) determines *Pea seed-borne mosaic virus* pathotype-specific virulence in *Pisum sativum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11, 124–130
- Kelley, R. D., and Cameron, H. R. (1986). Location of *Prune dwarf* and *Prunus necrotic ringspot* viruses associated with sweet cherry pollen and seed. *Phytopathology*, 76, 317–322.
- Kendall, A., Williams, D., Bian, W., Stewart, P.L., Stubbs, G. (2013). *Barley stripe mosaic virus*: Structure and relationship to the tobamoviruses. *Virology*, 443, 265–270.
- Kerlan, C. (2006). *Potato virus Y*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No 414. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Khan, M. A., Maxwell, D.P. and Smith, R.R. (1978). Inheritance of resistance to red clover vein mosaic virus in red clover. *Phytopathology*, 68, 1084-1086.
- Khan, A.T., Singh, R.N. (1997). Effect of pea stunt disease on flowering, podding, grain setting and yield. *Indian Phytopathology*, 50, 282-284.
- Kiberstis, P.A., Loesch-Fries, L.S. and Hall, T.C. (1981). Viral protein synthesis in barley protoplasts inoculated with native and fractionated brome mosaic virus RNA. *Virology*, 112, 804-808.
- Kikkert, M., Meurs, C., van de Wetering, F., Dorfmüller, S., Peters, D., Kormelink, R., Goldbach, R. (1998). Binding of *Tomato spotted wilt virus* to a 94-kDa thrips protein.
- Kim, K.H. and Hemenway, C. (1996). The 5' nontranslated region of potato virus X RNA affects both genomic and subgenomic RNA synthesis. *J. Virol.*, 70, 5533-5540.
- Kim, D. K., Seo, S.G., Kwon, S.B., Park, Y.D. (2016). Development of RAPD and SCAR markers related to *Watermelon mosaic virus* and *Zucchini yellow mosaic virus* resistance in *Cucurbita moschata*. *Research Report Genetics And Breeding, Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 57, 61-68.
- Kirino, N., Inoue, K., Tanina, K., Yamazaki, Y., Ohki, S.T. (2008). *Turnip yellow mosaic virus* isolated from Chinese cabbage in Japan. *Journal of General Plant Pathology*, 74, 331-334.
- Kishaba, A.N., Castle, S.J., Coudriet, D.L., McCreight, J.D. and Bohn, G.W. (1992). Virus transmission by *Aphis gossypii* Glover to aphid-resistant and susceptible muskmelons. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117, 248-254.
- Kitajima, E.W. and Lovisolo, O. (1972). Mitochondrial aggregates in *Datura* leaf cells infected with *Henbane mosaic virus*. *J. Gen. Virol.*, 16, 265-271.
- Klein, M. and Harpaz, I. (1970). Heat suppression of plant-virus propagation in the insect vector's body, *Virology*, 41, 72-76.
- Klerks, M. M., Leone, G., Lindner, J. L., Schoen, C. D., and van den Heuvel, J. F. J. M. (2001). Rapid and sensitive detection of Apple stem pitting virus in apple trees through RNA amplification and probing with fluorescent molecular beacons. *Phytopathology*, 91, 1085-1091.
- Klinkowski, M. (1967). Pflanzliche virologie. Band 1. Einführung in die allgemeinen Probleme. Akademie-Verlag, Berlin, 1-388.

- Klos, E.J., Fronek, F., Knierem, J.A., Cation, D. (1966). *Peach rosette mosaic* transmission and control. *Michigan Agricultural Experimental Station Quarterly Bulletin* 49, 287-293.
- Klug, A. and Caspar, D.L.D. (1960). The structure of small viruses. *Adv. Virus Res.*, 7, 225-325.
- Klug, A., Longley, W. and Leberman, R. (1966). Arrangement of protein subunits and the distribution of nucleic acid in *Turnip yellow mosaic virus*: I. X-ray diffraction studies. *J. Mol. Biol.*, 15, 315-343.
- Knapp, E., Lewandowski, D.J. (2001). *Tobacco mosaic virus*, not just a single component virus anymore. *Mol Plant Pathol.*, 1, 2, 117-23.
- Knorr, D.A. and Dawson, W.O. (1988). A point mutation in the tobacco mosaic virus capsid protein gene induces hypersensitivity in *Nicotiana glauca*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 85,170-174.
- Knowland, J., Hunter, T., Hunt, T. and Zimmern, D. (1975). Translation of tobacco mosaic virus RNA and isolation of the messenger for TMV coat protein. *Colloq. Inst. Natl Sante Rech. Med.*, 47, 211-216.
- Koganezawa, H. (1989). *Apple scar skin viroid*, CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 349, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Köhler, G. and Milstein, C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature (Lond.)*, 256, 495-497.
- Koenig, R. (1986). Plant viruses in rivers and lakes. *Adv. Virus Res.*, 31, 321-333.
- Koenig, R., Lesemann, D.E. (1989). *Potato virus X*. No. 354, CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Koenig, R., Lesemann, D.E., Jones, R.A.C. (1989). *Pepino mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 350, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Koenig, R., Haeblerlé, A. M., Commandeur, U. (1997). Detection and characterization of a distinct type of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA 5 in a sugarbeet growing area in Europe. *Archives of Virology*, 142, 1499-1504.
- Koike, S.T., Gladders, P., Paulus, A. (2007): *Vegetable Diseases: A Color Handbook*, Gulf Professional Publishing, 1-448.
- Koklu, G., Digiaro, M., Savino, V. (1998). A survey of grapevine viruses in Turkish Thrace. *Phytopathologia Mediterranea*, 37, 140-142.
- Komar, V., Vigne, E., Demangeat, G., Lemaire, O., and Fuchs, M. (2008). Cross-protection as control strategy against *Grapevine fanleaf virus* in naturally infected vineyards. *Plant Disease*, 92, 1689-1694.
- Kondo, T., Yamashita, K., Sugiyama, S. (2011). First report of *Impatiens necrotic spot virus* infecting chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*) in Japan. *Journal of General Plant Pathology*, 77, 263-265.
- Kormelink, R., van Poelwijk, F., Peters, D. and Goldbach, R. (1992). Non-viral heterogeneous sequences at the 5' ends of tomato spotted wilt virus mRNAs. *J. Gen. Virol.*, 73, 2125-2128.
- Kormelink, R., de Haan, P., Meurs, C., Peters, D. and Goldbach, R. (1992b). The nucleotide sequence of the mRNA segment of tomato spotted wilt virus, a bunyavirus with two ambisense RNA segments. *J. Gen. Virol.*, 73, 2795-2804.
- Kormelink, R. (2005). *Tomato spotted wilt virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 412, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

- Koonin, E.V. (1991). The phylogeny of RNA-dependent RNA polymerases of positive-strand RNA viruses. *J. Gen. Virol.*, 72, 2197-2206.
- Koonin, E.V. and Dolja, V.V. (1993). Evolution and taxonomy of positive strand RNA viruses: implications of comparative analysis of amino acid sequences. *Biochem. Mol. Biol.*, 28, 357-430.
- Kooter, J.M., Matzke, M.A. and Meyer, P. (1999). Listening to the silent genes: transgene silencing, gene regulation and pathogen control. *Trend Plant Sci.*, 4, 340-346.
- Kosaka, Y., and Fukunishi, T. 1997. Multiple inoculation with three attenuated viruses for the control of cucumber virus disease. *Plant Disease*, 81, 733-738.
- Kostadinovska, E., Mitrev, S., Bianco, P. A., Casati, P. and Bulgari, D. (2014): First Report of *Grapevine virus A* and *Grapevine fleck virus* in the Former Yugoslav Republic of Macedonia. *Plant Disease*, 98, 1747.
- Kozak, M. (1989). The scanning model for translation: an update. *J. Cell Biol.* 108, 229-241.
- Kozak, M. (1992). Regulation of translation in eukaryotic systems. *Annu. Rev. Cell Biol.*, 8, 197-225.
- Krause-Sakate, R., Le Gall, O., Fakhfakh, H., Peypelut, M., Marrakchi, M., Varveri, C., Pavan, M. A., Souche, S., Lot, H., Zerbini, F. M., and Candresse, T. (2002). Molecular and biological characterization of *Lettuce mosaic virus* (LMV) isolates reveals a distinct and widespread type of resistance-breaking isolate: LMV-Most. *Phytopathology*, 92, 563-572.
- Krinkels, M. (2001). Pepino mosaic virus causes sticky problem. *Prophyta*, 30-33.
- Kritzman, A., Lampel, M., Raccah, B., and Gera, A. (2001). Distribution and transmission of *Iris yellow spot virus*. *Plant Disease*, 85, 838-842.
- Krstić, B., Tošić, M. (1990). Rizomanija šećerne repe u Mačvi. *Zaštita bilja*, 41, 259-262.
- Krstić, B., Tošić, M. (1994). Biljni virusi-neke osobine i dijagnoza. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Krstić, B., Berenji, J., Dukić, N., Vico, I., Katis, N.I. & Papavassiliou, C. (2002). Identification of viruses infecting pumpkins (*Cucurbita pepo* L.) in Serbia. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 103, 57-65.
- Krstić, B., Bulajić, A., Dukić, N. (2005). Occurrence of *Tomato spotted wilt virus* and *Impatiens necrotic spot virus* in Serbia. Meeting for Plant Protection in Republica Macedonia (XXX) and Congress of Plant Protection 'Environmental Concern and Food Safety, Ohrid, Macedonia, Proceedings, 85-88.
- Krstić, B., Vico, I., Berenji, J., Dukić, N., Bulajić, A. (2006). General principles of tobacco virus diseases management with special reference to tobacco mosaic virus. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, 42, 401-412.
- Krstić, B., Bulajić, A., Đekić, I. (2007). The *Tospoviruses* in greenhouse tomato and ornamental crops in Serbia. u: Balkan Congress for Microbiology, Budva, (5th), Abstracts book, 133.
- Krstić, B., Bulajić, A., Đekić, I., Berenji, J. (2008). Virus bronjavosti paradajza – jedan od najdestruktivnijih biljnih virusa. *Pesticidi i fitomedicina*, 23, 153-166.
- Krstić, B., Bulajić, A., Ivanović, M., Stanković, I., Vučurović, A. (2010). *Alfalfa mosaic virus* – Standardna operativna procedura za fitopatološke dijagnostičke laboratorije. Univerzitet u Beogradu–Poljoprivredni fakultet i Ministarstvo poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva, Beograd. (Ugovor između Ministarstva poljoprivrede i Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu ugovor br. 321-01-682/2009-11 od 12.08.2009. i Aneks 1. ugovora od 07.06.2010. godine)

- Kruse, J., Timmins, P. and Witz, J. (1987). The spherically averaged structure of a DNA isometric plant virus: *Cauliflower mosaic virus*. *Virology*, 159,166-168.
- Kryczynski, S., Szyndel, M. S., Stawiszynska, A. & Piskorek, W. (1992). The rate and the way of *Prunus necrotic ringspot virus* spread in sour cherry orchard and in the rootstock production. *Acta Hortic*, 309, 105–110.
- Kudo, H., Uyeda, I. And Shikata, E. (1991). Viruses in the Phytoreovirus genus of the Reoviridae family have the same conserved terminal sequences. *J. Gen. Virol.*, 72, 2857-2866.
- Kulshrestha, S., Verma, N., Hollan, V., Raikhy, G., Kumar Singh, M., Ram, R., Zaidi, A.A. (2005). Detection and identification of *Prunus necrotic ringspot* in *Pelargonium*. *Australasian Plant Pathology*, 34, 599-601.
- Kumar, A., Reddy, V.S., Yusibov, V., Chipman, P.R., Hata, Y., Fita, I., Fukuyama, K., Rossmann, M.G., Loesch-Fries, S., Baker, T.S., Johnson, J.E. (1997). The structure of *Alfalfa mosaic virus* capsid protein assembled as a T51 Icosahedral Particle at 4.0-Å Resolution. *Journal of virology*, 71, 7911-7916.
- Kundu, J.K. (2003): The occurrence of *Apple stem pitting virus* and *Apple stem grooving virus* within field-grown apple cultivars evaluated by RT-PCR. *Plant Protect. Sci.*, 39, 88–92.
- Kunik, T., Salomon, R., Zamir, D., Navot, N., Zeidan, M., Michelson, I., Gafni, Y., Czosnek, H. (1994). Transgenic tomato plants expressing the tomato yellow leaf curl virus capsid protein are resistant to the virus. *Bio/Technology*, 12, 500-504.
- Kuo, Y.W., Gilbertson, R. L., Turini, T., Brennan, E. B., Smith, R. F., and Koike, S. T. (2014). Characterization and epidemiology of outbreaks of *Impatiens necrotic spot virus* on lettuce in coastal California. *Plant Disease*, 98, 1050-1059.
- Kuprevič, V.F. (1947). Fiziologija bol'nogo rastenija v svjazi s obscimi voprosami parazitizma. Akad. nauk SSSR, Moskva.
- Kurtz-Fritsch, C. and Hirth, L. (1972). Uncoating of two spherical plant viruses. *Virology*, 47, 385-396.
- Kuzmanović, S., Dovas, C.I., Katis, N.I., Starović, M., Tošić, M., Rajković S. (2003). Contribution to the study of grapevine virus diseases in Serbia. Extended abstracts of the 14th Meeting of ICVG, Locorotondo, Italy.

## L

- Lamberti, F., Roca, F., Landriscina, S., Ciancio, A. (1986). Seasonal transmissibility of *Strawberry latent ringspot virus* by *Xiphinema diversicaudatum*. *Nematologia Mediterranea*, 14, 173-179.
- Lammers, A. H., Allison, R. F., Ramsdell, D. C. (1999). Cloning and sequencing of *Peach rosette mosaic virus* RNA1. *Virus Research*, 65, 57-73.
- Lange, L. (1978). *Synchytrium endobioticum* and *Potato virus X*. *Phytopath. Z.*, 92, 132-142.
- La Notte, P., Buzkan, N., Choueiri, E., Minafra, A., Martelli G.P. (1997). Acquisition and transmission of grapevine virus A by the mealybug *Pseudococcus longispinus*. *Journal of Plant Pathology*, 78, 79-85.
- Langham, M. A. C., Gallenberg, D. J. and Gergerich R. C. (1997). Occurrence of squash mosaic *Comovirus* infecting summer squash (*Cucurbita pepo*) in South Dakota and transmission by *Diabrotica barberi*. *Plant Disease*, 81, 696.

- Lapidot, M., Paran, I., Ben-Joseph, R., Ben-Harush, S., Pilowsky, M., Cohen, S., and Shifriss, C. (1997). Tolerance to cucumber mosaic virus in pepper: Development of advanced breeding lines and evaluation of virus level. *Plant Disease*, 81, 185-188.
- Larsen, R.C., Kaiser, W. J., and Wyatt, S. D. (1996). First Report of a Virus Disease of Chickpea Caused by a Strain of Red Clover Vein Mosaic Carlavirus. *Plant Disease*, 80, 709.
- Larsen, R.C. and Myers, J.R. (1998). First report of red clover vein mosaic *Carlavirus* naturally infecting lentil. *Plant Disease*, 82, 1064.
- Latham, L.J., Jones, R.A.C. (2001). Incidence of virus infection in experimental plots, commercial crops and seed stocks of cool season crop legumes. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52, 397–413.
- Law, M.D., Speck, J., Moyer, J.W. (1992). The M RNA of *Impatiens necrotic spot Tospovirus* (*Bunyaviridae*) has an ambisense genomic organization. *Virology*, 188, 732-741.
- Lázár J., Kölber M., Lehoczky J. (1990). Detection of some nepoviruses (GFV, GFV-YM, GCMV, ArMV) in the seeds and seedlings of grapevines by ELISA. *Kertgazdaság*, 22, 58-72.
- Lazarowitz, S.G. (1987). The molecular characterisation of geminiviruses. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 4,177-192.
- Leathers, V., Tanguay, R., Kobayashi, M and Gallie, D.R. (1993). A phylogenetically conserved sequence within the viral 3' untranslated RNA pseudoknots regulates translation. *Mol. Cell Biol.*, 13, 5331-5347.
- Lee, C.L. and Black, L.M. (1955). Anatomical studies of *Trifolium incarnatum* infected by *Wound tumor virus*. *Am. J. Bot.*, 42, 160-168.
- Lee, W-S., Hammond-Kosack, K.E. and Kanyuka, K. (2012). Barley stripe mosaic virus-mediated tools for investigating gene function in cereal plants and their pathogens: virus-induced gene silencing, host-mediated gene silencing, and virus-mediated overexpression of heterologous protein. *Plant Physiology*, 160, 582-590.
- Lee, S-Y., Lee, C., Kim, J., Jung, H-Y. (2012a). Application of optical coherence tomography to detect *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) infected cucumber seed. *Research Report Tissue Culture/Biotechnology, Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 53, 428-433.
- Lee, S., Kim, C.S., Shin, Y.G., Kim, J.H., Kim, Y.S., Jheong, W.H. (2015). Development of nested PCR-based specific markers for detection of *Peach rosette mosaic virus* in plant quarantine. *Indian Journal of Microbiology*, DOI 10.1007/s12088-015-0548-2
- Le Gall, O. (2003). *Lettuce mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 399, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Lei, J.D. and Agrios, G.N. (1986). Mechanisms of resistance in corn to *Maize dwarf mosaic virus*. *Phytopathology*, 76, 1034-1040.
- Léonard, S., Plante, D., Wittmann, S., Daigneault, N. Fortin, M.G. and Laliberté J.F. (2000). Complex formation between potyvirus VPg and translation eukaryotic initiation factor 4E correlates with virus infectivity. *J. Virol.*, 74, 7730-7737.
- Leisova-Svobodova, L. and Karlova-Smekalova, K. (2011). Detection of garlic viruses using SYBR green real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *J. Phytopathol.*, 159, 429–434.
- Leong, M.M.L., C. Milstein, and R. Pannell. 1986. Luminescent detection method for immunodot, western, and southern blots. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 34, 1645–1650.



- Levy, L., Damsteegt, V., Scorza, R. and Kolber, M. (2000). *Plum pox potyvirus* disease of stone fruits. *APSnet Features*. Online. doi: 10.1094/APSnetFeature-2000-0300
- Lewandowski, D.J. and Dawson, W.O. (2000). Functions of the 126- and 183-kDa proteins of tobacco mosaic virus. *Virology*, 271, 90-98.
- Li, X., Valdez, R., Olvera, R.E. and Carrington, J.C. (1997). Functions of the tobacco etch virus RNA polymerase (Nib): subcellular transport and protein-protein interaction with VPg proteinase (NIa). *J. Virol.*, 71, 1598-1607.
- Li, F., Chen, J. L., Yang, G. H., Cai, H., Kong, B. H., Chen, H. R. (2009). First report of *Apple mosaic virus* infecting rose in Yunnan, China. *Journal of Plant Pathology*, 91, 237.
- Li, K., Yang, Q. H., Zhi, H. J., and Gai, J. Y. (2010). Identification and distribution of *Soybean mosaic virus* strains in Southern China. *Plant Disease*, 94, 351-357.
- Li, G., Zhao, L., Wang, X., Gao, Y., Sun, G., Zhu, X. (2014). New natural hosts of *Tomato yellow leaf curl virus* identified in and near tomato-growing greenhouses in eastern China. *Journal of General Plant Pathology*, 80, 449-453.
- Limburg, D. D., Mauk, P. A., and Godfrey, L. D. (1997). Characteristics of *Beet yellows closterovirus* transmission to sugar beets by *Aphis fabae*. *Phytopathology*, 87, 766-771.
- Lin, N.-S., Hsu, Y.-H. and Chiu, R.-J. (1987). Identification of viral structural proteins in the nucleoplasm of potato yellow dwarf virus-infected cells. *J. Gen. Virol.*, 68, 2723-2728.
- Lin, T.W., Chen, Z.G., Usha, R., Stauffacher, C.V., Dai, J., Schmidt, T., Johnson, J.E. (1999). The refined crystal structure of *Cowpea mosaic virus* at 2.8 angstrom resolution. *Virology*, 265, 20-34.
- Ling, K. S., Zhu, H. Y., Alvizo, H., Hu, J. S., Drong, R. F., Slightom, J. L., and Gonsalves, D. (1997). The coat protein gene of *Grapevine leafroll associated closterovirus-3*: Cloning, nucleotide sequencing and expression in transgenic plants. *Arch. Virol.*, 142, 1101-1116.
- Linstead, P.J., Hills, G.J., Plaskitt, K.A., Wilson, I.G., Harker, C.L. and Maule, A.J. (1988). The subcellular location of the gene I product of cauliflower mosaic virus is consistent with a function associated with virus spread. *J. Gen. Virol.* 69, 1809-1818
- Lisa, V. and Lecoq, H. (1984). *Zucchini yellow mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No 282. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Lisa, V., Milne, R.G., Accotto, G.P., Boccardo, G., Caciagli, P. and Parvizy, R. (1988). *Ourmia melon virus*, a virus from Iran with novel properties. *Ann. Appl. Biol.* 112, 291-302.
- Lister, R.M. (1966). Possible relationship of virus specific products of *Tobacco rattle virus* infections. *Virology*, 28, 350-353.
- Lister, R.M. (1968). Functional relationships between virus-specific products of infection by viruses of the tobacco rattle type. *J. Gen. Virol.*, 2, 43-58.
- Lister, R.M., Ranieri, R. (1995). Distribution and economic importance of barley yellow dwarf. In: D'Arcy CJ, Burnett PA, eds. *Barley Yellow Dwarf - 40 Years of Progress*. St. Paul, USA: APS Press, 29-53.
- Litvak, S., Tarrago, A., Tarrago-Litvak, L. and Allende, J.E. (1973). Elongation factor viral genome interaction dependent on, the aminoacylation of TYMV and TMV RNAs. *Nature (London)*, 241, 88-90.
- Liu, H.-Y., Sears, J. L., and Lewellen, R. T. (2005). Occurrence of resistance-breaking *Beet necrotic yellow vein virus* of sugar beet. *Plant Disease*, 89, 464-468.
- Liu, M.-H., Li, M.-J., Qi, H.-H., Guo, R., Liu, X.-M., Wang, Q., and Cheng, Y.-Q. (2013). Occurrence of grapevine leafroll-associated viruses in China. *Plant Disease*, 97, 1339-1345.

- Liu, H.W., Luo, L.X., Li, J.Q., Liu, P.F., Chen, X.Y., Hao, J.J. (2014). Pollen and seed transmission of *Cucumber green mottle mosaic virus* in cucumber. *Plant Pathology*, 63, 72-77.
- Llácer, G. (2006). Hosts and symptoms of *Plum pox virus*: Herbaceous hosts. *EPPO Bulletin*, 36, 227-228.
- Loebenstein, G. (2008). Economic aspects. *Encyclopedia of Virology* (3rd edition) Vol.5 pp. 197-201. Elsevier.
- Locatelli, E. A., Allen, T. C., Koepsell, P. A., Appleby, A. P. (1978). Diagnosis of tobacco rattle virus (TRV) and other viruses in weed and rotation crops in potato fields. *American Potato Journal*, 55, 249-257.
- Lolić, B., Myrta, A., Đurić, G., Krstić, B. (2007). Pome fruit viruses in Bosnia and Herzegovina. *Pesticidi i fitomedicina*, 22, 165-172.
- Lomonosoff, G.P. and Shanks, M. (1999). Comoviruses (Comoviridae). In: A. Granoff and R.G. Webster (eds) *Encyclopedia of Virology*, 2nd edn, pp. 285-291. Academic Press, San Diego.
- Long, R.D., Cassells, A.C. (1986). Elimination of viruses from tissue cultures in the presence of antiviral chemicals. In: Withers LA, Alderson PG (eds) *Plant tissue culture and its agricultural applications*, Butterworths, London, 239-248.
- López-Fabuel, I., Olmos, A., Bassler, A., Dupuis-Maguiraga, L., Torres, L. B., Bertolini, E., Wetzel, T. (2013). Molecular analysis of the genomic RNAs 1 and 2 of the first *Arabidopsis mosaic virus* isolate detected in Spanish grapevines. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11, 199-203.
- Lot, H., Chovelon, V., Souche, S., and Delecote, B. (1998). Effects of onion yellow dwarf and leek yellow stripe viruses on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars. *Plant Disease*, 82, 1381-1385.
- Louie, R., Abt, J.J. (2004). Mechanical transmission of maize rough dwarf virus. *Maydica*, 49, 231-240.
- Lovisolo, O. (1971). *Maize rough dwarf virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No 72. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Lovisolo, O., Accotto, G.P., Vera Masenga, V., Colariccio, A. (2003). An Isolate of *Apple stem grooving virus* associated with Cleopatra mandarin fruit intumescence. *Fitopatol. bras.*, 28, 54-58.
- Lozano, G., Moriones, E., Navas-Castillo, J. (2007). Complete sequence of the RNA1 of a European isolate of *Tomato chlorosis virus*. *Archives of virology*, 152, 839-841.
- Lozoya-Saldana, H.F., Abello, J., Garcia, G. (1996). Electrotherapy and shoot-tip culture eliminate *Potato Virus X* in potatoes. *Am J Potato Res*, 73, 149-154.
- Lu, G., Zhou, Z.H., Baker, M.L., Jakana, J., Cai, D., Wei, X., Chen, S., Gu, X., Chiu, W. (1998). Structure of double-shelled *Rice dwarf virus*. *J. Virol.*, 72, 8541-8549.
- Luigi, M., Zindović, J. Stojanović, I. and Faggioli, F. (2016). First report of Potato spindle viroid in Montenegro. *Journal of Plant Pathology*, 98, 171-185.
- Lunden, S., Baozhong, M., Avery, J. Jr., Qiu, W. (2010). Association of *Grapevine fanleaf virus*, *Tomato ringspot virus* and *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* with a grapevine vein-clearing complex on var. Chardonnay. *European Journal of Plant Pathology*, 126, 135-144.
- Lunello, P., Ducasse, D., Conci, V. (2005). Improved PCR detection of potyviruses in *Allium* species. *European Journal of Plant Pathology*, 112, 371-378.

Lwoff, A., Hornee, R., Tournier, P. (1962). Un système de virus. C.R.Ac. Sei., Paris, 254, 4225-4227.

## M

- Ma, Y. X., Li, J. J., Li, G. F. and Zhu, S. F. (2014). First report of *Cherry mottle leaf virus* infecting cherry in China. *Plant Disease*, 98, 1161-1161.
- Mabry, T. R., Hobbs, H. A., Steinlage, T. A., Johnson, B. B., Pedersen, W. L., Spencer, J. L., Levine, E., Isard, S. A., Domier, L. L., and Hartman, G. L. (2003). Distribution of leaf-feeding beetles and *Bean pod mottle virus* (BPMV) in Illinois and transmission of BPMV in soybean. *Plant Disease*, 87, 1221-1225.
- Mackie, A. E., Coutts, B. A., Barbetti, M. J., Rodoni, B. C., McKirdy, S. J. and Jones, R. A. C. (2015). Potato spindle tuber viroid: stability on common surfaces and inactivation with disinfectants, *Plant Disease*, 99, 770-775.
- Mahmoud, Y.M., Hosseney, M.H., Abdel-Ghaf, M.H. (2009). Evaluation of some therapies to eliminate *Potato Y potyvirus* from potato plants. *Int J Virol*, 5, 64-76.
- Mali, V. R., Glasa, M., Kudela, O., Ciampor, F. (2000). Natural occurrence of *Beet mosaic potyvirus* (BtMV) on beet in west Slovakia. *Sugar Tech*, 2000, 2, 44-53.
- Maling, T., Diggle, A. J., Thackray, D. J., Siddique, K. H. M., and Jones, R. A. C. (2008). An epidemiological model for externally sourced vectorborne viruses applied to *Bean yellow mosaic virus* in lupin crops in a Mediterranean-type environment. *Phytopathology*, 98, 1280-1290.
- Malinowski, T., Cambra, M., Capote, N., Zawadska, B., Gorris, M.T. Scorza, R., Ravelonadro, M. (2006). Field trials of plum clones transformed with the *Plum pox virus* coat protein (PPV-CP) gene. *Plant Disease*, 90, 1012-1018.
- Maliogka, V.I., Martelli, G.P., Fuchs, M., Katis, N.I. (2015). Control of viruses infecting grapevine. *Advances in Virus Research*, 91, 175-227.
- Mansky, L.M., Durand, D.P., Hill, J.H. (1991). Effects of temperature on the maintenance of resistance to *Soybean mosaic virus* in soybean. *Phytopathology*, 81, 535-538.
- Mannerlöf, M., Lennerfors, B. L., Tenning, P. (1996). Reduced titer of BNYVV in transgenic sugar beets expressing the BNYVV coat protein. *Euphytica*, 90, 293-299.
- Mannige, R.V. and Brooks, C.L. (2010). Periodic table of virus capsids: Implications for natural selection and design." *PLoS ONE*, 5, doi:10.1371/journal.pone.0009423
- Mansour, A. and Al-Musa, A. (1982). Incidence, economic importance and prevention of *Watermelon mosaic virus-2* in squash (*Cucurbita pepo*) fields in Jordan. *Phytopathologische Zeitschrift*, 103, 35-40.
- Maris, P. C., Joosten, N. N., Goldbach, R. W., and Peters, D. (2003). Restricted spread of *Tomato spotted wilt virus* in thrips-resistant pepper. *Phytopathology*, 93, 1223-1227.
- Markham, R. and Smith, K.M. (1949). Studies on the virus of *Turnip yellow mosaic*. *Parasitology*, 39, 330-342.
- Markham, R. (1951). Physicochemical studies on the *Turnip yellow mosaic virus*. *Discuss. Faraday Soc.*, 11, 221-227.
- Marsh, L.E. and Guilfoyle, T.J. (1987). Cauliflower mosaic virus replication intermediates are encapsidated into virion-like particles. *Virology*, 161, 129-137.
- Martelli, G. P., Conti, M., Minafra, A. (2001). *Grapevine virus A*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No 383. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

- Martelli, G. P., Walter, B., Pinck, L. (2001a). *Grapevine fanleaf virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No 385. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Martelli, G.P., Saldarelli, P., Minafra, A. (2011). *Grapevine leafroll-associated virus 3*. Descriptions of Plant Viruses, No 422. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Martelli, G. P., Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Agranovsky, A. A., Al Rwahnih, M., Dolja, V. V., Dovas, C. I., Fuchs, M., Gugerli, P., Hu, J. S., Jelkmann, W., Katis, N. I., Maliogka, M.J., Melzer, W., Menzel, A., Minafra, M.E., Rott, A., Rowhani, S., Sabanadzovic, P., Saldarelli, P. (2012). Taxonomic revision of the family *Closteroviridae* with special reference to the grapevine leafroll-associated members of the genus *Ampleovirus* and the putative species unassigned to the family. *Journal of Plant Pathology*, 94, 7-19.
- Martelli, G.P. (2014). Next generation sequencing, a powerful tool for the discovery of new grapevine infecting viruses. *Journal of Plant pathology*, 96 (1S), 5-6.
- Martelli, G.P. (2014a). Grapevine-infecting viruses. *Journal of plant pathology*, 96 (1S), 7-8.
- Martin, R.R., Polashock, J.J. and Tzanetakis, I.E. (2012). New and emerging viruses of blueberry and cranberry. *Viruses*, 4, 2831–2852.
- Martin, R.R., MacFarlane, S., Sabanadzovic, S., Quito, D., Poudel, B. and Tzanetakis, I.E. (2013). Viruses and Virus Diseases of *Rubus*. *Plant Disease*, 97, 168-182.
- Martinez-Izquierdo, J. and Hohn, T. (1987). *Cauliflower mosaic virus* coat protein is phosphorylated in vitro by a virion-associated protein kinase. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 84, 1824-1828.
- Martínez-Gómez, P., Rubio, M., Dicenta, F. and Gradziel, T.M. (2004). Utilization of almond as source of plum pox virus resistance in peach breeding. *Acta Hortic.*, 657, 289-293.
- Martins, A., Carneiro, L.C., Perreira, A.M., Eires-Dias, J., Magalhaes, N., Ramadas, I., Antunes, A., Madeira, D., Teixeira, K., Banza, J. (1997). Efeito do vírus associado ao enrolamento foliar - GLRaV-3 - sobre o rendimento de castas de videira: novos resultados, novas perspectivas. In 12th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-Like Diseases of the Grapevine (ICVG). Lisboa, 177-178.
- Martins, C.R.F., Johnson, J.A., Lawrence, D.M. (1998). *Sonchus* yellow net rhabdovirus nuclear viroplasm contains polymerase-associated proteins. *J. Virol.*, 72, 5669-5679.
- Maruthi, M.N., Czosnek, H., Vidavski, F., Tarba, S-Y., Milo, J., Leviatov, S., Venkatesh, H.M., 1, Padmaja, A.S., Kulkarni, R.S., and Muniyappa, V. (2003). Comparison of resistance to *Tomato leaf curl virus* (India) and *Tomato yellow leaf curl virus* (Israel) among *Lycopersicon* wild species, breeding lines and hybrids. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 1–11.
- Marzachi, C, Boccardo, G., Milne, R., Isogai, M. and Uyeda, I. (1995). Genome structure and variability of Fijiviruses. *Semin. Virol.*, 6,103-108.
- Más, P. and Beachy, R.N. (1999). Replication of tobacco mosaic virus on endoplasmic reticulum and role of the cytoskeleton and virus movement protein in intracellular distribution of the viral RNA. *J. Cell Biol.*, 147, 945-958.
- Mason, W.S., Taylor, J.M. and Hull, R. (1987). Retroid virus genome replication. *Adv. Virus Res.*, 32, 35-96.
- Matsushita, Y., and Tsuda, S. (2014). Distribution of *Potato spindle tuber viroid* in reproductive organs of petunia during its developmental stages. *Phytopathology*, 104, 964-969.
- Matthews, R.E.F. (1966). Reconstitution of *Turnip yellow mosaic virus* RNA with TMV protein subunits. *Virology*, 30, 82-96.

- Matthews, R.E.F. (1970). *Plant Virology*. Academic Press, New York.
- Matthews, R.E.F. (1973). Induction of disease by viruses, with special reference to turnip yellow mosaic virus. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 11,147-170.
- Matthews, R.E.F. (1975). A classification of virus groups based on the size of the particle in relation to genome size. *J. Gen. Virol.*, 27, 135-149.
- Matthews, R.E.F. (1980). *Turnip yellow mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No 230. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Maxim A, Zagrai L, Zagrai I and Isac M. (2004). Studies on the influence of *Apple stem grooving virus* on tree growth of various apple cultivars in the nursery. *Acta Hort.*, 657, 41-44.
- Maule, A.J. and Wang, D. (1996). Seed transmission of plant viruses: a lesson in biological complexity. *Trends Microbiol.*, 4,153-158.
- Mavrić , I., Ravnkar, M. (2001). *Iris yellow spot tospovirus* in Slovenia. In: Proceedings of the 5th Congress of the European Foundation for Plant Pathology: Biodiversity in Plant Pathology, Taormina-Giardini Naxos, Italy, 18-22 September 2000, Societa Italiana di Patologia Vegetale, 223-225.
- Mazzolini, L., Bonneville, J.M., Volovitch, M., Magazin, M. and Yot, P. (1985). Strand-specific viral DNA synthesis in purified viro- plasmids isolated from turnip leaves infected with cauliflower mosaic virus. *Virology*, 145, 293-303.
- Mayo, M. A., Murant, A. F., Harrison, B. D. and Goold, R. A. (1974). Two protein and two RNA species in particles of *Strawberry latent ringspot virus*. *J. gen. Virol.*, 24, 29-37.
- McDonald, M. R., de los Angeles Jaime, M., and Hovius, M.H.Y. (2004). Management of Diseases of Onions and Garlic. S.A.M.H. Naqvi (ed.), *Diseases of Fruits and Vegetables*, Kluwer Academic Publishers. Volume II, 149-200.
- McGavin, W.J., McMenemy, L.S., MacFarlane, S.A. (2010). The complete sequence of a UK strain of black raspberry necrosis virus. *Arch Virol.*, 155,1897-1899.
- McKendrick, L., Pain, V.P and Morley, S.J. (1999). Translation initiation factor 4E. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 31, 31-35.
- McKenry, M. V., Thomason, I. J. (1974). Dosage values obtained following pre-plant fumigation for perennials. I 1,3-dichloropropene nematicides in eleven field situations. *Pestic Sci*, 7, 521–534.
- McKinney, H.H. (1929). Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *J. Agric. Res.*, 39, 557-578.
- McMullen, M. and Waldstein, D. (2010). *Wheat streak mosaic virus*. *Plant Disease Management*, NDSU Extension Service, PP-645,
- Mehle, N., Gutiérrez-Aguirre, I., Prezelj, N., Delić, D., Vidic, U., and Ravnkar, M. (2014). Survival and transmission of *Potato virus Y*, *Pepino mosaic virus*, and *Potato spindle tuber viroid* in water. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 1455–1462.
- Mekuria, T.A., Druffel, K.L., Susaimuthu, J., Eastwell, K.C. (2013). Complete nucleotide sequence of a strain of cherry mottle leaf virus associated with peach wart disease in peach. *Arch Virol.*, 158, 2201-2203.
- Ménissier, J., de Murcia, G., Geldreich, A. and Lebeurier, G. (1986). Evidence for a protein kinase activity associated with purified particles of cauliflower mosaic virus. *J. Gen. Virol.*, 67, 1885-1891.
- Menzel, W, Abang, M.M., Winter, S. (2011). Characterization of *Cucumber vein-clearing virus*, a whitefly (*Bemisia tabaci* G.) -transmitted *Carlavirus*. *Arch. Virol.*, 156, 2309-2311.

- Merits, A., Guo, D. and Saarma, M. (1998). VPg, coat protein and five non-structural proteins of potato A potyvirus bind RNA in a sequence-unspecific manner. *J. Gen. Virol.*, 79, 3123-3127.
- Mernaugh, R.L., Gardner, W.S. and Yocom, K.L. (1980). Three dimensional structure of pinwheel inclusions as determined by analytical geometry. *Virology*, 106, 273-281.
- Mertens, P.P.C., Arella, M., Attoui, H. et al. (2000). Genus Fijivirus, genus Phytoreovirus, genus Oryzavirus. In: M. van Regenmortel et al. (eds) *Virus Taxonomy: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, pp. 455-480. Academic Press, New York.
- Meunier, S. and Verhoyen, M. (1987). Carrot motley dwarf disease on carrot and parsley in Belgium. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*, 52, 1019-1025.
- Mickovski, J. (1965). Prilog poznavanja viroza duvana u SR Makedoniji. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Mikel, M. A., D'Arcy, C.J., Ford, R.E. (1984). Seed transmission of *Maize dwarf mosaic virus* in sweet corn. *Journal of Phytopathology*, 110, 185-191.
- Milenković, S., Ružić, Đ., Cerović, R., Ogašanić, D., Tešović, Ž., Mitrović, M., Paunović, S., Plazinić, R., Marić, S., Lukić, M., Radičević, S., Lepsavić, A., Milinković, V., Weber, C. (2006). Sorte voćaka stvorene u Institutu za voćarstvo-Čačak i Nove sorte maline i kupine za tržište svežih plodova i prerađevina. Institut za istraživanja u poljoprivredi Srbija, 1-184.
- Miller, W.A., Bujarski, J.J., Dreher, T.W. and Hall, T.C. (1986). Minus-strand initiation of brome mosaic virus replicase within the 3' tRNA-like structure of native and modified RNA templates. *J. Mol. Biol.*, 187, 537-546.
- Milne, R.G., Conti, M. and Lisa, V. (1973). Partial purification, structure and infectivity of complete *Maize rough dwarf virus* particles. *Virology*, 53, 130-141.
- Milne, R.G. and Lovisolo, O. (1977). *Maize rough dwarf* and related viruses. *Adv. Virus Res.*, 21, 267-341.
- Milne, R.G., Conti, M., Lesemann, D.E., Stellmach, G., Tanne, E., Cohen, J. (1984). Closterovirus-like particles of two types associated with diseased grapevines. *Phytopathologische Zeitschrift*, 110, 360-368.
- Milojević, K., Stanković, I., Vučurović, A., Ristić, D., Nikolić, D., Bulajić, A. & Krstić, B. (2012). First report of *Cucumber mosaic virus* infecting watermelon in Serbia. *Plant Disease*, 96, 1706
- Milojević, K., Stanković, I., Vučurović, A., Ristić, D., Nikolić, D., Bulajić, A. & Krstić, B. (2013). Biološka i molekularna karakterizacija virusa mozaika krastavca poreklom iz lubenice u Srbiji. *Zaštita bilja*, 64, 283, 14-25
- Milošević, D. (1989). Rasprostranjenost nekih virusa krompira na području Zapadne Srbije. *Zaštita bilja*, 40, 367-374.
- Milošević, M. B., Ignjatov, M. V., Medić-Pap, S. S. (2006). The most important pathogens transmitted by sugar beet. *Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad*, 110, 55-64.
- Milošević, D. (2009). Zaštita krompira – bolesti, štetočine, korovi, semenarstvo. Monografija. Agronomski fakultet, Čačak, 1-390.
- Milošević, S., Cingel, A., Jevremović, S., Stanković, I., Bulajić, A., Krstić, B. and Subotić, A. (2012): Virus elimination from ornamental plants using in vitro culture techniques. *Pestic. Phytomed.* (Belgrade), 27, 203-211.

- Milošević, D. (2013). Važniji virusi krompira u Srbiji i primena integralnih mera u njihovom suzbijanju. *Zaštita bilja*, 64, 58-81.
- Milošević, D., Marjanović-Jeromela, A., Jovičić, D., Ignjatov, M., Nikolić, Z. and Terzić, S. (2015). First report of *Alfalfa mosaic virus* on safflower in Serbia. *Plant Disease*, 99, 896.
- Milošević, D., Ignjatov, M., Nikolić, Z., Gvozdanović-Varga, J., Tamindžić, G., Stanković, I., and Krstić, B. (2015a). The presence of *Cucumber mosaic virus* in pot marigold (*Calendula officinalis* L.) in Serbia. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 52, 67-73.
- Milusheva, S., Zhivondov, A., and Bozhkova, V. (2012). Segregation of plum hybrid families bred for resistance to *Plum pox virus*. *Acta agriculturae Serbica*, 17, 69-74.
- Minafra, A., Saldarelli, P., Martelli, G.P. (1997). *Grapevine virus A*: nucleotide sequence, genome organization, and relationship in the *Trichovirus* genus. *Archives of Virology*, 142, 417-423.
- Miura, K.-I., Kimura, I. and Suzuki, N. (1966). Double-stranded ribonucleic acid from *Rice dwarf virus*. *Virology*, 28, 571-579.
- Mizuno, A., Sano, T., Fujii, H., Miura, K. and Yazaki, K. (1986). Supercoiling of the genomic doublestranded RNA of rice dwarf virus. *J. Gen. Virol.*, 67, 2749-2755.
- Moffat, A. S. (1999). Geminiviruses emerge as serious crop threat. *Science*, 286,1835.
- Moini, A.A. (2010). Identification of *Tomato ringspot virus*(ToRSV) on apple in Iran. *Australasian Plant Disease Notes*, 5, 105-106.
- Momol, M. T., Olson, S. M., Funderburk, J. E., Stavisky, J., and Marois, J. J. (2004). Integrated management of tomato spotted wilt on field-grown tomatoes. *Plant Disease*, 88, 882-890.
- Morales, F.J., Bos, L. (1988). *Bean common mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 337, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Mou, B., Richardson, K., Benzen, S., and Liu, H.Y. (2012). Effects of *Beet necrotic yellow vein virus* in spinach cultivars. *Plant Disease*, 96, 618-622.
- Mougeot, J., Guidasci, T., Wurch, T., Lebourier, G. and Mesnard, J. (1993). Identification of C-terminal amino acid residues of cauli-flower mosaic virus open reading frame III protein responsible for its DNA binding activity. *Proc. Natl Acad. Sei. USA*, 90, 1470-1473.
- Moury, B., Cardin, L., Onesto, J.-P., Candresse, T., and Poupet, A. (2001). Survey of *Prunus necrotic ringspot virus* in rose and its variability in rose and *Prunus* spp. *Phytopathology*, 91, 84-91.
- Mukhopadhyay, S. (2010). Plant virus, vector. *CRC Press*, 1-526.
- Müller, H.O. (1942). Die Ausmessung der Tiefe übermikroskopischer Objekte. *Kolloid-Z.*, 99, 6-28, *Chem. Abstr.* 37, 3991.
- Mundry, K.W., Watkins, P.A.C., Ashfield, T., Plaskitt, K.A., Eiselawalter, S. and Wilson, T.M.A. (1991). Complete uncoating of the 5' leader sequence of tobacco mosaic virus RNA occurs rapidly and is required to initiate cotranslational disassembly in vitro. *J. Gen. Virol.*, 72, 769-777.
- Muniz, F. R., De Souza, A. J., Stipp, L. C. L., Schinor, E., Freitas Jr, W., Harakava, R., Stach-Machado, D.R., Rezende, J.A.M., Mourão Filho, F.A.A. and Mendes, B.M.J. (2012). Genetic transformation of *Citrus sinensis* with *Citrus tristeza virus* (CTV) derived sequences and reaction of transgenic lines to CTV infection. *Biologia Plantarum*, 56, 162-166.
- Munro, D. (1978). *Pea seed-borne mosaic virus* in quarantine. *Aust. Plant Pathol. Soc. Newsl.*, 7, 10.

- Murant, A.F. (1970). *Tomato clack ringspot virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 38, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Murant, A.F. (1970a). *Arabidopsis mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 16, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Murant, A. F., Mayo, M. A., Harrison, B. D., Goold, R. A. (1972). Properties of virus and RNA components of *Raspberry ringspot virus*. *J. Gen. Virol.*, 16, 327-338.
- Murant, A.F. (1974). *Strawberry latent ringspot virus*. Descriptions of Plant Viruses, No 126. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Murant, A.F. (1974a). *Carrot mottle virus*. Descriptions of Plant Viruses, No 137. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Murant, A.F. (1978). *Raspberry ringspot virus*. Descriptions of Plant Viruses, No 198. Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Muravjeva, M.F. (1973): Soybean mosaic in the Khabarovsk region. *Trudy Dalnerost.*, 13, 156-158.
- Murphy, M. (2011). Plants, biotechnology and agriculture. CAB International, Wallingford 310.
- Myrta, A., Terlizzi, B. di, Boscia, D., Choueiri, E., Gatt, M., Gavriel, I., Çağlayan, K., Varveri, C., Zeramardini, H., Aparicio, F., Pallás, V., Savino, V. (2001). Serological characterisation of Mediterranean *Prunus necrotic ringspot virus* isolates. *Journal of Plant Pathology*, 83, 45-49.

## N

- Nagano, A.J., Honjo, M.N., Mihara, M., Sato, M., Kudoh, H. (2015). Detection of plant viruses in natural environments by using RNA-Seq. *Methods Mol Biol.*, 1236, 89-98.
- Nagar, S., Pedersen, T.J., Carrick, K., Hanley-Bowdoin, L. and Robertson, D. (1995). A geminivirus induces expression of a host DNA replication protein in terminally differentiated plant cells. *Plant Cell*, 7, 705-719.
- Nagl, N. (2003). Kloniranje vektora za transformaciju biljaka uvođenjem gena za protein omotača virusa izazivača rizomanije. Doktorska disertacija, Biološki fakultet, Beograd
- Nagl, N., Atanasov, I., Rusanov, K., Paunović, S. Kovačev, L., and Atanasov, A. (2005). Advances in development of transgenic resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* in sugar beet. *Genetika*, 37, 181-189.
- Naidu, R.A. and Hughes J.d'A (2001). Methods for the detection of plant virus diseases. In: Hughes, J.d'A and BO Odu (eds.). Plant virology in sub-Saharan Africa. Proceedings of a Conference Organized by IITA. International Institute of Tropical Agriculture. Nigeria. p.233-260.
- Naidu, R., Rowhani, A., Fuchs, M.F., Golino, A.D., Martelli, P.G. (2014). *Grapevine leafroll disease: A complex viral disease affecting a high value fruit crop*. *Plant Disease*, 98, 1172-1185.
- Nakazono-Nagaoka, E., Takahashi, T., Shimizu, T., Kosaka, Y., Natsuaki, T., Omura, T., Sasaya, T. (2009). Cross-protection against bean yellow mosaic virus (BYMV) and clover yellow vein virus by Attenuated BYMV isolate M11. *Phytopathology*, 99, 251-257.
- Namba, K. and Stubbs, G. (1986). Structure of *Tobacco mosaic virus* at 3.6 Å resolution: implications for assembly. *Science*, 231, 1401-1406.



- Namba, K., Pattanayek, R. and Stubbs, G. (1989). Visualization of protein-nucleic acid interactions in a virus: refined structure of intact *Tobacco mosaic virus* at 2.9 Å resolution by X-ray fibre diffraction. *J. Mol. Biol.*, 208, 307-325.
- Nameth, S. T., Dodds, J. A., Paulus, A. O., and Laemmlen, F. F. (1986). Cucurbit viruses of California: an ever changing problem. *Plant Disease*, 70, 8-11.
- Navas-Castillo, J., Camero, R., Bueno, M. and Moriones, E. (2000). Severe yellowing outbreaks in tomato in Spain associated with infections of *Tomato chlorosis virus*. *Plant Disease*, 84, 835–837.
- Navas-Castillo, J., Fiallo-Olivé, E., Sánchez-Campos, S. (2011). Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annu Rev Phytopathol.*, 49, 219-248.
- Navia, D., Santos de Mendonça, R., Skoracka, A., Szydło, W., Knihinicki, D., Hein, G.L., da Silva Pereira, P.R.V., Truol, G., Lau, D. (2012). Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. *Exp Appl Acarol*, DOI 10.1007/s10493-012-9633-y
- Ng, J.C., Chen, A.Y. (2011). Acquisition of *Lettuce infectious yellows virus* by *Bemisia tabaci* perturbs the transmission of *Lettuce chlorosis virus*. *Virus Res.*, 156, 64-71.
- Nemchinov, L. G., Hammond, J., Jordan, R., Hammond, R. W. (2004). The complete nucleotide sequence, genome organization, and specific detection of *Beet mosaic virus*. *Archives of Virology*, 149, 1201-1214.
- Németh, M. (1979). Gyümölcsfák vírusos, mikoplazmás és rickettsiás betegségei. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Németh, M. (1986). Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Neumüller, M., Hartmann, W., Petruschke, M., Treutter, D. (2010). The hypersensitivity resistance of european plum to the *Plum pox virus* and its potential impact on the epidemiology of the virus. 21st International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops. *Julius-Kühn-Archiv*, 427, 147-150.
- Nie, X., and Singh, R. P. (2001). Differential accumulation of *Potato virus A* and expression of pathogenesis-related genes in resistant potato cv. Shepody upon graft inoculation. *Phytopathology*, 91, 197-203.
- Nikolić, V., Stakić, D. (1964). Mozaik soje u Jugoslaviji. *Savremena poljoprivreda*, 9, 683-695.
- Nischwitz, C., Olsen, M. (2011). Beet curly top disease (*Curtoviruses*) in spinach and table beets in Arizona. The University of Arizona. AZ 1552.
- Nischwitz, C., Srinivasan, R., Sundaraj, S., Mullis, S. W., McInnes, B., and Gitaitis, R. D. (2012). Geographical distribution and survival of *Iris yellow spot virus* in spiny sowthistle, *Sonchus asper*, in Georgia. *Plant Disease*, 96, 1165-1171.
- Nixon, H.L. and Gibbs, A.J. (1960). Electron microscope observations on the structure of *Turnip yellow mosaic virus*. *J. Mol. Biol.*, 2, 197-200.
- Nome, C., Giagetto, A., Rossini, M., Feo, L. Di, Nieto, A. (2012). First report of *Apple scar skin viroid* (ASSVd) in apple trees in Argentina. *New Disease Reports*, 25, 3.
- Nontajak, S., Vulyasevi, S., Jonglaekha, N. Smitamana, P. (2014). Detection of *Cucumber green mottle mosaic tobamovirus* (CGMMV) in three growth stages of Japanese cucumber in the highland area of Northern Thailand. *Journal of Agricultural Technology*, 10, 277-287.
- Noueiry, A.O. and Ahlquist, P. (2003). *Brome mosaic virus* RNA replication: revealing the role of the host in RNA virus replication. *Annu Rev Phytopathol.*, 41, 77-98.

## O

- Odumosu, A.O., Homer, R.B. and Hull, R. (1981). Circular dichroism studies on *Southern bean mosaic virus*. *J. Gen. Virol.*, 53, 193-196.
- Offord, R.E. (1966). Electron microscopic observations on the substructure of *Tobacco rattle virus*. *J. Mol. Biol.*, 17, 370-375.
- Oldfield, G.N., Creamer, R., Gispert, C., Osorio, F., Rodrigues, R. and Perring, T.M. (1995). Incidence and distribution of peach mosaic and its vector, *Eriophyes insidiosus* (Acari: Eriophyidae) in Mexico. *Plant Disease*, 79-186-189.
- Oliver, J. E., Freer, J., Andersen, R. L., Cox, K. D., Robinson, T. L., and Fuchs, M. (2009). Genetic diversity of *Prunus necrotic ringspot virus* isolates within a cherry orchard in New York. *Plant Disease*, 93, 599-606.
- Olson, A.J., Bricogne, G. and Harrison, S.C. (1983). Structure of *Tomato bushy stunt virus*: IV. The virus particle at 2.9 Å resolution. *J. Mol. Biol.*, 171, 61-93.
- O'Reilly, E.K., Paul, J.D. and Kao, C.C. (1997). Analysis of the inter-action of viral RNA replication proteins by using the yeast two- hybrid assay. *J. Virol.*, 71, 7526-7532.
- O'Reilly, E.K., Wang, Z., French, R. and Kao, C.C. (1998). Interactions between the structural domains of the RNA repli-cation proteins of plant-infecting RNA viruses. *J. Virol.*, 72, 7160-7169.
- Ortiz, V., Betbese Luca J., Lopez Querol, A., Romero, J. (2014). Detection of Maize rough dwarf virus in Spain: a survey of susceptible host genotypes and molecular characterization of two genomic segments of the virus. *Phytopathologia Mediterranea*, 53, 40–53.
- Oster, S.K., Wu, B. and White, K.A. (1998). Uncoupled expression of p33 and p92 permits amplification of *Tomato bushy stunt virus* RNAs. *J. Virol.*, 72, 5845-5851.
- Osman, T.A.M. and Buck, K.W. (1996). Complete replication in vitro of tobacco mosaic virus RNA by a template-dependent membrane-bound RNA polymerase. *J. Virol.*, 70, 6227-6234.
- Osman, T.A.M. and Buck, K.W. (1997). The tobacco mosaic virus RNA polymerase complex contains a plant protein related to the RNA-binding subunit of yeast eIF-3. *J. Virol.*, 71, 6075-6082.
- Osman, T.A.M., Hemenway, C.L. and Buck, K.W. (2000). Role of the 3' tRNA-like structure in tobacco mosaic virus minus-strand RNA synthesis by the viral RNA-dependent RNA polymerase in vitro. *J. Virol.*, 74,11671-11680.
- Ouchterlony, O. (1962). Diffusion-in-gel methods for immunological analysis II. *Progress in Allergy*, 6, 30–154.
- Owen, P.C. (1958). Photosynthesis and respiration rates of leaves of *Nicotiana glutinosa* infected with *Tobacco mosaic virus* and of *N. tabacum* infected with *Potato virus X*. *Ann. Appl. Biol.*, 46, 198-204.

## P

- Paliwal, Y.C. and Andrews, C.J. (1979). Effects of *Barley yellow dwarf* and *Wheat spindle streak mosaic viruses* on cold hardiness of cereals. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1, 71-75.
- Palmer, K.E. and Rybicki, E.P. (1998). The molecular biology of mas- treviruses. *Adv. Virus Res.*, 50,183-234.

- Palukaitis, P., Roossinck, M.J., Dietzgen, R.G. and Francki, R.I.B. (1992). *Cucumber mosaic virus*. *Advances in Virus Research*, 41, 281-348.
- Palukaitis, P. and Garcia-Arenal, F (2003). *Cucumber mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 400, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Panattoni, A., D' Anna, F., Triolo, E. (2007). Antiviral activity of tiazofurin and mycophenolic acid against Grapevine leafroll associated virus 3 in *Vitis vinifera* explants. *Antivir Res*, 73, 206–211.
- Pang, S.Z., Jan, F.J., Tricoli, D.M., Russell, P.F., Carney, K.J., Hu, J.S., Fuchs, M., Quemada, H.D., Gonsalves, D. (2000). Resistance to squash mosaic comovirus in transgenic squash plants expressing its coat protein genes. *Molecular Breeding*, 6, 97-93.
- Pappu, H. R., Rosales, I. M., and Druffel, K. L. (2008). Serological and molecular assays for rapid and sensitive detection of *Iris yellow spot virus* infection of bulb and seed onion crops. *Plant Disease*, 92:588-594.
- Pappu, H.R., Jones, R.A.C and Jaing, R.K. (2009). Global status of *Tospovirus* epidemics in diverse cropping systems: Successes achieved and challenges ahead. *Virus Research*, 141, 219–236.
- Pares, R.D., Gunn, L.V. and Keskula, E.N. (1996). The role of infective plant debris, and its concentration in soil, in the ecology of *Tomato mosaic tobamovirus*—a non-vectored plant virus. *J. Phytopathol.*, 144,147-150.
- Park, S.M., Lee, J.S., Jegal, S., Jeon, B.Y., Jung, M., Park, Y.S., Han, S.L., Shi, Y.S., Her, N.H. (2005). Transgenic watermelon rootstock resistant to CGMMV (cucumber green mottle mosaic virus) infection. *Genetic Transformation And Hybridization, Plant Cell Reports*, 24, 350-356.
- Parker, K. G., Brase, K. D., Schmid, G., Barksdale, T. H., and Allen, W. R. (1959). Influence of ring spot virus on growth and yield of sour cherry. *Plant Dis. Rep.*, 43, 380-384.
- Parrella, G., Lanave, C., Marchoux, G., Finetti Sialer, M.M., Di Franco, A., Gallitellim D. (2000). Evidence for two distinct subgroups of alfalfa mosaic virus (AMV) from france and italy and their relationships with other AMV strains Brief report. *Arch Virol.*, 145, 2659-67.
- Parrella, G., Acanfora, N., Orilio, A.F., Navas-Castillo, J. (2011). Complete nucleotide sequence of a Spanish isolate of *Alfalfa mosaic virus*: evidence for additional genetic variability. *Archives of Virology*, 156, 1049-1052.
- Paunović, S. (1997). Infektivna deformacija plodova dunje. Zadužbina Andrejević, Beograd, 1-85.
- Paunović, S., Maksimović, V., Ranković, M., Radović, S. (1999). Characterization of virus associated with pear stony pit in cv. Württemberg. *Journal of Phytopathology*, 147, 695-700.
- Paunović, S., Maksimović, V.R., Radović, S. R., Ranković, M. (2000). Detekcija virusa jamičavosti stabla jabuke u jabučastim vrstama voćaka. *Zaštita bilja*, 52, 5-18.
- Paunović S., Ružić Đ., Vujović T., Milenković S., Jevremović D. (2007). *In vitro* production of *Plum pox virus*-free plums by chemotherapy with ribavirin. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 21, 417-421.
- Paunović, S., Jevremović, D. (2010). Health status of pome and stone fruit planting material imported to Serbia. 21st International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops. *Julius-Kühn-Archiv*, 427, 300-303.
- Pejčinovski, F. (1978). Virusot na mosaicot na krastavicata koj odgleduvanite rastenija od familijata *Cucurbitaceae* vo SR Macedonija. Godišen zbornik na Zemljodelskot fakultet, Skopje, 27-28, 97-116.

- Pejkić, B. et Šutić, D. (1970). Morphologie et germination du pollen du prunier (*Prunus domestica* var Požegača) atteint par le virus de la Sharka. *Ann. Phytopathol. H. S.*, 235-244.
- Pennazio, S. and Roggero, P. (1997). Mineral nutrition and systemic virus infections in plants. *Phytopath. medit.*, 36, 54-66.
- Perhnam, R.N. and Wilson, T.M.A. (1976). The polarity of stripping of coat protein subunits from the RNA in tobacco mosaic virus under alkaline conditions. *FEBS Lett.*, 62,11-15.
- Perry, K.L. and McLane, H. (2011). *Potato virus M* in Bittersweet Nightshade (*Solanum dulcamara*) in New York State. *Plant Disease*, 95, 619.
- Pethybridge, S. J., Nelson, M. E., Eastwell, K. C., Klein, R. E., Kenny, S. T., and Wilson, C. R. (2002). Incidence and spatial distribution of viruses in hop gardens of Washington State. *Plant Disease*, 86, 661-665.
- Pethybridge, S. J., Hay, F.S., Barbara, D.J, Eastwell, K.C. and Wilson, C.R. (2008). Viruses and Viroids Infecting Hop: Significance, Epidemiology, and Management. *Plant Disease*, 92, 324-338.
- Petrzik, K. (2005). Capsid protein sequence gene analysis of *Apple mosaic virus* infecting pears. *European Journal of Plant Pathology* , 111, 355-360.
- Petrzik, K., Vondrák, J., Barták, M., Peksa, O., Kubešová, O. (2014). Lichens—a new source or yet unknown host of herbaceous plant viruses? *Eur J Plant Pathol.* 138, 549–559.
- Petrović, D., Bagi, F., Milošević, M., Vasić, M., Ignjatov, M., Vujaković, M., Nikolić, Z. (2007): Determinacija virusa običnog mozaika pasulja u Vojvodini. *Zaštita bilja*, 58, 15-25.
- Petrović, D. (2008): Rasprostranjenost virusa pasulja u Vojvodini. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Petrović, D., Bulajić, A., Stanković, I., Ignjatov, M., Vujaković, M. & Krstić, B. (2010). Prisustvo i rasprostranjenost virusa paprike u Srbiji. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 47, 567-576.
- Pfeiffer, P. and Durham, A.C.H. (1977). The cation binding associated with structural transitions in *Bromegrass mosaic virus*. *Virology*, 81, 419-132.
- Pfeiffer, P. and Hohn, T. (1983). Involvement of reverse transcription in the replication of cauliflower mosaic virus: a detailed model and test of some aspects. *Cell*, 33, 781-789.
- Pfeiffer, P, Laquel, P. and Hohn, T. (1984). Cauliflower mosaic virus replication complexes: characterisation of the associated enzymes and the polarity of DNA synthesised in vitro. *Plant Mol. Biol.*, 3, 261-270.
- Pfeiffer, P, Gordon, K., Filtterer, J. and Hohn, T. (1987). The life cycle of cauliflower mosaic virus. In: D. von Wettstein and N.-H. Chua (eds) *Plant Molecular Biology*, pp. 443—158. Plenum, New York.
- Pfister, T., Mirzayan, C. and Wimmer, E. (1999). Polioviruses (Picornaviridae): molecular biology. In: A. Granoff and R.G. Webster (eds) *Encyclopedia of Virology*, 2nd edn, pp. 1330-1348. Academic Press, San Diego.
- Piepenburg, O., Williams, C.H., Stemple, D.L., Armes, N.A., (2006). DNA detection using recombination proteins. *PLoS Biol.*, 4, e204.
- Pinck, M., Yot, P, Chapeville, F. and Duranton, H.M. (1970). Enzymatic binding of valine to the 3' end of TYMV-RNA. *Nature (London)*, 226, 954-956.
- Platz, G., Persley, D. and Plant Health Australia. (2009). Grains Industry Biosecurity Plan-Threat Specific Contingency Plan: Barley Stripe Mosaic Virus, Plant health Australia, 1-22.
- Pleij, C.W.A., Mellema, J.R., Noort, A. and Bosch, L. (1977). The occurrence of the coat protein messenger RNA in the minor components of turnip yellow mosaic virus. *FEBS Lett.*, 80,19-22

Poch, O., Sauvaget, I., Delarue, M. and Tordo, N. (1989). Identification of four conserved motifs among RNA-dependent polymerase encoding elements. *EMBO J.*, 8, 3867-3874.

Posthuma, K.I., Adams, A.N., Hong, Y., Kirby, M.J. (2002). Detection of *Strawberry crinkle virus* in plants and aphids by RT-PCR using conserved L gene sequences. *Plant Pathology*, 51, 266-274.

Postman, J.D. (1997). *Blueberry scorch carlavirus* eliminated from infected blueberry (*Vaccinium corymbosum*) by heat therapy and apical meristem culture. *Plant Disease*, 81, 111.

Powell, C.C., and Schlegel, D.E. (1970). Factors influencing seed transmission of squash mosaic virus in cantaloupe. *Phytopathology*, 60, 1466-1469

Powell Abel, P., Nelson, R.S., De, B., Hoffmann, N., Rogers, S.G., Fraley, R.T. and Beachy, R.N. (1986). Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 232, 738-743.

Price, W.C. (1940). Thermal inactivation rates of four plant viruses. *Archiv für die gesamte Virusforschung*, 1, 373-386.

Proeseler, G. (1980). Piesmids. In: K.F. Harris and K. Maramorosch (eds) *Vectors of Plant Pathogens*, pp. 97-113. Academic Press, New York.

Pudashini, B. J., Shahid, M. S. and Natsuaki K. T. (2013). First report of *Bean common mosaic necrosis virus* (BCMNV) infecting sweet bean in Nepal. *Plant Disease*, 97, 290.

Pyne, J.W. and Hall, T C. (1979). Efficient ribosome binding of brome mosaic virus (BMV) RNA4 contributes to its ability to outcompete the other BMV RNAs for translation. *Intervirology*, 11, 23-29.

## Q

Qu, F. and Morris, T.J. (2000). Cap-independent translation enhancement of *Turnip crinkle virus* genomic and subgenomic RNAs. *J. Virol.*, 74,1085-1093.

Quadt, R., Kao, C.C., Browning, K.S., Hershberger, R.P. and Ahlquist, P. (1993). Characterization of a host protein associated with brome mosaic virus RNA-dependent RNA polymerase. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 90,1498-1502.

Quadt, R., Verbeek, H.J.M. and Jaspars, E.M.J. (1988). Involvement of a non-structural protein in the RNA-synthesis of brome mosaic virus. *Virology*, 165, 256-261.

## R

Raccah, B., Blanc, S. and Huet, H. (2001). Molecular basis of vector transmission: Potyvirus. In: K. Harris, J.E. Duffus and O.P Smith (eds). *Virus-Insect-Plant Interactions*. Academic Press, San Diego

Raccah, B. and Fereres, A. (2009). Plant virus transmission by insects. In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.

Ragozzino, A., Iengo, C., Camele, I. (1985). *Lettuce necrotic yellows* in Campania and Latium. *Informatore Fitopatologico*, 35, 43-46.

Rajamony, L., More, T.A., Seshadi, V.S. (1990). Inheritance of resistance to cucumber green mottle mosaic virus in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Euphytica*, 47, 93-97.

Ralph, R.K. and Wojcik, S.J. (1966). Synthesis of double- stranded viral RNA by cell-free extracts from turnip yellow mosaic virus-infected leaves. *Biochim. Biophys. Acta*, 119, 347-361.

- Ramsdell, D.C., Stacey-Smith, R. (1983). *Blueberry leaf mottle virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 267, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Ramsdell, D.C., Myers, R.L. (1978). Epidemiology of *Peach rosette mosaic virus* in a Concord grape vineyard. *Phytopathology*, 68, 447-450.
- Ramsdell, D.C., Gillett, J.M., Rose, M (1983). Superimposed shallow and deep soil fumigation to control *Xiphinema americanum* and *Peach rosette mosaic virus* reinfection in a Concord vineyard. *Plant Disease*, 67, 625-627.
- Ramsdell, D.C., Gillett, J.M. (1998). *Peach rosette mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 364, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Randles; J.W. and Crowley, N.C. (1967). Epidemiology of *Cauliflower mosaic virus* in South Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 18, 289 – 298.
- Ratcliff , F., Martin-Hernandez, A.M., Baulcombe, D.C. (2001). Technical Advance. *Tobacco rattle virus* as a vector for analysis of gene function by silencing. *Plant Journal*, 25, 237-45.
- Reddy, D.V.R. and MacLeod, R. (1976). Polypeptide components of *Wound tumor virus*. *Virology* 70, 274-282.
- Redinbaugh, M.G., Gingery R.E. and Jones, M.W. (2004). The genetics of virus resistance in maize (*Zea mays*L.). *Maydica*, 49, 183-90.
- Redondo, E., Krause-Sakate,R., Yang,S., Lot,H., Le Gall,O. and Candresse, T. (2001): Pathogenicity determinants in susceptible and tolerant lettuce cultivars map to different regions of the viral genome. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14, 804–810.
- Reddy, D.V.R. and Black, L.M. (1973). Electrophoretic separation of all components of the double-stranded RNA of wound tumor virus. *Virology*, 54, 557-562.
- Reddy, D.V.R. and Black, L.M. (1974). Deletion mutations of the genome segments of wound tumor virus. *Virology*, 61, 458-173.
- Reddy, D.V.R. and Black, L.M. (1977). Isolation and replication of mutant populations of wound tumor virions lacking certain genome segments. *Virology*, 80, 336-346.
- Reimann-Philipp, U. and Bechy, R.N. (1993). The mechanism(s) of coat protein-mediated resistance against tobacco mosaic virus. *Seminars Virol.*, 4, 349-356.
- Renaudin, J., Bove, J.M., Otsuki, Y. and Takebe, I. (1975). Infection of *Brassica* leaf protoplasts by turnip yellow mosaic virus. *Mol. Gen. Genet.*, 141, 59-68.
- Restrepo-Hartwig, M.A. and Carrington, J.C. (1994). The tobacco etch potyvirus 6-kilodalton protein is membrane associated and involved in viral replication. *J. Virol.*, 68, 2388-2397.
- Restrepo-Hartwig, M.A. and Ahlquist, P. (1996). *Brome mosaic virus* helicase- and polymerase-like proteins colocalize on the endo-plasmic reticulum at sites of viral RNA synthesis. *J. Virol.*, 70, 8908-8916.
- Restrepo-Hartwig, M.A. and Ahlquist, P. (1999). *Brome mosaic virus* RNA replication proteins 1a and 2a colocalize and 1a independ-ently localizes on the yeast endoplasmic reticulum. *J. Virol.*, 73, 10303-10309
- Revers, F., Lot, H., Souche, S., Le Gall, O., Candresse, T., and Dunez, J. (1997). Biological and molecular variability of lettuce mosaic virus isolates. *Phytopathology*, 87, 397-403.
- Rezelman, G., van Kammen, A. and Wellink, J. (1989). Expression of cowpea mosaic virus mRNA in cowpea protoplasts. *J. Gen. Virol.*, 70, 3043-3050.

- Rist, D.L. and Lorbeer, J.W. (1991). Relationships of weed reservoirs of *Cucumber mosaic virus* (CMV) and *Broad bean wilt virus* (BBWV) to CMV and BBWV in Commercial Lettuce Fields in New York. *Phytopathology*, 81, 367-371.
- Robinson, D.J., Mayo, M. A., Fritsch, C., Jones, A.T. and Raschke, J.H. (1983). Origin and messenger activity of two small RNA species found in particles of tobacco rattle virus strain SYM. *J. Gen. Virol.* 64, 1591-1599.
- Robinson, D.J. (2003). *Tobacco rattle virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No.398, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Roca, F., Rana, G. L., Kyriakopoulou, P. E. (1986). Studies on Longidoridae (Nematoda, Dorylaimida) and raspberry ringspot virus spread in some artichoke fields in Greece. *Nematologia Mediterranea*, 14, 251-256.
- Rochow, W.F. (1970). *Barley yellow dwarf virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No.32, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Roenhorst, J.W., Verdiun, B.J.M. and Goldbach, R.W. (1989). Virus-ribosome complexes from cell-free translation systems supplemented with cowpea chlorotic mottle virus particles. *Virology*, 168,138-146.
- Roivainen, O. (1976). Transmission of cocoa viruses by mealybugs (*Homoptera: Pseudococcidae*). *Journal of the Scientific Agricultural Society of Finland* 48, 203–304.
- Rosciglione, B., Castellano, M.A. (1985). Further evidence that mealybugs can transmit grapevine virus A (GVA) to herbaceous hosts. *Phytopathologia Mediterranea*, 24, 186-188
- Ross, J.P. (1968). Effect of single and double infections of *Soybean mosaic* and *Bean pod mottle viruses* on soybean yield and seed characters. *Plant Dis Report.*, 52, 344-348.
- Ross, J. P. (1977). Effect of aphid-transmitted *Soybean mosaic virus* on yields of closely related resistant and susceptible soybean lines. *Crop Sci.*, 17, 869-872
- Rossini, M.N., Giayetto, A. L., Vera, D. L. and Frayssinet, S. (2010). First report in Argentina of *Apple stem pitting virus* causing pear vein yellows disease in pear. *Plant Disease*, 94, 488-488.
- Rubio, L., Soong, J., Kao, J., and Falk, B. W. (1999). Geographic distribution and molecular variation of isolates of three whitefly-borne closteroviruses of cucurbits: *Lettuce infectious yellows virus*, *Cucurbit yellow stunting disorder virus*, and *Beet pseudo-yellows virus*. *Phytopathology*, 89, 707-711.
- Rumbou, A., von Bargaen, S., Büttner, C. (2009). A model system for plant-virus interaction—infectivity and seed transmission of *Cherry leaf roll virus* (CLR) in *Arabidopsis thaliana*. *European Journal of Plant Pathology*, 124, 527-532.
- Russel, G.E. (1971). *Beet mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 53, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Russo, M., Kishtah, A.A. and Martelli, G.P. (1979). Unusual intracellular aggregates of *Broad bean wilt virus* particles. *J. Gen. Virol.*, 43, 453-456.
- Russo, M. and Martelli, G.P. (1972). Ultrastructural observations on *Tomato bushy stunt virus* in plant cells. *Virology*, 49, 122-129.
- Ryan, M.D. and Flint, M. (1997). Virus-encoded proteinases of the picornavirus super-group. *J. Gen. Virol.*, 78, 699-723.
- Rybicki, E. P. (1995). The *Bromoviridae*. In *Virus Taxonomy*. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, pp. 450–457. Edited by F. A. Murphy, C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Martelli, M. A. Mayo & M. D. Summers. Vienna & New York: Springer-Verlag.

Ryden, K. (1989). Brome mosaic virus, transmission and effect on yield in greenhouse trials. *Journal of Phytopathology*, 124, 256-258.

## S

Sabanadzovic, S., Abou-Ghanem, N., Castellano, M.A., Digiario, M. and Martelli, G.P. (2000). Grapevine fleck virus-like viruses in *Vitis*. *Archives of Virology*, 145, 553-565.

Sabanadzovic, S., Ghanem-Sabanadzovic, N.A., Saldarelli, P., Martelli, G.P. (2001). Complete nucleotide sequence and genome organization of *Grapevine fleck virus*. *Gen Virol.*, 82, 2009-2015.

Saito, T., Meshi, T., Takamatsu, N. and Okada, Y. (1987). Coat protein gene sequence of tobacco mosaic virus encodes a host response determinant. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 84, 6074-6077.

Sakai F. and Takebe, I. (1974). Protein synthesis in tobacco meso- phyll protoplasts induced by tobacco mosaic virus infection. *Virology*, 62, 426-433.

Saldarelli, P., Minafra, A., Castellano, M. A., Martelli G. P. (2000). Immunodetection and subcellular localization of the proteins encoded by ORF 3 of grapevine viruses A and B. *Archives of Virology*, 145, 1535-1542.

Salgueiro S., Hull R. (1999). Comparison of *Pea enation mosaic virus* (PEMV) isolates: sequence of coat protein and aphid transmission protein genes of a European isolate. *Journal of Phytopathology*, 147, 391–396.

Sánchez-Navarro, J. A. & Pallás, S, V. (1994). Nucleotide sequence of *Apple mosaic ilarvirus* RNA 4. *Journal of General Virology*, 75, 1441-1445.

Sánchez-Navarro, J. A., Aparicio, F., Herranz, M. C., Minafra, A., Myrta, A., Pallás, V. (2005). Simultaneous detection and identification of eight stone fruit viruses by one-step RT-PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 111, 77-84.

Sarra, S., and Peters, D. (2003). *Rice yellow mottle virus* is transmitted by cows, donkeys, and grass rats in irrigated rice crops. *Plant Disease*, 87,804-808.

Sarra, A., Oeveringb, P., Guindoa, S. and Peters, D. (2004). Wind-mediated spread of *Rice yellow mottle virus* (RYMV) in irrigated rice crops. *Plant Pathology*, 53, 148–153.

Sastry, K.S and Zitter, T. A. (2014). *Plant Virus and Viroid Diseases in the Tropics*, DOI: 10.1007/978-94-007-7820-7\_2, \_ Springer Science+Business Media B.V.

Sastry, K.S. (1984). Management of plant virus diseases by oil sprays. In: Misra A, Polosa H (eds) *Virus ecology*. South Asian Publishers, New Delhi, 31–57.

Scalla, R., Boudon, E. and Rigaud, J. (1976) Sodium dodecyl sul-phate-polyacrylamide gel electrophoretic detection of two high-molecular-weight proteins associated with tobacco mosaic virus infection in tobacco. *Virology*, 69, 339-345.

Schmelzer, K. (1980). Übertragungsmöglichkeiten. Übertragung unter Ausschluss tierischer Vektoren. In: Klinkowski M. (Ed), *Pflanzliche Virologie*. Band 1., Einführung in die allgemeinen Probleme. Akademie Verlag, Berlin, 531-610.

Schmidt, H.B., Fritsche, R., Lehmann, W. (1963). Die Übertragung des Weidelgrasmozaik Virus durch Nematoden. *Naturwissenschaften*, 50, 386.

Scholten, O.E., Paul, H., Peters, D., Van Lent, J.W.M., Goldbach, R.W. (1994). In situ localisation of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in rootlets of susceptible and resistant beet plants. *Archives of Virology*, 136, 349-361.

Scholthof, K.G. (2008): *Tobacco mosaic virus*: The beginning of plant virology. APSnetFeatures-2008-0408.



- Schuerger, A. C., Hammer, W. (1995). Effects of temperature on disease development of *Tomato mosaic virus* in *Capsicum annuum* in hydroponic systems. *Plant Disease*, 79, 880–885.
- Schuman, S. and Schwer, B. (1995). RNA capping enzymes and DNA ligases, a superfamily of covalent nucleotidyl transferases. *Mol. Microbiol.*, 17, 405-410.
- Schumann, G.L. and D`Arcy, J.D. (2006). Essential plant pathology. APS Press, St. Paul.
- Scott, S. W., Barnett, O. W., and Burrows, P. M. (1989). Incidence of *Prunus necrotic ringspot virus* in selected peach orchards of South Carolina. *Plant Dis.* 73, 913-916
- Scott, S. W., Zimmerman, M. T. (2001). *American plum line pattern virus is a distinct ilarvirus*. *Acta Horticulturae*, 550, 221-227.
- Seifers, D.L., Martin, T.J., Harvey, T.L., Haber, S., Haley, S.D. (2006). Temperature sensitivity and efficacy of *Wheat streak mosaic virus* resistance derived from CO960293 wheat. *Plant Disease*, 90, 623-628.
- Seifers, D. L., Haber, S., Martin, T. J., and Zhang, G. (2013). New sources of temperature-sensitive resistance to *Wheat streak mosaic virus* in wheat. *Plant Disease*, 97, 1051-1056.
- Selstam, E. and Jackson, A.O. (1983). Lipid composition of *Sonchus yellow net virus*. *J. Gen. Virol.*, 64,1607-1613.
- Semancik, J.S. (1972). *Bean pod mottle virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No.108, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Senthil-Kumar, M. and Mysore, K.S. (2014). Tobacco rattle virus–based virus-induced gene silencing in *Nicotiana benthamiana*. *Nature Protocols*, 9,1549–1562.
- Serçe, Ç.U., Candresse, T., Svanella-Dumas, L., Krizbai, L., Gazel, M., Çağlayan, K. (2009). Further characterization of a new recombinant group of *Plum pox virus* isolates, PPV-T, found in orchards in the Ankara province of Turkey. *Virus Research*, 142, 121-126.
- Seppänen, P., Puska, R., Honkanen, J., Tyulkina, L.G., Fedorkin, O., Morozov, Yu.S. and Atebekov, J.G. (1997). Movement protein-derived resistance to triple gene block-containing plant viruses. *J.Gen.Virol.*, 78, 1241-1246.
- Seralini, G.E., Clair, E., Mesnage, R., Gress, S., Defarge, N., Malatesta, M., Hennequin, D, de Vendôme, J.S. (2012). Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food Chem Toxicol.*, 50, 4221-4231.
- Sether, D.M., Ullman, D.E. and Hu, J.S. (1998). Transmission of pineapple mealybug wilt-associated virus by two species of mealybug (*Dysmicoccus* spp.). *Phytopathology*, 88, 1224-1230.
- Sether, D.M. and Hu, J.S. (2001): The impact of Pineapple mealybug wilt-associated virus-1 and reduced irrigation on pineapple yield. *Australasian Plant Pathology*, 30, 31–36 D.
- Sharma, S.R., Varma, A. (1982). Control of virus diseases by oil sprays. *Zbl Mycobiol*, 137, 329–347.
- Sharma, P., Verma, R. K., Mishra, R., Sahu, A. K., Choudhary, D. K., Gaur, R. K. (2014). First report of *Cucumber green mottle mosaic virus* association with the leaf green mosaic disease of a vegetable crop, *Luffa acutangula* L. *Acta Virologica*, 58, 299-300.
- Sharper Hall, G. (2007). The effect of within-host virus population growth and interspecific competition on aphid transmission and population structure of *Barley yellow dwarf virus*. A Dissertation Presented to the Faculty of the Graduate School of Cornell University, 1-91.
- Shaw, J.G. (1973). In vivo removal of protein from tobacco mosaic virus after inoculation of tobacco leaves: III. Studies on the location on virus particles for the initial removal of protein. *Virology*, 53, 337-342.

- Shaw, J.G., Hunt, A.G., Pirone, T.P. and Rhodes, R.E. (1990). Organisation and expression of potyviral genes. In: T.P. Pirone and J.G. Shaw (eds) *Viral Genes and Plant Pathogens*, pp. 107-123. Springer-Verlag, New York.
- Shaw, J.G. (1999). Tobacco mosaic virus and the study of early events in virus infection. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 354, 603-611.
- Shepherd, R.J., Till, B. B. (1965). Effect of strains of the *Beet mosaic virus* on the yield of sugarbeets. *Plant Disease Reporter*, 49, 961-96.
- Shepherd, A.J., Wakeman, R. J. and Romanko, A. R. (1968). DNA in *Cauliflower mosaic virus*. *Virology*, 36, 150-152.
- Shepherd, R.J., Hills, F.J. (1970). Dispersal of beet yellows and beet mosaic viruses in the inland valleys of California. *Phytopathology* 60, 798-804.
- Shepherd, R.J. (1981). *Cauliflower mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No.243, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Sherwood J.L., German T.L., Moyer, J.W., Ullman, D.E. (2003). *Tomato spotted wilt virus*. *The Plant Health Instructor*, DOI: 10.1094/PHI-I-2003-0613-02.
- Shiboleth, M., Gal-On, A., Koch, M., Rabinowitch, H.D., and Salomon, R. (2001). Molecular characterisation of *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) infecting garlic (*Allium sativum* L.) in Israel: Thermotherapy inhibits virus elimination by meristem tip culture. *Ann. appl. Biol.*, 138, 187-195.
- Shiel, P. J. and Berger, P. H. (2000). The complete nucleotide sequence of apple mosaic virus (ApMV) RNA 1 and RNA 2: ApMV is more closely related to alfalfa mosaic virus than to other ilarviruses. *Journal of General Virology*, 81, 273-278.
- Shih, D.S. and Kaesberg, P. (1976). Translation of the RNAs of brome mosaic virus: the monocistronic nature of RNA1 and RNA2. *J. Mol. Biol.*, 103, 77-88.
- Shikata, E. and Maramorosch, K. (1966). Electron microscopy of *Pea enation mosaic virus* in plant cell nuclei. *Virology* 30, 439-454.
- Shikata, E. and Maramorosch, K. (1967). Electron microscopy of wound tumor virus assembly sites in insect vectors and plants. *Virology*, 32, 363-377.
- Shim, H., Min, Y., Hong, S., Kwon, M., Kim, D., Kim, H., Choi, Y., Lee, S. and Yang, J. (2004). Nucleotide sequences of a Korean isolate of apple stem grooving virus associated with black necrotic leaf spot disease on pear (*Pyrus pyrifolia*). *Molecular and Cells*, 18, 192-199.
- Shirako, Y. and Wilson, T.M.A. (1993). Complete nucleotide sequence and organization of the bipartite RNA genome of soil-borne wheat mosaic virus. *Virology*, 195, 16-32.
- Shirako, Y. (1998). Non-AUG translation initiation in a plant RNA virus: a forty-amino-acid extension is added to the N terminus of the soil-borne wheat mosaic virus capsid protein. *J. Virol.*, 72, 1677-1682.
- Shirshikar, S.P. (2003). Influence of different sowing dates on the incidence of sunflower necrosis disease. *Helia*, 26, 109-116.
- Singh, S.J. (1992). Management of viral diseases of horticultural crops by use of oils. In: Sokhi, S.S. Chandel, S.S., Singh, P.P. (eds) *Progress in plant pathological research*. Indian Society of Plant Pathologists, Ludhiana, 223-240.
- Sokhansanj, Y., Rakhshandehroo, F. and Pourrahim, R. (2012). First report of *Tomato ringspot virus* infecting pepper in Iran. *Plant Disease*, 96, 12
- Singh, R.N. and Dreher, T.W. (1997). *Turnip yellow mosaic virus* RNA-dependent RNA polymerase initiation of minus strand synthesis in vitro. *Virology*, 233, 430-439.

- Sinclair, J.B., Backmann, P.A. (1989). Compendium of soybean diseases. Third edition. The American Phytopathology Society, 1-106.
- Singh, R. P. (2014). The discovery and eradication of *Potato spindle tuber viroid* in Canada. *Virus disease*, 25, 415–424.
- Silva, C., Tereso, S., Nolasco, G., and Oliveira, M. M. (2003). Cellular location of *Prune dwarf virus* in almond sections by in situ reverse transcription-polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 93, 278-285.
- Simmons H. E., Prendeville, H. R. Dunham, J. P. Ferrari, M. J. Earnest, J. D. Pilson, D. Munkvold, G. P. Holmes, E. C. and Stephenson A. G. (2015). Transgenic virus resistance in crop-wild *Cucurbita pepo* does not prevent vertical transmission of *Zucchini yellow mosaic virus*. *Plant Disease*, 99, 1616-1621.
- Sing R. and Sing R. (1972). Effect of magnesium nutrition on plant growth and multiplication of *Potato virus X*. *Phyton*, 14, 289-294.
- Sivakumaran, K. and Kao, C.C. (1999). Initiation of genomic plus-strand RNA synthesis from DNA and RNA templates by a viral RNA-dependent RNA polymerase. *J. Virol.*, 73, 6415-6423.
- Sivakumaran, K., Bao, Y., Roossinck, M.J. and Kao, C.C. (2000). Recognition of the core RNA promoter for minus-strand RNA synthesis by the replicase of brome mosaic virus and cucumber mosaic virus. *J. Virol.*, 74, 10323-10331.
- Sivakumaran, K., Kim, C.H., Tayon, R. and Kao, C.C. (1999). RNA sequence and secondary structural determinants in a minimal viral promoter that directs replicase recognition and initiation of genomic plus-strand synthesis. *J. Mol. Biol.*, 294, 667-682.
- Skaf, J.S. and de Zoeten, G.A. (2000). *Pea enation mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 372, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Slack, S.A., Shepherd, R.J., Hall, D.H. (1975). Spread of seed-borne *Barley stripe mosaic virus* and effects of the virus on barley in California. *Phytopathology*, 65, 1218-1223.
- Sleat, D.E., Hull, R., Turner, PC. and Wilson, T.M.A. (1988). Studies on the mechanism of translational enhancement by the 5'-leader sequence of tobacco mosaic virus RNA. *Eur. J. Biochem.*, 175, 75-86.
- Smidansky, E.D. and TW Carroll, (1996). Factors influencing the outcome of *Barley yellow streak mosaic virus*-brown wheat mite-barley interactions. *Plant Disease*, 80, 186-193.
- Smith, R.E. and Bonquet, P.A. (1915). Connection of bacterial organism with curly leaf of the sugar beet. *Phytopathology*, V, 335-343.
- Smith, K.M. (1931). On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. *Proc. R. Soc. London B*, 109, 251-266.
- Smith, K.M. (1937). A Text Book of Plant Virus Diseases. Churchill, London.
- Smith, P.R. (1972). Transmission of *Apple chlorotic leafspot virus* from peach to peach on the budding knife. *Australian Plant Pathology Society Newsletter*, 1, 12.
- Smith, H.A., Powers, H., Swaney, S., Brown, C., Dougherty, W. (1995). Transgenic *Potato virus Y* resistance in potato: evidence for an RNA-mediated cellular response. *Phytopathology*, 86, 864-870,
- Sneath, P.H.A. (1962). The construction of taxonomic groups. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, 12, 289-332.
- Sokhi, S.S., Chandel, S.S., Singh, P.P. (eds) Progress in plant pathological research. Indian Society of Plant Pathologists, Ludhiana, 223–240.

- Speir, J.A., Munshi, S., Wang, G., Baker, T.S. and Johnson, J.E. (1995). Structures of the native and swollen forms of *Cowpea chlorotic mottle virus* determined by X-ray crystallography and cryo- electron microscopy. *Structure*, 3, 63-78.
- Speir, J.A., Munshi, S., Baker, T.S. and Johnson, J.E. (1993). Preliminary X-ray analysis of crystalline *Cowpea chlorotic mottle virus*. *Virology*, 193, 234-241.
- Spencea, N.J., Bashamb, J., Mumforda, R. A., Haymanc, G., Edmondsond R. and Jonesa, D. R. (2006). Effect of Pepino mosaic virus on the yield and quality of glasshouse-grown tomatoes in the UK. *Plant Pathology*, 55, 595–606.
- Srivastava, P.D., Singh, R. P. (1997). An introduction to entomology. Concept Publishing Company.
- Srinivasan, R., and Alvarez, J. M. (2008). Hairy nightshade as a potential *Potato leafroll virus* (*Luteoviridae: Polerovirus*) inoculum source in Pacific Northwest potato ecosystems. *Phytopathology*, 98, 985-991.
- Stace-Smith, R., Hansen, A.J. (1976). *Cherry rasp leaf virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 159, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Stace-Smith, R. (1984). *Tomato ringspot virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 290, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Stace-Smith, R. (1985). *Tobacco ringspot virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 309, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Stakić, D. i Nikolić, V. (1966). Virus mozaika lubenice – novo virozno oboljenje u Jugoslaviji. *Savremena poljoprivreda*, 3, 289- 302.
- Stakić, D. (1984). Izveštaj o radu u 1984. godini. Naziv teme: Virusne bolesti sirka i hmelja. Pasterov zavod, Novi Sad, 1-9.
- Stanković, I., Bulajić, A., Vučurović, A., Ristić, D., Milojević, K., Berenji, J., Krstić B. (2011). Status of tobacco viruses in Serbia and molecular characterization of *Tomato spotted wilt virus* isolates. *Acta Virologica*, 55, 337-347.
- Stanković, I., Vučurović, A., Bulajić, A., Ristić, D., Berenji, J., & Krstić, B. (2011 a). Prisustvo i molekularna karakterizacija virusa mozaika lucerke u usevu duvana u Srbiji. *Pesticidi i fitomedicina*, 26, 229-243.
- Stanković, I., Bulajić, A., Vučurović, A., Ristić, D., Jović, J. and Krstić, B. (2011b). First report of *Tomato spotted wilt virus* on *Gerbera hybrida* in Serbia. *Plant Disease*, 95, 226.
- Stanković, I., Bulajić, A. Vučurović, A., Ristić, D., Milojević, K., Nikolić, D. and Krstić, B. (2012). First report of *Tomato spotted wilt virus* infecting onion and garlic in Serbia. *Plant Disease*, 96, 918.
- Stanković, I., Bulajić, A., and Krstić, B. (2013). Viruses of ornamentals with emphasis on *Tospovirus* genus. *Biljni lekar*, 41, 651-663.
- Stanković, I., Bulajić, A. Vučurović, A., Ristić, D., Milojević, K., Nikolić, D. and Krstić, B. (2013a). First report of *Tomato spotted wilt virus* on *Chrysanthemum* in Serbia, *Plant Disease*, 97, 150.
- Stanković, I., Vrandečić, K., Ćosić, J., Milojević, K., Bulajić, A., Krstić, B. (2014). Spreading of Alfalfa mosaic virus in lavandin in Croatia. *Pesticides and Phytomedicine*, 29, 115-122.
- Stanley, W.M. (1935). Isolation of a crystalline protein possessing the properties of *Tobacco-mosaic virus*. *Science*, 81, 644-645.
- Stanley, J. and Gay, M.R. (1983). Nucleotide sequence of cassava latent virus DNA. *Nature (London)*, 301, 260-262.

- Stansfield, I., Jones, K.M. and Tuite, M.F. (1995). The end is in sight: terminating translation in eukaryotes. *Trends Biol. Sci.*, 20, 489-491.
- Starović, M., Kuzmanović, S., Stojanović S. (2001). Pouzdanost dokazivanja virusa u krtolama krompira. *Zaštita bilja*, 52, 229-239.
- Starović, M., Kuzmanović, S., Ivanović, Ž., Trkulja, N., Aleksić, G., Dolovac, N., Stojanović S. (2008). Grapevine leaf roll disease in Central Serbia. *Zaštita bilja*, 1-4, 81-92.
- Stevanato, P., de Biaggi, M., Broccanello, C., Biancardi, E., Saccomani, M. (2015). Molecular genotyping of “Rizor” and “Holly” rhizomania resistances in sugar beet *Euphytica*, 5 p. Article in Press. DOI: 10.1007/s10681-015-1503-3
- Stobbs, L.W., Van Schagen, J. G. (1996). Occurrence of *Peach rosette mosaic virus* on grapevine in Southern Ontario. *Plant Disease*, 80, 105.
- Stobbs, L.W., Cerkauskas, R. F., Lowery, T. and Van Driel, L. (1998). Occurrence of *Turnip yellow mosaic virus* on oriental cruciferous vegetables in Southern Ontario, Canada. *Plant Disease*, 82, 351-351.
- Stoeva, P., Hristova, D., Donkova, P., Petrova, M, Gorinova, N., Yankulova, M., Inze, D., van Kamp, W., Atanassov, A. (1999). Resistance to *Tomato spotted wilt virus* in transgenic tomato varieties. *Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century*, 36, 549-552.
- Stojanović, S. (2004). Poljoprivredna fitopatologija. Srpsko biološko društvo, 'Stevan Jakovljević', Kragujevac.
- Storms, M.M.H. (1998). The role of NSM during tomato spotted wilt virus infection. PhD thesis, University of Wageningen, Netherlands.
- Strausbaugh, C. A., Gillen, A. M., Camp, S., Shock, C. C., Eldredge, E. P., and Gallian, J. J. (2007). Relationship of beet curly top foliar ratings to sugar beet yield. *Plant Disease*, 91, 1459-1463.
- Strausbaugh, C. A., Rearick, E., Camp, S., Gallian, J. J., and Dyer, A. T. (2008). Influence of *Beet necrotic yellow vein virus* on sugar beet storability. *Plant Disease*, 92, 581-587.
- Strausbaugh, C. A., Wenninger, E. J., and Eujayl, I. A. (2014). Control of curly top in sugar beet with seed and foliar insecticides. *Plant Disease*, 98, 1075- 1080.
- Stubbs, L.L., Guy, J.A.D., Stubbs, K.L. (1963). Control of *Lettuce necrotic yellows virus* disease by the destruction of common sowthistle (*Sonchus oleraceus*). *Aust J Exp Agric Animal Husb*, 3, 215–218.
- Steere, R.L. and Williams, R.C. (1953). Identification of cristallyne inclusion bodies extracted from plant cells infected with *Tobacco mosaic virus*. *Amer.J.Bot.*, 40, 81-84.
- Stubbs, G., Warren, S. and Holmes, K. (1977). Structure of RNA and RNA binding site in *Tobacco mosaic virus* from a 4 Å map calculated from X-ray fibre diagrams. *Nature (London)*, 267, 216-221.
- Sullivan, M.L. and Ahlquist, R (1997). Cis-acting signals in bromo- virus RNA replication and gene expression: networking with viral proteins and host factors. *Sem. Virol.*, 8, 221-230.
- Sullivan, M.L. and Ahlquist, P. (1999). A brome mosaic virus inter- genic RNA3 replication signal functions with viral replication protein Ia to dramatically stabilize RNA in vivo. *J. Virol.*, 73, 2622-2632.
- Sultan, S. A. and Ferris, H. (1991). The effect of soil moisture and soil particle size on the survival and population increase of *Xiphinerna index*. *Revue Névnatol.*, 14, 345-351.
- Sumner, J.B. (1926). The isolation and crystallisation of the enzyme urease. *J. Biol. Chem.*, 69, 435-441.

Svanella-Dumas L, Candresse T, Hulle' M, Marais A (2013). Distribution of *Barley yellow dwarf virus*-PAV in the sub-antarctic Kerguelen Islands and characterization of two new *Luteovirus* species. *PLoS ONE* 8(6): e67231. doi:10.1371/journal.pone.0067231

Svanella-Dumas,L., Verdin, E., Faure,C., German-Retana,S., Gognalons, P., Danet,J.L., Marais, A., Candresse, T. (2014). Adaptation of Lettuce mosaic virus to *Catharanthus roseus* Involves Mutations in the Central Domain of the VPg. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 27, 491-497.

Svoboda, J. and Leisova-Svobodova, L. (2011). First Report of *Squash Mosaic Virus* in Ornamental Pumpkin in the Czech Republic. *Plant Disease*, 95, No. 10.

Sward, R. J. (1990). *Lettuce necrotic yellows rhabdovirus* and other viruses infecting garlic. *Australasian Plant Pathology*, 19, 46-51.

Syller, P. (1966). *Potato leafroll virus* (PLRV): its transmission and control. *Integrated Pest Management Reviews*, 4, 217-227.

Sylvester, E.S., Fraizer, N.W., Richardson, J. (1976). *Strawberry crinkle virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 163, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

## Š

Širca, S., Geric Stare, B., Mavrič Pleško, I., Viršček Marn, M., Urek, G. and Javornik, B. (2007). *Xiphinema rivesi* from Slovenia transmit *Tobacco ringspot virus* and *Tomato ringspot virus* to cucumber bait plants. *Plant Disease*, 91,6.

Špak, J., Dusbábková, J., Kubelková, D., Nečásek, J. (1991). Resistance of transformed and non-transformed oilseed rape cv. HM-81 to the infection with cauliflower mosaic, turnip yellow mosaic and turnip mosaic viruses, *Biologia Plantarum*, 33, 234-239.

Špak, J., Kubelkova, D., Hnilicka, E. (1993). Seed transmission of *Turnip yellow mosaic virus* in winter turnip and winter oilseed rapes. *Ann Appl Biol*, 123, 33–35.

Štefanac, Z. (1969). Nalaz virusa uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus*) u Jugoslaviji. *Acta Botanica Croatia*, 28, 373-378.

Šubr, Z., Glasa, M. (2013). Unfolding the secrets of *Plum pox virus*: from epidemiology to genomics. *Acta virologica*, 57, 217-228.

Šutić, D. (1959). Die Rolle des Paprikasemens bei der Virusübertragung. *Phytopath. Z.*, 36, 84-93.

Šutić, D., Bećarević, A., Đorđević, B. (1964): Promene osobina virusa mozaika duvana izazvane ugradjivanjem 5-fluorouracila. *Zaštita bilja*, 77, 13-19.

Šutić, D. i Milovanović, M. (1978). Pojava i značaj kržljavosti korena šećerne repe. *Agrohemija*, 9-10, 363-368.

Šutić, D. i Milovanović, M. (1980). Some facts affecting epidemiologyof sugar beet, rhizomania-like diseases. Vortrag Heraclea/Kreta.

Šutić, D. (1994). Biljni virusi. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.

Šutić, D. (1995). Viroze biljaka. Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd.

Šutic, D.D., Ford, R.E., Tošić, M.T. (1999). Virus diseases of fruit trees. In: Hand book of plant virus diseases. Boca Raton: CRC Press; 345–347

## T

Takács, A., Bese, G., Horváth, J., Gáborjányi, R. (2012). Plant viruses new in Hungary. *Növényvédelem*, 48, 242-248.

- Takahashi, W.N. and Rawlins, T.E. (1932). Method for determining shape of colloidal particles: application in study of *Tobacco mosaic virus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 30,155-157.
- Takami, N. (1901). Stunt disease of rice and *Nephotettix apicalis*. *J. Agric. Japan*, 241, 22-30.
- Takatsuji, H., Yamauchi, H., Watanabe, S., Kato, H. and Ikeda, J.E. (1992). Cauliflower mosaic virus reverse transcriptase: activation by proteolytic processing and functional alteration by terminal deletion. *J. Biol. Chem.*, 267,11579-11585.
- Takebe, I. (1977). Protoplasts in the study of plant virus replication. *Compr. Virol.*, 11, 237-283.
- Taliansky, M.E., Malysenko, S.I., Pshennikova, E.S., Kaplan, I.B., Ulanova, E.F. and Atabekov, J.G. (1982). Plant virus-specific transport function: I. Virus genetic control required for systemic spread. *Virology*, 122, 318-326.
- Tamada, T. (2002). *Beet necrotic yellow vein virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 391, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Tang, J., Olson, J.D., Ochoa-Corona, F. M. and Clover, G. R. G. (2010). *Nandina domestica*, a new host of *Apple stem grooving virus* and *Alternanthera mosaic virus*. *Australasian Plant Disease Notes*, 5, 25–27.
- Tang, J., Ward, L. I., and Clover, G. R. G. (2013). The diversity of *Strawberry latent ringspot virus* in New Zealand. *Plant Disease*, 97, 662-667.
- Tanzi, M., Betti, L., de Jager, C.P. and Canova, A. (1986). Isolation of an attenuated virus mutant obtained from a TMV pepper strain after treatment with nitrous acid. *Phytopathol. Mediterr.*, 25, 119-124.
- Taşkın, H., Baktemur, G., Kurul, M., and Büyükalaca, S. (2013). Use of tissue culture techniques for producing virus-free plant in garlic and their identification through real-time PCR. *The Scientific World Journal*. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/781282>
- Taylor, C.E., Murant, A.F. (1969). Transmission of strains of raspberry ringspot and tomato black ring viruses by *Longidorus elongatus* (de Man). *Annals of Applied Biology*, 64, 43-48.
- Taylor, N.J., Halsey, M., Gaitán-Solís, E., Anderson, P., Gichuki, S., Miano, D., Bua, A., Alicai, T., Fauquet, C.M. (2012). The VIRCA Project: virus resistant cassava for Africa. *GMO Crops Food*, 3, 93-103.
- Ten Houten, J.G., Quak, F., van der Meer, F.A. (1968): Heat treatment and meristem culture for the production of virus-free plant material. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 74, 17-24.
- Teshale, J. (2014). Sharka of stone fruits (*Plum pox virus*): A destructive diseases of mediterranean fruit tree species. *Research in Plant Sciences*, 2, 45-49.
- Thackray, D.J., Diggle, A.J., Berlandier, F.A., and R.A.C. Jones. (2004). Forecasting aphid outbreaks and epidemics of *Cucumber mosaic virus* in lupin crops in a Mediterranean-type environment. *Virus Research*, 100, 67-82.
- Theiler-Hedtrich, R. and Baumann, G. (1989). Elimination of *Apple mosaic virus* from infected red raspberry (*Rubus idaeus*) by tissue culture. *Journal of Phytopathology*, 127, 193-199.
- Thokchom, T., Rana, T., Hallan, V., Ram, R., Zaidi, A. A. (2009). Molecular characterization of the Indian strain of *Apple mosaic virus* isolated from apple (*Malus domestica*). *Phytoparasitica*, 37, 375-379.

- Thomas, P.E. and Mink, G.I. (1979). *Beet curly top virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 210, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Thomas, C.M., Hull, R., Bryant, J.A. and Maule, A.J. (1985). Isolation of a fraction from cauliflower mosaic virus-infected protoplasts which is active in the synthesis of (+) and (-) strand viral DNA and reverse transcription of primed RNA templates. *Nucl. Acids Res.*, 13, 4557-4576.
- Thomas, P.E. (2004). Black and hairy nightshade, the first weedy hosts of *Potato virus A* in the United States. *Plant disease*, 88, 905. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.8.905A>
- Thompson, J. R., Perry, K. L., De Jong, W. (2004). A new potato virus in a new lineage of picorna-like viruses. *Archives of Virology*, 149, 2141-2154.
- Tian, T., Rubio, L., Yeh, H.-H., Crawford, B. and Falk, B.W. (1999). Lettuce infectious yellows virus: *in vitro* acquisition analysis using partially purified virions and the whitefly *Bemisia tabaci*. *J. Gen. Virol.*, 80, 1111-1117.
- Tien, P, Zhang, X., Qiu, B., Qin, B. and Wu, G. (1987). Satellite RNA for the control of plant diseases caused by cucumber mosaic virus. *Ann. Appl. Biol.* Ill, 143-152.
- Tóbiás, I., Szabó, B. Salánki, K., Sári, L., Kuhlmann, H. and Palkovics, L. (2008). Seedborne transmission of *Zucchini yellow mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* in Styrian Hulless group of *Cucurbita pepo*. Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of *Cucurbitaceae* (Pitrat M, ed), INRA, Avignon (France), May 21-24t, 189-197.
- Tollin, P. and Wilson, H.R. (1988). Particle structure. In: R.G. Milne (ed.) *The Plant Viruses. Vol. 4: The Filamentous Plant Viruses*, pp. 51-83. Plenum Press, New York.
- Tomitaka, Y., Fujimoto, T., Nakata, M., Ishikawa, R., Usugi, T., Tsuda, S. (2011). First report of chlorotic and necrotic disease caused by *Tobacco rattle virus* on *Capsicum annuum* in Japan. *Journal of General Plant Pathology*, 77, 136-138.
- Tomlinson, J.A. and Garrett, R.G. (1964). Studies on the *Lettuce big-vein virus* and its vector *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang. *Annals of Applied Biology*, 1, 45-61.
- Torrigiani, P, Rabiti, A.L., Betti, L., Marani, F., Brizzi, M., Bagni, N., Canova, A. (1995). Improved method for polyamine determination in TMV, a rod-shaped virus. *J. Virol. Meth.*, 53, 157-163.
- Tošić, M. (1971). Virus diseases of wheat in Serbia: isolation and determination of the *Wheat streak mosaic virus* and *Brome mosaic virus*. *Phytopathology*, 70, 145-162.
- Tošić, M. and Mijavec, A. (1991): *Maize dwarf mosaic virus*, an important pathogen on sorghum in Yugoslavia. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 26, 147-151.
- Tošić, M, Balaž, F., Petrović, O. (1991a). *Barley yellow dwarf virus* in Yugoslavia. *Barley Yellow Dwarf Newsletter*, 4, 18-19.
- Tošić, M., Providenti, R., Vujić, S. i Krnjaja, V.(1996). Contribution to the study of viral diseases of cucumber in Yugoslavia. *Zaštita bilja*, 47, 343-349.
- Trenado, H.P., Fortes, I.M., Louro, D., Navas-Castillo, J. (2007). *Physalis ixocarpa* and *P. peruviana*, new natural hosts of *Tomato chlorosis virus*. *European Journal of Plant Pathology*, 118, 193-196.
- Thresh, J.M. (1988). Eradication as a virus disease control measure. In: Control of plant diseases: costs and benefits (Ed. by Clifford, B.C.; Lester, E.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK., 155-194.
- Trkulja, V., Salapura, J. M., Ćurković, B., Stanković, I., Bulajić, A., Vučurović, A., Krstić, B. (2013). First report of *Impatiens necrotic spot virus* on begonia in Bosnia and Herzegovina. *Plant Disease*, 97, 1004.



- Trkulja, V., Vasić, J., Vuković, B., Stanković, I., Vučurović, A. Bulajić, A. and Krstić, B. (2014). First report of *Watermelon mosaic virus* infecting melon and watermelon in Bosnia and Herzegovina. *Plant Disease*, 98, 1749-1749.
- Trucco, V., de Breuil, S., Bejerman, N., Lenardon, S., Giolitti, F. (2014). Complete nucleotide sequence of *Alfalfa mosaic virus* isolated from alfalfa (*Medicago sativa* L.) in Argentina. *Virus Genes*, 48, 562–565.
- Tsai, C.W., Rowhani, A., Golino, D.A., Daane, K.M., Almeida, R.P. (2010). Mealybug transmission of *Grapevine leafroll viruses*: an analysis of virus-vector specificity. *Phytopathology*, 100, 830-834.
- Tsugita, A., Gish, D.T., Young, J., Fraenkel-Conrat, H., Knight, C.A and Stanley, W.M. (1960). The complete amino acid sequence of the protein of *Tobacco mosaic virus*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 46, 1463-1469.
- Tu, J. C., and R. E. Ford. (1968). Effect of *Maize dwarf mosaic virus* infection on respiration and photosynthesis in corn. *Phytopathology*, 58, 282-284.
- Turka, I. (1978). *Lygus rugulipennis* Popp. (Heteroptera: Miridae) vector of potato viruses. *Trudy Latv. Lauksaimn. Akad.*, 164, 65-73
- Turner, D.R. and Butler, P.J.G. (1986). Essential features of the assembly origin of tobacco mosaic virus RNA as studied by directed mutagenesis. *Nucl. Acids Res.*, 14, 9229-9242.
- Turner, D.R., Joyce, L.E. and Butler, R.J.G. (1988). The tobacco mosaic virus assembly origin RNA: functional characteristics defined by directed mutagenesis. *J. Mol. Biol.*, 203, 531-547.
- Tzanetakis, I. E. and Martin, R. R. (2005). First report of strawberry as a natural host of *Apple mosaic virus*. *Plant disease*, 89, 431.
- Tzanetakis, I. E., Postman, J. D., Gergerich, R. C., and Martin, R. R. (2006). A virus between families: nucleotide sequence and evolution of *Strawberry latent ringspot virus*. *Virus Research*, 121, 199-204.

## U

- Urbanavičiene L. and Žižyte, M. (2012). Identification of *Brome mosaic virus* in cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) and meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.) in Lithuania. *Žemdirbystė=Agriculture*, 99, 167–172.
- Uzunogullari, N., and Ilbagi, H. (2009) Identification of *Apple mosaic ilarvirus* (ApMV) on pome fruits in south eastern Marmara region of Turkey. *Bahçe*, 38, 9-14.
- Uyemoto, J.K. (1975). A severe outbreak of virus-induced grapevine decline in cascade grapes in New York. *Plant Disease Reporter*, 59, 98-101.
- Uyemoto, J. K., Asai, W. K., and Luhn, C. F. (1992). *Iilarviruses*: evidence for rapid spread and effects on vegetative growth and fruit yields of peach trees. *Plant Disease*, 76, 71-74.
- Uyemoto, J. K., and Scott, S. W. (1992a). Important diseases of *Prunus* caused by viruses and other graft-transmissible pathogens in California and South Carolina. *Plant Disease*, 76, 5-11.

## V

- Valasevich, N., Cieślińska, M., Kolbanova, E. (2015). Molecular characterization of *Apple mosaic virus* isolates from apple and rose. *European Journal of Plant Pathology*, 141, 839-845.

- Valkonen, J. P. T., Pehu, E., Watanabe, K. (1992). Symptom expression and seed transmission of *Alfalfa mosaic virus* and *Potato yellowing virus* (SB-22) in *Solanum brevidens* and *S. etuberosum*. *Potato research*, 35, 403-410.
- Vallega, V. and Rubies-Autonell, C. (1985). Reactions of Italian *Triticum durum* cultivars to *Soil-borne wheat mosaic*. *Plant Disease*, 69, 64-66.
- van Dijk, (1993). Survey and characterization of potyviruses and their strains of *Allium* species. *Neth. J. Pl. Path.*, 99, Suppl. 2, 1-48.
- van Belkum, A., Abrahams, J.P., Pleij, C.W.A. and Bosch, L. (1985). Five pseudoknots at the 204 nucleotide long 3' noncoding region of tobacco mosaic virus RNA. *Nucl. Acids Res.*, 13, 7673-7686.
- van Belkum, A., Cornelissen, B., Linthorst, H., Bol, J., Pleij, C. and Bosch, L. (1987). tRNA-like properties of tobacco rattle virus RNA. *Nucleic Acids Res.*, 15, 2837-2850.
- Van Gessel, M. J., and Coble, H. D. (1993). Effect of nitrogen and moisture stress on severity of *Maize dwarf mosaic virus* infection in corn seedlings. *Plant Disease*, 77, 489.
- van der Wilk, F., Willink, L., Huisman, M.J., Huttinga, H., Goldbach, R. (1991). Expression of the potato leafroll luteovirus coat protein gene in transgenic potato plants inhibits viral infection. *Plant Molecular Biology*, 3, 431-439.
- van Dorst, H.J.M. (1961). Virus diseases of cucumbers. Ann. Rep. Glasshouse Grops Res. And Exp. Stat., Naaldwijk, 75.
- van Kammen, A. (1968). The relationship between the components of cowpea mosaic virus: I. Two ribonucleoprotein particles necessary for the infectivity of CPMV. *Virology*, 34, 312-318.
- van Poelwijk, F., Kolkman, J. and Goldbach, R. (1996). Sequence analysis of the 5' ends of tomato spotted wilt virus N mRNAs. *Arch. Virol.*, 141,177-184.
- van Regenmortel, M.H.V. (1971). *Watermelon mosaic virus*. No. 63. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E.B., Estes, M.K., Lemon, S.M., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D.J., Pringle, C.R., Wickner, R.B. (eds) (2000). *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego.
- van Kammen, A., van Lent, J., Wellink, J. (2001). *Cowpea mosaic virus*. No. 378. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- van Vloten-Doting, L. (1976). Similarities and differences between viruses with a tripartite genome. *Ann. Microbiol. (Paris)*, 127, 119-129.
- van Vloten-Doting, L., Kruseman, J. and Jaspars, E.M.J. (1968). The biological function and mutual dependence of bottom component and top component of *Alfalfa mosaic virus*. *Virology*, 34, 728-737.
- van Zyl, Vivier, M.A., Walkers, M.A. (2012). *Xiphinema index* and its relationship to grapevines: A review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 33, 21-32.
- Varma, A. (1970). *Red clover vein mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Varma, A. and Malathi, V.G. (2003). Emerging geminivirus problems: A serious threat to crop production. *Annals of Applied Biology*, 142, 145-164.
- Vašková, D., Petrzik, K., Špak, J. (2000). Molecular variability of the capsid protein of the *Prune dwarf virus*. *European Journal of Plant Pathology*, 106, 573-580.

- Vaughan, R., Tragesser, B., Ni, P., Ma, X., Dragnea, B., and Kao, C.C. (2014). The tripartite virions of the *Brome mosaic virus* have distinct physical properties that affect the timing of the infection process. *J Virol.*, 88, 6483–6491.
- Vazquez, R. del Vas M. and Hopp H.E. (2002). RNA mediated virus resistance. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 13, 167-172.
- Vemulapati, B., Druffel, K. L., Eigenbrode, S. D., Karasev, A., Pappu, H. R. (2010). Molecular characterization of pea enation mosaic virus and bean leafroll virus from the Pacific Northwest, USA. *Archives of Virology*, 155, 1713-1715.
- Verbeek, M., van Dijk, P., van Well, P.M.A. (1995). Efficiency of eradication of four viruses from garlic (*Allium sativum*) by meristem-tip culture. *European Journal of Plant Pathology*, 101, 231-239.
- Verbeek, M., Dulleman, A.M., van den Heuvel, J.F.J.M., Maris, P.C., van der Vlugt, R.A.A. (2007). Identification and characterization of *Tomato torrado virus*, a new plantpicorna-like virus from tomato. *Archives of Virology*, 152, 881-890.
- Verbeek, M., van Bekkum, P.J., Dulleman, A.M., van der Vlugt, R.A. (2014). Torradoviruses are transmitted in a semi-persistent and stylet-borne manner by three whitefly vectors. *Virus Res.*, 186, 55-60.
- Vertesy, J. (1976). Embryological studies of *Ilarvirus* infected cherry seeds. *Acta Hortic*, 67, 245–248.
- Verhoeven, J.Th.J., Jansen, C.C.C. and Roenhorst, J. W. (2006). First Report of *Potato virus M* and *Chrysanthemum stunt viroid* in *Solanum jasminoides*. *Plant disease*, 90, 1359.
- Veerakone, S., Liefing, L. W., Lebas, B. S. M. and Ward, L. (2012). First Report of *Cherry leaf roll virus* in *Hydrangea macrophylla*. *Plant Disease*, 96, 3.
- Vetten, H.J. and Allen, D.J. (1983). Effects of environment and host on vector biology and incidence of two whitefly-spread diseases of legumes in Nigeria. *Ann. Appl. Biol.*, 102, 219-227.
- Vicchi, V., Barioni, E., D'Anniballe, A., Finelli, F., Fini, P., Grillini, P. (2011). The virus TYMV found on Chinese cabbage seed. *Informatore Agrario*, 67, 66-67.
- Vincent, M., Xu, Y., Kong, H., (2004). Helicase-dependent isothermal DNA amplification. *EMBO Rep.* 5, 795–800.
- Vinogradova, S. V., Kamionskaya, A. M., Rakitin, A. L., Agranovsky, A. A., Ravin, N. V., Atabekov, J. G. and Skryabin, K. G. (2011). Testing the 3'untranslated RNA regions of *Beet necrotic yellow vein virus* and *Beet yellows virus* as inducers of posttranscriptional gene silencing. *Biochemistry, biophysics and molecular biology*, 439, 831-834.
- Visser, P.B., Bol, J.F. (1999). Nonstructural proteins of *Tobacco rattle virus* which have a role in nematode-transmission: expression pattern and interaction with viral coat protein. *J. Gen Virol.*, 3273-3280.
- Volpe, M. L., Talquenca, S. G., Engel, E. A., and Gracia, O. (2010). Incidence of *Grapevine leafroll associated viruses -1, -2, and -3* in Mendoza vineyards. *Trop. Plant Pathol.*, 35, 377-380.
- von Bargen, S., Grubits, E., Jalkanen, R. and Büttner, C. (2009). *Cherry leaf roll virus* – an emerging virus in Finland? *Silva Fennica*, 43, 727–738.
- Vončina, D., Pospišil, M., Šimon, S. and Bažok, R. (2015). First report of *Beet yellows virus* (BYV) on sugar beet in Croatia, *Plant Disease*, <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0237-PDN>

- Vrandečić, K., Jurković, D., Čosić, J., Stanković, I., Vučurović, A., Bulajić, A., Krstić, B. (2013). First report of *Alfalfa mosaic virus* infecting *Lavandula x intermedia* in Croatia. *Plant Disease*, 97, 1002.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Đekić, I., Ristić, D., Berenji, J., and Krstić, B. (2009). Biological variability of *Zucchini yellow mosaic virus* in Serbia. *Pesticidi i fitomedicina*, 24, 271-280.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Stanković, I., Ristić, D., Berenji, J., Krstić, B. (2010). Učestalost pojave i molekularna karakterizacija virusa mozaika lubenice poreklom iz Srbije. *Pesticidi i fitomedicina*, 25, 213-230.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Stanković, I., Ristić, D., Berenji, J., Krstić, B. (2011). Karakterizacija virusa mozaika krastavca poreklom iz tikava u Srbiji. *Pesticidi i fitomedicina*, 26, 325-336.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Stanković, I., Ristić, D., Nikolić, D., Berenji, J., Krstić, B. (2012). First report of *Zucchini yellow mosaic virus* in watermelon in Serbia. *Plant Disease*, 96, 149.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Milojević, K., Stanković, I., Ristić, D., Berenji, J., and Krstić, B. (2012a). Presence and characterization of *Zucchini yellow mosaic virus* in watermelon in Serbia. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 49, 151-159.
- Vučurović, A. (2012b). Diverzitet, biološka i molekularna karakterizacija virusa tikava i epidemiologija oboljenja u Srbiji. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Poljoprivredni fakultet.
- Vulić, T., Nikolić, D. Oparnica, Č., Đorđević, B., Kuzmanović, S., Starović, M., Đinović, I., Nikolić, N., Tošić, M. (2011). Sektorijalna otpornost šljive na šarku (virus šarke šljive). *Zaštita bilja*, 62, 5-15.

## W

- Walia, Y., Kumar, Y., Rana, T., Bhardwaj, P., Ram, R., Thakur, P.D., Sharma, U., Hallan, V., Zaidi, A.A. (2009). Molecular characterization and variability analysis of *Apple scar skin viroid* in India. *J Gen Plant Pathol*, 75, 307–311.
- Walia, Y., Dhir, S., Zaidi, A.A., Hallan, V. (2015). *Apple scar skin viroid* naked RNA is actively transmitted by the whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *RNA Biol.*, 12, 1131-1138.
- Walker, M., Chisholm, J., Wei, T., Ghoshal, B., Saeed, H., Rott, M., Sanfaçon, H. (2015). Complete genome sequence of three Tomato ringspot virus isolates: evidence for reassortment and recombination. *Archives of Virology*, 160, 543-547.
- Walkey, D.G.A., N.F. Lyons, and J.D. Taylor. (1992). An evaluation of a virobacterial agglutination test for the detection of plant viruses. *Plant Pathology*, 41, 462–471.
- Walters, H. I. (1952). Some relationships of three plant viruses to the differential grasshopper, *Melanoplus difierentialis* (Thos.). *Phytopathology*, 42, 355—362.
- Wang, H. and Stubbs, G. (1993). Molecular dynamics in refinement against fiber diffraction data. *Acta Crystallog. Sect. A.*, 49, 504-513.
- Wang, S and Miller, W.A. (1995). A sequence located 4.5 to 5 kilo- bases from the 5' end of the barley yellow dwarf virus (PAV) genome strongly stimulates translation of uncapped mRNA. *J. Biol. Chem.*, 270, 13446-13452.
- Wang, J.L. and Simon, A.E. (1997). Analysis of the two subgenomic RNA promoters for turnip crinkle virus in vivo and in vitro. *Virology*, 232,174-186.

- Wang, S.P., Browning, K.S. and Miller, W.A. (1997b). A viral sequence in the 3' untranslated region mimics a 5' cap in facilitating translation of uncapped mRNA. *EMBO J.*, 18, 4107-4116.
- Wang, A., Carrier, K., Chisholm, J., Wiczorek, A., Huguenot, C. and Sanfacon, H. (1999). Proteolytic processing of tomato ringspot nepovirus 3C-like protease precursors: definition of the domains for the VPg, protease and putative RNA-dependent RNA polymerase. *J. Gen. Virol.*, 80, 799-809.
- Wang, S., Gergerich, R. C., Wickizer, S. L., and Kim, K. S. (2002). Localization of transmissible and nontransmissible viruses in the vector nematode *Xiphinema americanum*. *Phytopathology*, 92, 646-653.
- Wang, Q., Cuellar, W.J., Rajamaki, M.L., Hirata, Y., Valkonen, J.P. (2008). Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. *Mol Plant Pathol*, 9, 237-250.
- Wang, H. Y., Li, X. D., Liu, Y. Y., Wang, B., Zhu, X. P. (2008a). First report of *Beet mosaic virus* infecting lettuce, in China. *Plant Pathology*, 2008, 57, 764.
- Wang, H., Wu, K., Liu, Y., Wu, Y., Wang, X. (2015). Integrative proteomics to understand the transmission mechanism of Barley yellow dwarf virus-GPV by its insect vector *Rhopalosiphum padi*. *Sci Rep*. 2015, 10, 10971. doi: 10.1038/srep10971.
- Warmke, H.E. and Edwardson, J.R. (1966). Electron microscopy of crystalline inclusions of *Tobacco mosaic virus* in leaf tissue. *Virology*, 30, 45-57.
- Warren, M., Krüger, K. and Schoeman, A.S. (2005). *Potato virus Y* (PVY) and *Potato leaf roll virus* (PLRV): literature review for South Africa. Pretoria University, 1-32.
- Watanabe, T., Honda, A., Iwata, A., Ueda, S., Hibi, T. and Ishihama, A. (1999). Isolation from tobacco mosaic virus-infected tobacco of a solubilized template-specific RNA-dependent RNA polymerase containing a 126K/183K protein heterodimer. *J. Virol.*, 73, 2633-2640.
- Watanabe, Y. and Okada, Y. (1986). In vitro viral RNA synthesis by a subcellular fraction of TMV-inoculated tobacco protoplasts. *Virology*, 149, 64-73.
- Waterhouse, P.M., Gildow, F.E., Johnstone, G.R., (1988). AAB Descriptions of Plant Viruses: Luteovirus Group, No. 339. Wellesbourne, UK: Association of Applied Biology, 9.
- Waterhouse, P.M., Graham, M.W. and Wang, M.-B. (1998). Virus resistance and gene silencing in plants can be induced by simultaneous expression of sense and antisense RNA. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 95, 13959-13964.
- Waterhouse, P.M., Wang M.B. and Lough, T. (2001). Gene silencing as an adaptive defence against viruses. *Nature*, 411, 834-842.
- Watpade,S., Raigond, B., Thakur, P.D., Handa, A., Pramanick, K. K., Sharma, Y. P., Tomar, M. (2012). Molecular detection of latent *Apple chlorotic leaf spot virus* in elite mother plants of apple. *Indian journal of virology : an official organ of Indian Virological Society*, 23, 359-363.
- Watson, M. T. and Falk, B. W. (1994). Ecological and epidemiological factors affecting carrot motley dwarf development in carrots grown in the Salinas Valley of California. *Plant Disease*, 78, 477-481.
- Webley, D.P and Stone, L.E.W. (1972). Field experiments on potato aphids and virus spread in South Wales 1966/9. *Ann. Appl. Biol.*, 72,197-203.

- Wei, Q.W., Yu, C., Zhang, S.Y., Yang, C.Y., Miriam, K., Zhang, W.N., Dou, D.L., Tao, X.R. (2012). One-step detection of *Bean pod mottle virus* in soybean seeds by the reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification. *Virology Journal*, 9, 187.
- Weintraub, M. and Ragetti, H.W.J. (1970). Electron microscopy of the bean and cowpea strains of *Southern bean mosaic virus* within leaf cells. *J. Ultrastruct. Res.* 32,167-189.
- Wellink, J. and van Kammen, A. (1988). Proteases involved in the processing of viral polyproteins. *Arch. Virol.* 98,1-26.
- Wellink, J. and van Kammen, A. (1989). Cell-to-cell transport of cowpea mosaic virus requires both the 58K/48K proteins and the capsid proteins. *J. Gen. Virol.*, 70, 2279-2286.
- Werner-Solska, J. (1983). The transmission of potato tuber viroid by insects - in the light of the literature. *Biuletyn Instytutu Ziemiaka*, 29, 57-62.
- Wetter, C. (1971). *Potato virus S*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Wetter, C. (1972). *Potato virus M*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Wetter, C. and Völk, J. (1960). Versuche zur Übertragung der Kartoffel-viren M- und S-Viren durch *Myzus persicae* Sulz, *Eur. Potato J.* 3,158-163.
- Wetzel, T., Dietzgen, R.G. and Dale, J.L. (1994). Genomic organization of lettuce necrotic yellows rhabdovirus. *Virology*, 200, 401412.
- Wetzel, T., Ebel, R., Moury, B., Le Gall, O., Endisch, S., Reustle, G.M., Krczal, G. (2006). Sequence analysis of grapevine isolates of *Raspberry ringspot nepovirus*. *Archives of Virology*, 151, 599-606.
- Wetzel, T. and Krczal, G. (2007). Molecular biology of *Raspberry ringspot nepovirus*. *Plant viruses*. Global Science Book, 45-51.
- Whitfield, A.E., Rotenberg, D, Aritua, V., Hogenhout, S.A. (2011). Analysis of expressed sequence tags from *Maize mosaic rhabdovirus*-infected gut tissues of *Peregrinus maidis* reveals the presence of key components of insect innate immunity. *Insect Mol Biol.*, 20, 225-242.
- Wikoff, W.R., Tsai, C.J., Wang, G., Baker, T.S. and Johnson, J.E. (1997). The structure of *Cucumber mosaic virus*: cryoelectron microscopy, X-ray crystallography, and sequence analysis. *Virology*, 232, 91-97.
- Williams, R.C. and Wycoff, R.G.W. (1944). The thickness of electron microscopic objects. *J. Appl. Phys.*, 15, 712-716.
- Wilson, T.M.A. (1984). Cotranslational disassembly of tobacco mosaic virus in vitro. *Virology*, 137, 255-265.
- Wilson, T.M.A. (1985). Nucleocapsid disassembly and early gene expression by positive-strand RNA viruses. *J. Gen. Virol.*, 66, 1201-1207.
- Wilson, H.R., Tollin, P, Sawyer, L., Robinson, D.J., Price, N.C. and Kelly, S.M. (1991). Secondary structure of *Narcissus mosaic virus* coat protein. *J. Gen. Virol.* 72, 1479-1480.
- Wimmer, E. Hellen, C.U. and Cao, X. (1993). Genetics of poliovirus. *Annu. Rev. Genet.*, 27, 353-436.
- Wintermantel, W.M. (2004). Emergence of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) transmitted *Criniviruses* as threats to vegetable and fruit production in North America. *APSnet Features*. Online. doi:10.1094/APSnetFeature-2004-0604.

- Wisler, G.C., Li, R.H., Liu, H.Y., Lowry, D.S. and Duffus, J.E. (1998). Tomato chlorosis virus: a new whitefly-transmitted, phloem-limited, bipartite closterovirus of tomato. *Phytopathology*, 88, 402–409.
- Wisler, G.C., Duffus, J.E., Liu, H.Y. and Li, R.H. (1998a). Ecology and epidemiology of whitefly-transmitted closteroviruses. *Plant Disease*, 82, 270–280.
- Wittmann, H.G. and Wittmann-Liebold, B. (1966). Protein chemical studies of two RNA viruses and their mutants. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 31,163-172.
- Wittmann, S., Chatel, H., Fortin, M.G. and Laliberte, J.F. (1997). Interaction of the viral protein genome linked to turnip mosaic potyvirus with the translational eukaryotic initiation factor (iso)4E of *Arabidopsis thaliana* using the yeast two-hybrid system. *Virology*, 234, 84-92.
- Woo, E. N. Y., Clover, G. R. G., Pearson, M. N. (2012). First report of *Cherry leaf roll virus* (CLR) in *Malus domestica*. *Australasian Plant Disease Notes*, 7, 151-156.
- Woo, E., Pearson, M. (2014). First report of *Strawberry latent ringspot virus* in *Vaccinium darrowii*. *Journal of Phytopathology*, 162, 820-823.
- Wood, H.A. (1973). Viruses with double-stranded RNA genomes. *J. Gen. Virol.*, 20, 61-85.
- Wooley, R.S. and Kao, C.C. (2004). *Brome mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 405, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Woolston, C.J., Czapiewski, L.G., Markham, P.G., Goad, A.S., Hull, R. and Davies, J.W. (1987). Location and sequence of a region of cauliflower mosaic virus gene 2 responsible for aphid transmissibility. *Virology*, 160, 246-251.
- Wu, G.-J. and Bruening, G. (1971). Two proteins from cowpea mosaic virus. *Virology*, 46, 596-612.
- Wu, G., Kang, L. and Tien, P. (1989). The effect of satellite RNA on cross-protection among cucumber mosaic virus strains. *Ann. Appl. Biol.*, 114, 489-496.
- Wu, B. and White, K.A. (1999). A primary determinant of cap- independent translation is located in the 3'-proximal region of the *Tomato bushy stunt virus* genome. *J. Virol.*, 73, 8982-8988.
- Wu, B., Hammar, L., Xing, L., Markarian, S., Yan, J., Iwasaki, K., Fujiyoshi, Y Omura, T., Cheng, R.H. (2000). Phytoreovirus *T* = 1 core plays critical roles in organizing the outer capsid of *T* = 13 quasiequivalence. *Virology*, 271,18-25.
- Wylie, S. J., and Jones, R. A. C. (2009). Role of recombination in the evolution of host specialization within *Bean yellow mosaic virus*. *Phytopathology*, 99, 512-518.

## Y

- Yamanaka, T., Oh ta, T., Takahashi, M. (2000). TOM1, an *Arabidopsis* gene required for efficient multiplication of a tobamovirus, encodes a putative transmembrane protein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 97,10107-10112.
- Yanase H. (1983). Back-transmission of apple stem grooving virus to apple seedlings and induction of symptoms of apple top working disease in root stocks of Mitsuha Kaido (*Malus sieboldii*) and Kobano Zumi (*Malus sieboldii* var. *arborescens*). *Acta Hort.*, 130: 117-122.
- Yang, X., Yie, Y., Zhu, F., Liu, Y., Kang, L., Wang, X., & Tien, P. (1997). Ribozyme-mediated high resistance against potato spindle tuber viroid in transgenic potatoes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 4861–4865.

- Yang, X., Thannhauser, T. W., Burrows, M., Cox-Foster, D., Gildow, F.E., Gray, S.M. (2008). Coupling genetics and proteomics to identify aphid proteins associated with vector-specific transmission of *Polerovirus* (*Luteoviridae*). *Journal of Virology*, 82, 291-299.
- Yazarlou, A.; Jafarpour, B.; Habili, N.; Randles, J. W. (2012) First detection and molecular characterization of new *Apple scar skin viroid* variants from apple and pear in Iran. *Australasian Plant Disease Notes*, 7, 99-102.
- Yeh, S.D., Gonsalves, D., Provvidenti, R. (1984). Comparative studies on host range and serology of *Papaya ringspot virus* and *Watermelon mosaic virus*. *Phytopathology*, 74, 2081-1085.
- Yoshikawa, N., Takahashi, T. (1992). Evidence for translation of apple stem grooving capillovirus genomic RNA. *J. Gen. Virol.*, 73, 1313-1315.
- Yoshikawa, N. (2000). *Apple stem grooving virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Yoshikawa, N. (2001). *Apple chlorotic leaf spot virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.

## Z

- Zaitlin, M. (2000). *Tobacco mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 370, Commonw Mycol Inst/ Assoc Appl Biol, Kew, UK.
- Zare, B., Niazi, A., Sattari, R., Aghelpasand, H., Zamani, K., Sabet, M.S., Moshiri, F., Darabie, S., Daneshvar, M.H., Norouzi, P., Kazemi-Tabar, S.K., Khoshnami, M., Malboobi, M.A. (2015). Resistance against rhizomania disease via RNA silencing in sugar beet. *Plant Pathology*, 64, 35-42.
- Zhan, X., Richardson, K.A., Haley, A. and Morris, B.A.M. (1993). The activity of the coat protein promoter of chloris striate mosaic virus is enhanced by its own and C1-C2 gene products. *Virology*, 193, 498-502.
- Zhang, Q.F., Guan, W.N., Ren, Z.Y., Zhu, X.S., Tsai, J.H. (1983). Transmission of *Barley yellow dwarf virus* strains from northwestern China by four aphid species. *Plant Disease*, 67, 895-899.
- Zhang, W., Cheng, Z., Xu, L., Wu, M., Waterhouse, P., Zhou, G., Li, S. (2009). The complete nucleotide sequence of the barley yellow dwarf GPV isolate from China shows that it is a new member of the genus *Polerovirus*. *Arch. Virol.*, 154, 1125-1128.
- Zhang, Z.Y., Fu, F.L., Gou, L., Wang, H.G., Li, W.C. (2010). RNA interference-based transgenic maize resistant to *Maize dwarf mosaic virus*. *Journal of Plant Biology*, 53, 297-305.
- Zhang, C., Grosic, S., Whitham, S.A. and Hill, J.H. (2012). The Requirement of multiple defense genes in soybean Rsv1-mediated extreme resistance to *Soybean mosaic virus*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25, 1307-1313.
- Zhou, Y., Yan, J. Y., Qiao, G. H., Liu, M., Zhang, W. and Li, X. H. (2015). First report of *Tomato chlorosis virus* infecting eggplant (*Solanum melongena*) in China. *Plant Disease*, 99, 1657.
- Zhu, H.Y., Ling, K.S., Goszczynski, D.E., McFerson, J.R., Gonsalves, D. (1998). Nucleotide sequence and genome organization of grapevine leafroll-associated virus-2 are similar to beet yellows virus, the closterovirus type member. *J. Gen. Virol.*, 79, 1289-1298.
- Ziemięcki, A. and Peters, D. (1976). The proteins of sowthistle yellow vein virus: characterization and location. *J. Gen. Virol.*, 32, 369-381.



- Zimmerman, G.S. (1979). Reducing the spread of *Potato leaf roll virus*, *Alfalfa mosaic virus* and *Potato virus Y* in seed potatoes by trapping aphids on sticky yellow polythene sheets. *Potato Res.*, 22, 123–131.
- Zimmern, D. (1977). The nucleotide sequence at the origin for assembly on tobacco mosaic virus RNA. *Cell*, 11, 463-482.
- Zimmern, D. (1983). An extended secondary structure model for the TMV assembly origin, and its correlation with protection studies and an assembly defective mutant. *EMBO J.*, 2, 1901-1907.
- Zindović, J., Lanzoni, C., Rubies Antonell, C. and Ratti, C. (2013). First report of *Prune dwarf virus* and *Prunus necrotic ringspot virus* on peach in Montenegro. *Plant Disease*, 97, 9.
- Zindović, J., Dall'Ara, M., Rubies, Antonell, C., Ratti, C. (2014). First report of *Apple chlorotic leaf spot virus*, *Cherry green ring mottle virus*, and *Cherry necrotic rusty mottle virus* on peach in Montenegro. *Plant Disease*, 98, 1014.
- Zink, F.W., Grogan, R.G., Bardin, R. (1957). The comparative effect of mosaic-free seed and rouging as a control for common lettuce mosaic. *Proc Am Soc Hortic Sci*, 70, 277–280.
- Zitter, T. A., and Murphy, J.F. (2009). *Cucumber mosaic*. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2009-0518-01
- Zorloni, A., Prati, S., Bianco, P.A., Belli, G. (2006). Transmission of *Grapevine virus A* and *Grapevine leafroll-associated virus 3* by *Heliococcus bohemicus*. *Journal of Plant Pathology*, 88, 325-328.

