

Virus bronzavosti paradajza – jedan od najdestruktivnijih biljnih virusa

Branka Krstić¹, Aleksandra Bulajić¹, Ivana Đekić¹ i Janoš Berenji²

¹Poljoprivredni fakultet, 11080 Beograd, Nemanjina 6, Srbija
(branka.krstic@agrifaculty.bg.ac.yu)

²Institut za ratarstvo i povrtarstvo, 21000 Novi Sad, Maksima Gorkog 30, Srbija

REZIME

Smatra se da virus bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) ima najširi krug domaćina i da je jedan od najrasprostranjenijih biljnih virusa. Ovaj virus je odgovoran za brojne epidemije na različitim usevima u mnogim delovima sveta, a najčešće na povrću, duvanu i ukrasnim biljkama. Visoko polifagna priroda virusa, efikasnost prenošenja vektorima – tripsima, brzina kojom se stvaraju nove varijante virusa, kao i teškoće u kontroli vektora, čine TSWV jednim od najopasnijih biljnih virusa. Zbog ekonomske važnosti na širokom krugu domaćina, kao i interesantnih bioloških i molekularnih karakteristika, ovo je danas jedan od najproučavanijih biljnih virusa. Ovaj pregledni rad o virusu bronzavosti paradajza bliže objašnjava sve aspekte njegove biologije i sadrži savremene podatke o nekim njegovim osobinama koje se odnose na niz domaćina, simptomatologiju, molekularnu biologiju, odnos sa vektorom, kontrolu i dijagnozu oboljenja koje prouzrokuje.

Ključne reči: Virus bronzavosti paradajza; ekonomski značaj; biologija; detekcija i identifikacija; kontrola

UVOD

Virus pegavog uvenuća paradajza, poznatiji kod nas pod imenom virus bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) tipičan je predstavnik roda *Tospovirus*, familije *Bunyaviridae* i dugo je bio klasifikovan kao jedini član *Tomato spotted wilt* grupe (Matthews, 1979). U ovom rodu, pored TSWV, danas se nalazi veći broj virusa. Za sada je otkriveno 14 *Tospovirus*-a (Jones, 2005), među kojima su i *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV), *Iris yellow spot virus* (IYSV), *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV), koji se

nalaze na EPPO listama (OEPP/EPPO, 2004). INSV, IYSV i CSNV se nalaze i na listama karantinskih štetnih organizama Srbije (Službeni glasnik RS, br. 14/2008-09). TSWV se nalazi na EPPO A2 listi i karantinskoj listi štetnih organizama Republike Srbije.

Oboljenje prouzrokovano ovim virusom otkriveno je u Australiji kao pegavo uvenuće paradajza (Brittlebank, 1919), a već godinu dana kasnije pronađeno je u svim rejonima gajenja paradajza u Australiji (loc. cit. Parrela i sar., 2003). Posle toga, ovaj virus je pronađen na velikom broju vrsta biljaka širom sveta. Virusna priroda oboljenja utvrđena je 1930. godine (Samuel i sar., 1930).

Praćenje pojave i rasprostranjenosti na paradajzu, ukrasnim biljkama, duvanu i drugim domaćinima, u stakleničko-plasteničkoj proizvodnji i otvorenom polju, pokazala su prisustvo i raširenost TSWV u mnogim lokalitetima gajenja ovih kultura. Cilj ovog preglednog rada je da se naučna i stručna javnost naše zemlje upozna sa opasnostima usled pojave ovog virusa na našim prostorima, trenutnim statusom pojave i rasprostranjenosti u Srbiji, osnovnim karakteristikama virusa koje ga čine štetnim, da se doprinese boljem razumevanju epidemiologije kao preduslov za primenu mera kontrole i da se ukaže na mogućnost brze, pouzdane i pogodne detekcije i identifikacije po protokolima koji se danas primenjuju u svetu.

MORFOLOGIJA, ORGANIZACIJA GENOMA I VARIJABILNOST VIRUSA

Virioni TSWV su tipične morfologije za *Tospovirus*-e: kvazisferični (po nekim istraživačima izometrijski), okruglastog oblika, prečnika 70-120 nm i okruženi dvostrukom lipoproteinskom membranom u koju su uronjena dva tipa glikoproteina u vidu površinskih šiljaka (Brunt i sar., 1996; Anonymus, 2002).

Genom čine tri linearne (-) ssRNA neinfektivne, ili (+/-) ssRNA „ambisense” (ambiinformaciona) označene kao S (short), M (middle) i L (large). Najveća RNA (L RNA) je (-) i monocistronska, a ostale dve su (+/-) i kodiraju po dva proteina. Virusni genom kodira ukupno pet proteina: (i) RNA polimeraza-transkriptaza (L – large protein) koju kodira L RNA; (ii) NS_M protein koji je uključen u kretanje virusa od ćelije do ćelije (movement, transportni protein), koji kodira M RNA; (iii) glikoproteini G1 i G2, koje kodira virusno-komplementarni lanac M RNA; (iv) NS_S nestrukturani protein nepoznate funkcije koji kodira virusna S RNA (ovaj protein izaziva formiranje agregata ili filamenata u ćelijama zaraženim TSWV) (v) N strukturalni protein koji je kodiran virusno-komplementarnim lancem S RNA. Trodelni genom je upakovan u virion pomoću brojnih kopija proteinskih subjedinica (N) formirajući kružne (pseudocirkularne) nukleokapside koji su povezani sa 10-20 kopija L (large) proteina (transkriptaza, RNA zavisna RNA polimeraza) koji (-) lanac RNA prepisuje u iRNA (Mumford i sar., 1996a; Soellick i sar., 2000; Silva i sar., 2001).

Izolati *Tospovirus*-a su najpre identifikovani na osnovu antigenih osobina i uspostavljena je klasifikacija na serogrupe (de Avila i sar., 1990) u kojoj je TSWV bio

jedini predstavnik serogrupe I. Sadašnja taksonomija i klasifikacija *Tospovirus*-a zasniva se na proučavanju molekularnih osobina i na osnovu homologije sekvenci različitih delova genoma (de Avila i sar., 1993; Goldbach i Kuo, 1996; Pappu i sar., 2000; Silva i sar., 2001). Na osnovu geografske rasprostranjenosti i filogenetske analize, svi *Tospovirus*-i podeljeni su u američku i evroazijsku grupu, pri čemu TSWV pripada američkoj grupi. TSWV ispoljava izuzetnu varijabilnost i u prirodi postoji kao kompleks sojeva (de Avila i sar., 1990; Chatzivassiliou i sar., 2000; Mandal i sar., 2006). Raznovrsnost sojeva ovog virusa uslovljena je ne samo mutacijama i rekombinacijama već i pseudorekombinacijama zbog postojanja trodelnog genoma. Time je omogućena i preraspodela između samih genomnih segmenata virusa (Qiu i sar., 1998). Razlike između izolata se naročito odnose na ekspresiju simptoma na različitim domaćinima, serološke osobine i adaptibilnost TSWV na nove domaćine i nova geografska područja.

RASPROSTRANJENOST

Prema OEPP/EPPO (1999), geografska rasprostranjenost TSWV je izuzetno široka i do sada je njegovo prisustvo potvrđeno u umerenim, subtropskim i tropskim područjima sveta, a u hladnijim područjima nalazi se u staklenicama i drugim zaštićenim prostorima. TSWV je prisutan u zemljama EPPO regiona i EU, Azije, Afrike, Severne, centralne i Južne Amerike, Karibima, kao i u zemljama Okeanije (OEPP/EPPO, 2004).

Prvi podaci o prisustvu ovog virusa na duvanu u Srbiji potiču iz 1969. godine (Mickovski, 1969), zatim je utvrđen na paprici (Mijatović i sar., 1999; Dukić i sar., 2002). Poslednjih godina se oboljenje koje ovaj virus izaziva javlja u sve većim razmerama, tako da je utvrđeno njegovo dominantno prisustvo u usevu duvana od 2002. do 2005. godine (Krstić i sar., 2005a, 2005b; Dukić i sar., 2006; Đekić i sar., 2006; Krstić i sar., 2006a, 2006b, 2006c, 2006d). U većem broju lokaliteta u Srbiji prisustvo virusa je dokazano 2005. i 2006. godine na paradajzu, paprici, duvanu i mnogobrojnim vrstama ukrasnih biljaka (Krstić i Bulajić, 2007). Prisustvo TSWV na novim vrstama ukrasnih biljaka i njegova ekspanzija na povrću i duvanu utvrđena je i tokom 2007. godine (Đekić i sar., 2007a, 2007b; Krstić i sar., 2007a, 2007b; Petković i sar., 2007; Simić i sar., 2007; Tomić i sar., 2007).

EKONOMSKI ZNAČAJ

TSWV se nalazi u grupi deset ekonomski najvažnijih virusa (Goldbach i Peters, 1994). Zbog široke rasprostranjenosti i efikasnosti svog vektora, ali i zbog nedostataka specifičnosti u odnosu na domaćine, TSWV je jedan od najdestruktivnijih virusa u svetu. Izaziva gubitke u proizvodnji raznih useva širom sveta. Vrednost gubitaka usled zaraze TSWV procenjuje se na oko jednu milijardu dolara godišnje (Scott, 2000). Virus je odgovoran za brojne epidemije na različitim usevima u različitim delovima sveta, a najčešće na povrću i ukrasnim biljkama. U nekim regionima Brazila, Argentine, Kanade, Danske, Italije, Holandije, Velike Britanije i SAD, TSWV je postao ekonomski najvažniji virus (OEPP/EPPO, 1999). Iznenadna i dramatična pojava novog vektora virusa, zapadnog cvetnog tripsa, *Frankliniella occidentalis*, ugrozila je stakleničko-plasteničku proizvodnju ukrasnih biljaka u svetu (Daughtrey i sar., 1997). U proizvodnji ukrasnih biljaka, osim simptoma na lišću i stablu i propadanja zaraženih biljaka, TSWV izaziva smanjen kvalitet i brojnost cvetova, a utiče i na značajno smanjenje klijavosti krtola i lukovica (Whitfield i sar., 2003).

TSWV predstavlja ograničavajući faktor i za proizvodnju duvana. Pojavom ovog virusa u Džordžiji, SAD, na preko 30% biljaka duvana 1999. godine, gubici su procenjeni na više od 28 miliona dolara (Williams-Woodward, 2000). TSWV je identifikovan u Džordžiji 1970. godine, a zatim nije pronađen sve do 1983. godine. Od 1989. godine postao je ozbiljan problem u proizvodnji duvana, kikirikija i paradajza, dostižući nivo zaraze do 50%, a pojedina polja duvana su zbog zaraze TSWV-om bila presejana (Kucharek i sar., 2000). Proučavanja u bivšoj Jugoslaviji ukazuju da je TSWV izazivao ozbiljne gubitke u prinosu duvana. Mickovski (1969) je zabeležio epidemijsku pojavu TSWV na 50-90% biljaka, zbog čega je proizvodnja duvana u našoj zemlji te godine bila u potpunosti ugrožena. Na osnovu pregleda useva duvana i identifikacije virusa u periodu od 2002. do 2007. godine u Srbiji, TSWV je prisutan svake godine, a u pojedinim godinama i pojedinim lokalitetima je bio dominantan virus (Krstić i sar., 2005b; Dukić i sar., 2006; Krstić i sar., 2006c; Đekić i sar., 2007b; Krstić i sar., 2007a; Spasić i sar., 2007).

U usevu krompira TSWV se javlja sporadično i retko, ali kad se pojavi gubici mogu da budu značajni. Često pojava ovog virusa može da bude podcenjena, s obzirom da su folijarni simptomi slični onima koje prouzrokuje *Alternaria solani*. TSWV je u usevu krompira de-

tektovan u Australiji, Brazilu, Južnoj Africi, Saudiskoj Arabiji, a u Evropi u Portugaliji (Wilson, 2001). U Australiji, gde je usev krompira posebno podložan epidemiji prouzrokovanoj TSWV-om, pojava ovog virusa je sve učestalija i sa visokim intenzitetom oboljenja, često i 100%. Mnogi usevi semenskog krompira su u postupku sertifikacije odbijeni zbog ovog virusa. TSWV izaziva smanjenje veličine krtola i tako direktno utiče na smanjenje prinosa. Osim toga, deformacije krtola, površinska i unutrašnja nekroza smanjuju kvalitet krtola i tako ih čine neprivačnim za tržište. TSWV je veoma važan za usev krompira jer se prenosi iz vegetacije u vegetaciju zaraženim krtolama. U zavisnosti od sorte prenosivost krtolama se kreće od 5 do 84% (Rodoni i Henderson, 2004).

DOMAĆINI

TSWV je virus sa izraženom polifagnom prirodom i najširim krugom domaćina među biljnim virusima. U dostupnoj listi domaćina navodi se 1090 biljnih vrsta iz 15 familija monokotiledonih, 69 familija dikotiledonih biljaka i jedne familije razdela Pteridiophyta, fam. Pteridaceae (Parrella i sar., 2003). Većina biljaka domaćina pripada familijama Asteraceae (247 vrsta), Solanaceae (172 vrste) i Fabaceae (60 vrsta).

U EPPO regionu glavni domaćini su paprika, paradajz, plavi patlidžan, salata, grašak, pasulj, artičoka, cikorija, vrežaste kulture (krastavac, dinja, lubenica), duvan, krompir i veliki broj ukrasnih biljaka (*Alstroemeria*, *Anemone*, *Antirrhinum*, *Araceae*, *Aster*, *Begonia*, *Bouvardia*, *Calceolaria*, *Callistephus*, *Celosia*, *Cestrum*, *Columnea*, *Cyclamen*, *Dahlia*, *Dendranthema x grandiflorum*, *Eustoma*, *Fatsia japonica*, *Gazania*, *Gerbera*, *Gladiolus*, *Hydrangea*, *Impatiens*, *Iris*, *Kalanchoe*, *Leucanthemum*, *Limonium*, *Pelargonium*, *Ranunculus*, *Saintpaulia*, *Senecio cruentus*, *Sinningia*, *Tagetes*, *Verbena*, *Vinca* i *Zinnia*). Ovaj virus pripada grupi ekonomski štetnih virusa za proizvodnju paradajza, paprike, salate, duvana i ukrasnih biljaka (OEPP/EPPO, 1999). Takođe, u Iranu (Golnaraghi i sar., 2001) i Džordžiji, SAD (Nischwitz i sar., 2006), virus je detektovan na soji bez ikakvih karakterističnih simptoma. U literaturi nema navoda da su drvenaste biljke domaćini TSWV. Daughtrey i sar. (1997) navode da dve drvenaste biljke, ruža (*Rosa* hibridi) i božićna zvezda (*Euphorbia pulcherrima*), nisu osetljive na TSWV.

Naročito je značajno što TSWV ima širok krug domaćina među korovima koji imaju značajnu ulogu u

njegovom održavanju i širenju. Kao široko rasprostranjeni korovi, a u isto vreme domaćini TSWV ističu se: gorčika (*Sonchus* sp.), ljutić (*Ranunculus arvensis*), maslačak (*Taraxacum officinale*), mišjakinja (*Stelaria media*), čičak (*Arctium lappa*), piskavica (*Solanum dulcamara*), pepeljuga (*Chenopodium album*), štavelj (*Rumex crispus*), ladolež (*Convolvulus tricolor*), tatula (*Datura stramonium*), bokvica (*Plantago major*), poponac (*Polygonum convolvulus*), štir (*Amaranthus albus*), lisac (*Polygonum lapathifolium*), tušt (*Portulaca oleracea*), žutenica (*Senecio vulgaris*), pomoćnica (*Solanum nigrum*) i drugi (Jorda i sar., 1995; OEPP/EPPPO, 1999; Parrella i sar., 2003; Love, 2005).

TSWV je u periodu od 2002. do 2007. godine u našoj zemlji detektovan osim na duvanu, paradajzu i paprici, i na soji, salati, mrkvi, i ukrasnim biljkama iz 21 roda, a pre svega na: *Impatiens*, *Petunia*, *Sinningia*, *Pelargonium*, *Lysimachia*, *Chrysanthemum*, *Begonia*, *Tagetes*, *Cyclamen*, *Gerbera*, *Salvia* i *Gazania* (Krstić i Bulajić, 2007; Petković i sar., 2007; Simić i sar., 2007).

SIMPTOMI

TSWV izaziva veoma raznovrsne simptome na svojim domaćinima koji mogu da variraju na istoj biljnoj vrsti u zavisnosti od sorte, starosti biljke, vremena infekcije i uslova spoljašnje sredine, od kojih temperatura ima veoma važnu ulogu u jačini ispoljavanja simptoma (Allen i sar., 1991). Simptomi se razvijaju za 3-14 dana po infekciji, mada ponekad inkubacioni period traje mnogo duže (Kucharek i sar., 2000).

Simptomi prouzrokovani drugim *Tospovirus*-ima u principu se ne razlikuju od onih koje izaziva TSWV, tako da je teško razlikovati ove viruse samo na osnovu simptoma. Ponekad simptomi podsećaju na fiziopatije ili na simptome bakterijskih ili mikočnih obojenja. Nekrotične pege na lišću mogu da podsećaju i na oštećenja od pesticida. U nekim slučajevima zaraze su latentne, odnosno bez vidljivih simptoma. Takve biljke predstavljaju najveću opasnost i izvor zaraze u staklenicima.

Na nekim biljkama, uključujući paradajz, impatiens, ciklamu, begoniju i gloksiniju, javljaju se specifični simptomi u vidu malih koncentričnih prstenova na lišću, cvetovima ili plodovima. Ove zonirane pege, koje imaju izgled mete, u početku su žute ili ljubičaste, a kasnije mogu da postanu žutosmeđe ili smeđe. Kao specifični simptomi javljaju se i bronzasta boja na najmla-

dem lišću paradajza i ljubičaste pruge na stablu paradajza i impatiensa.

Ono što je zajedničko za ispoljavanje simptoma na određenim domaćinima jesu prstenaste pege (žuti ili tamnosmeđi nekrotični prstenovi) ili druge linijske šare, crne pruge na peteljka i stablu, nekrotične pege na lišću ili nekroza vrha biljke.

Simptomi na najznačajnijim povrtarskim, ukrasnim i industrijskim biljkama su:

Paradajz. Simptomi su varijabilni i ispoljavaju se na lišću, peteljka i stablu i plodovima. Mlado lišće reaguje pojavom sitnih, tamnosmeđih pega, zadebljanjem nerava, uvijeno je i naborano. Tipičan simptom je bronzavost lišća (Slika 1). Na peteljka i stablu javlja se nekroza u vidu tamnosmeđih traka i takve biljke kasnije uginjavaju. Vršni meristem obično zahvata sistemična nekroza, što se odražava na smanjen porast biljke. Na jako zaraženim biljkama plodovi imaju veoma karakteristične simptome. Na mladim, zelenim plodovi-



Slika 1. Bronzavost lišća paradajza
Figure 1. Tomato foliage bronzing



Slika 2. Neujednačena obojenost zrelih plodova paradajza
Figure 2. Color breaking of mature tomato fruit

ma javljaju se nekrotični prstenovi i šare usled čega plodovi imaju nepravilan oblik. Na zrelih plodovima javljaju se koncentrične prstenaste pege, odnosno blede-crvena, bela ili narandžasta polja oivičena koncentričnim prstenovima. Često se javlja neravnomerno sazrevanje plodova (Slika 2). Takvi plodovi nemaju tržišnu vrednost. Simptomi se na nekim biljkama javljaju samo na plodovima.

Paprika. TSWV na paprici izaziva uglavnom žutilo lišća i cele biljke, kao i kržljivost, a čest je i mozaik sa izraženim koncentričnim prstenastim pegama (Slika 3) ili hlorotični linijski mozaik na starijem lišću. Zaraženo lišće može da ima bronzastu boju. Mlado lišće je deformisano, sitno, naborano, sa zadebljalim nervima. Dugačke nekrotične pruge na stablu proširuju se sve do vršnog meristema. Infekcija ovim virusom ometa zamatanje plodova, a plodovi formirani nakon infekci-



Slika 3. Koncentrične prstenaste pege na listu paprike
Figure 3. Concentric ringspots on pepper leaf



Slika 4. Deformacije ploda i upadljivi koncentrični prstenovi i pege paprike
Figure 4. Pepper fruit malformation and conspicuous concentric rings and spots

je su nerazvijeni, jako deformisani (iskrivljeni), nepravilno obojeni, sa dugim nekrotičnim prugama i pegama, ili u vidu mozaične ili nekrotične prstenaste pegavosti (Slika 4) i često u potpunosti podležu nekrozi. TSWV može da izazove izumiranje grančica, skraćivanje internodija stabla, tako da biljke imaju žbunast izgled ili propadaju.

Salata. Infekcija počinje sa periferije listova i širi se ka središnjem lišću. Javlja se opšta hloroza, praćena tamnim pegama i nekrozom nerava (Slika 5). Zastoj u porastu zaraženog tkiva izaziva karakterističnu deformaciju u vidu krivljenja. Rano zaražene biljke su kržljave, venu i uginjavaju.



Slika 5. Nekroza nerava na listu salate
Figure 5. Lettuce leaf vein necrosis

Krompir. Primarni simptomi su nekrotične pege na lišću (Slika 6), nekroza stabla (Slika 7), sušenje vrha izdanaka (Slika 8), povremeno propadanje cele biljke i češće propadanje samo gornjeg dela biljke. Lokalne hlorotične i nekrotične pege mogu se pojaviti na mestima uboda tripsa. Svetlo zelena boja gornjeg dela biljke može da prethodi pojavi sistematične nekrotične pegavosti. Pege na lišću mogu da budu u vidu pojedinačnih nekrotičnih prstenova ili brojnih nekrotičnih prstenastih pega koji podsećaju na simptom koji izaziva *Alternaria solani*. Nekrotične pege mogu da se pojave i na peteljka, lisnim nervima, epidermisu i srži stabla. Krtole formirane na zaraženim biljkama mogu da budu deformisane pukotinama i tamnim nekrotičnim pegama u unutrašnjosti. Nekrotične pege se, osim u unutrašnjosti, mogu javiti i na peridermu krtola u vidu koncentričnih pega i šara (Slika 9), a moguće je i da zaražene krtole ne ispoljavaju vidljive simptome. Sekundarni simptomi na izdancima formiranim iz zaraženih krtola uključuju pojavu nekrotičnih ili žutih pega, rano

izumiranje, različit stepen zakržljavanja biljke ili roze-tavost sa grubim tamno zelenim lišćem. Mnoge zaražene biljke preživljavaju, ali daju sitne i deformisane krtole. Treba imati u vidu da zbog neravnomerne distribucije TSWV u biljkama, ne moraju svi izdanci iz zaražene krtole biti zaraženi i ako su zaraženi ne ispoljavaju svi simptome.



Slika 6. Nekrotične pege na lišću krompira (veštačka inokulacija)

Figure 6. Necrotic patches on potato leaves (artificial inoculation)



Slika 7. Nekroza stabla krompira (veštačka inokulacija)

Figure 7. Potato stem necrosis (artificial inoculation)



Slika 8. Sušenje vrha izdanka krompira (veštačka inokulacija)

Figure 8. Potato sprout tip dieback (artificial inoculation)



Slika 9. Udubljene nekrotične pege i prstenovi na krtolama krompira (veštačka inokulacija)

Figure 9. Sunken necrotic spots and rings on potato tubers (artificial inoculation)

Duvan. Na mlađem lišću uočljiva je pojava koncentričnih prstenastih pega, nervi zadebljavaju i prosvetljavaju. Tipičan simptom je zastoj u porastu srednjeg lisnog



Slika 10. Deformisani list duvana sa nepravilnim belim nekrotičnim pegama

Figure 10. Malformed tobacco leaf with irregular white necrotic spots

nerva oko kojeg tkivo nastavlja da se razvija. Zbog toga je starije lišće naborano, savijeno prema naličju i išarano linijskim i koncentričnim prstenastim šarama i često sa beličastim nekrotičnim pegama (Slika 10). Liske pocrne posle sušenja i gube upotrebnu vrednost. Nekrotične pege javljaju se i na cvetu i na čaurama. Takođe, dolazi i do nekroze vršnog meristema i skraćivanja internodija, te biljke zaostaju u porastu i kržljave su.

Ukrasne biljke. Virus je infektivan za veliki broj ukrasnih biljaka. Na lišću hrizanteme (*Chrysanthemum indicum*), u zavisnosti od sorte, javljaju se koncentrično prstenaste, linijske ili nepravilne pege bronzaste boje, ili hlorotični do bronzasti mozaik na lišću novih izdanaka zaraženih biljaka. Cvetovi zaraženih biljaka su sitni, sa retkim i nekrotičnim kruničnim listićima. Obično se javlja nekroza u vidu crnih pruga na stablu i uvelost biljaka. Na lišću muškatele (*Pelargonium*) simptomi su u vidu belih do hlorotičnih prstenova ili koncentričnih



Slika 11. Hlorotično šarenilo lišća impatiensa
Figure 11. Chlorotic mottling of Impatiens leaves



Slika 12. Nekrotične prstenaste pege na lišću impatiensa
Figure 12. Necrotic ringspots on leaves of Impatiens



Slika 13. Deformacije i neujednačena obojenost cveta impatiensa
Figure 13. Impatiens flower deformation and color breaking

pega, a vršni listovi su sitniji. Na lišću vrbice (*Impatiens balsamina*) javlja se hlorotičan mozaik nepravilnog oblika (Slika 11) ili hlorotični i nekrotični koncentrični prstenovi i šare (Slika 12). Osim toga, zaraza TSWV-om smanjuje kvalitet (Slika 13) i brojnost cvetova.

PATOGENEZA

Dva osnovna načina širenja TSWV su prenošenje vektorima i prenošenje zaraženim propagativnim biljnim materijalom. Kao vektori TSWV utvrđene su sledeće vrste tripsa (Thysanoptera: Thripidae): *Frankliniella occidentalis* (zapadni cvetni trips), *F. schultzei* (pamukov trips), *F. fusca* (lukov trips), *Thrips tabaci* (duvanov trips), *T. setosus*, *T. moultoni*, *F. tenuicornis*, *F. bispinosa*, *Lithrips dorsalis* i *Scirtothrips dorsalis* (Amin i sar., 1981; Sakimura, 1963; EPPO/CABI, 1992; Webb i sar., 1997). Od navedenih, prve četiri vrste tripsa smatraju se najvažnijim vektorima zbog njihove široke rasprostranjenosti i preklapajućeg niza domaćina samog vektora i virusa. U Srbiji na različitim usevima u polju konstatovano je prisustvo duvanovog tripsa (*Thrips tabaci*), a u stakleničko-plasteničkoj proizvodnji najčešće je ustanovljena pojava druge dve vrste, kalifornijskog tripsa (*Frankliniella occidentalis*) i cvetnog tripsa (*Frankliniella intonsa*) (Andus i Trdan, 2005; Injac i sar., 2005). Smatra se da je najvažniji vektor ovog virusa *F. occidentalis*, vrsta koja je i odgovorna što TSWV pripada grupi „re-emerging” virusa, odnosno virusa ko-

ji ponovo dobijaju na značaju (Gera i sar., 2000; Jones, 2005). TSWV se prenosi tripsima na cirkulativan (perzistentan) i propagativni način, što znači da se umnožava u telu svog vektora. Tripsi usvajaju virus intenzivnom ishranom, a zaražavanje biljaka (inokulacija) može da bude postignuto „plitkom” ishranom u epidermalnim ćelijama. Izvesno vreme se smatralo da najznačajniju ulogu u širenju TSWV ima imago tripsa. Tripsi mogu da lete na malim rastojanjima u uslovima bez vetra ili sa slabim vetrom, a jaki vetrovi ih prenose na veću udaljenost. Međutim, postoje rezultati koji ukazuju da su larve drugog stupnja potencijalno efikasnije u širenju virusa nego imaga, pogotovo u zaštićenom prostoru i ako se biljke međusobno dodiruju. U godinama sa toplim i suvim vremenom dolazi do prenamnoženja tripsa, pa se tada bronzavost paradajza, kao i hlороza i kržljavost duvana, javlja u štetnim razmerama (Prins i Kormelink, 2004).

TSWV se, takođe intenzivno, širi putem međunarodne trgovine biljnim, naročito vegetativnim propagativnim materijalom. Posebno su značajni rasad i reznice, koji mogu da budu zaraženi virusom ili infestirani zaraženim tripsima. Razmnožavanje reznicama poreklom sa zaraženih matičnih biljaka omogućava sigurno prenošenje TSWV, a ovaj način prenošenja je naročito značajan zbog toga što reznice često ne pokazuju simptome sve do ožiljavanja ili do sadnje na stalno mesto (Hausbeck i sar., 1992). Iako je prenošenje lukovicama i krtolama ukrasnih biljaka moguće, smatra se da je ono retko (Robb i sar., 1998; Kucharek i sar., 2000).

Mnoge biljne vrste na kojima se razvijaju kolonije jedne vrste tripsa istovremeno su osetljive na *Tospovirus-e*. Takve biljke mogu da posluže kao prirodni rezervoari virusa za druge osetljive biljke. Biljke mogu da budu domaćini i vektora i virusa ili mogu da budu zaražene u toku probne ishrane, kad tripsi određuju pogodnost neke biljke. Zaražene korovske vrste su najvažniji izvor inokuluma, koji omogućava održavanje inokuluma TSWV u zimskom periodu i predstavlja reproduktivnog domaćina za vektore odakle se virus prenosi na osetljive biljke (Groves i sar., 2001). Širenje TSWV na korovskim biljkama u proleće omogućava premoščavanje i prelazak sa prezimljućeg domaćina na osetljive gajene biljke koje se seju ili sade u proleće. TSWV se, kao i drugi *Tospovirus-i*, ne prenosi semenom biljaka domaćina (Reddy i Wightman, 1988).

DETEKCIJA I IDENTIFIKACIJA

Pouzdana detekcija i identifikacija *Tospovirus-a*, pa i TSWV, nije jednostavna. Uslovljena je brojnim i složenim aspektima biologije virusa ovog roda, a posebno veoma širokim krugom domaćina i izuzetno varijabilnim simptomima. Za *Tospovirus-e* je karakteristična neravnomerna distribucija u biljci i nejednaka koncentracija virusa u pojedinim biljnim organima. Stalno otkrivanje novih virusa ili novih bioloških varijanti virusa koje nastaju zbog izuzetno velike varijabilnosti, takođe otežavaju pouzdanu detekciju.

Identifikacija i klasifikacija vrsta u okviru roda *Tospovirus* zasniva se na većem broju parametara: (i) prirodni i eksperimentalni krug domaćina (širok, srednji, uzak), (ii) vektorska specifičnost (vrsta tripsa), (iii) homologija aminokiselinske sekvence N proteina, (iv) homologija sekvenci gena za NS_M protein, (v) homologija sekvenci dva međugenska regiona (IGR, intergenic region) koji se nalaze između ORF_S na S RNA i M RNA. U zavisnosti od toga da li se ispitivanja sprovode u svrhu detekcije, identifikacije ili karakterizacije određenog virusa, ispituje se različit broj njihovih osobina, odnosno uključuju se različite metode za ispitivanje. Broj specifičnih metoda zavisi i od toga da li rutinski ispitujeemo zdravstveno stanje biljke (seme, krtole, lukovice, sadni materijal) ili se ispituju pojava i prisutnost nekog novog virusa za određeni region gajenja, neki karantinski virus ili pojava novog soja određenog virusa. Bez obzira na svu kompleksnost, postoje specifične i pouzdane metode za identifikaciju TSWV koje se zasnivaju na određenim osobinama samog virusa (OEPP/EPPO, 1999, 2004).

Dijagnoza oboljenja koja TSWV izaziva samo na osnovu simptoma je nemoguća. Simptomi koje ovaj virus izaziva su raznovrsni i značajno variraju u zavisnosti od vremena infekcije, soja virusa, vrste, sorte i starosti biljke, spoljašnjih uslova (najčešće od temperature i intenziteta svetlosti), a na pojedinim domaćinima veoma su slični simptomima koje izazivaju drugi fitopatogeni virusi.

TSWV se može preneti na dijagnostičke test biljke, odnosno moguća je i poželjna primena biotesta pri likom identifikacije. *Petunia hybrida* je jedna od najkorisnijih i primenjuje se kao indikator biljka (Allen i Matteoni, 1991). Na zarazu reaguje za 2-4 dana tipičnim smeđim lokalnim pegama. *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa* i *N. clevelandii* reaguju prvo pojavom krupnih lokalnih nekrotičnih pega, a zatim sistemčnim mozaikom ili nekrozom, dok *Cucumis sativus* ispoljava hlo-

rotične pege sa nekrotičnim prstenom 4-5 dana po inokulaciji virusa (OEPP/EPPO, 1999).

Prilikom laboratorijskog dokazivanja virusa, preporučuje se uzimanje delova lišća i stabla sa simptomima (OEPP/EPPO, 2004). Treba voditi računa o tome da je virus u višoj koncentraciji u mlađim delovima biljke, odnosno lišću, tako da treba izbegavati uzorkovanje starijih delova biljke.

Zbog jedinstvene morfologije *Tospovirus*-a u odnosu na druge biljne viruse, detekcija TSWV i drugih *Tospovirus*-a može se postići elektronskom mikroskopijom, posmatranjem preparata koji se pripremaju metodom uranjanja (OEPP/EPPO, 1999), ali ova metoda nije pogodna za ispitivanje velikog broja uzoraka.

Serološko testiranje je najčešće korišćena metoda za detekciju i dijagnozu TSWV u zaraženim biljkama i vektorima. DAS ELISA korišćenjem poliklonalnih antitela na ceo virion TSWV često se koristi za detekciju virusa u biljkama (Whitfield i sar., 2003) i tripsima (Cho i sar., 1988). Razvijene su i varijante DAS ELISA uz korišćenje monoklonalnih antitela specifičnih za različite virusne antigene (N i G strukturni proteini) (de Avila i sar., 1990) kojima je moguće detektovati razlike između izolata TSWV (Sherwood i sar., 1989). Osim DAS ELISA, razvijene su brojne modifikacije, uključujući koktel i indirektnu ELISA (Resende i sar., 1991), i druge serološke metode, kao što su dot-blot immunoassay – DBIA (Huguenot i sar., 1990) i direct tissue blotting (Hsu i Lawson, 1991). Whitfield i sar. (2003) razvili su TBIA (Tissue Blot Immunoassay) za ranu detekciju TSWV i indeksiranje drvenastih i prezimljujućih organa (krtola) zaraženih ukrasnih biljaka.

Za detekciju ili karakterizaciju TSWV i drugih *Tospovirus*-a razvijen je veći broj modifikacija molekularnih tehnika zasnovanih na PCR ili hibridizaciji nukleinskih kiselina. Takođe, korišćen je veći broj prajmera specifičnih za različite segmente sve tri genomne RNA (L, M i S RNA) ili međugenskih regiona M i S RNA. RT-PCR za detekciju i identifikaciju TSWV, koji se preporučuje u dijagnostičkim protokolima, razvili su i poboljšali Mumford i sar. (1994, 1996b). Weekes i sar. (1996a) razvili su kombinaciju immunocapture i RT-PCR. Weekes i sar. (1996b) razvili su dijagnozu TSWV i INSV uz ekstrakciju RNA iz zaraženog biljnog materijala ili izdvajanjem virusa vezivanjem za antitela, primenom prajmera specifičnih za L RNA ili S RNA, u pojedinačnim reakcijama ili u višestrukim reakcionim mešavinama dobijajući amplikone karakteristične za određeni virus, kao i univerzalne prajmere na različite delove S RNA za detekciju svih testira-

nih *Tospovirus*-a. Roberts i sar. (2000) razvili su real-time RT-PCR (TaqMan™ chemistry), veoma osetljiv protokol za detekciju i kvantifikaciju TSWV. Takođe, omogućena je brza i pouzdana detekcija TSWV u ćelijama tripsa (Mason i sar., 2003). Razvoj molekularne biologije omogućio je, osim poboljšanja dijagnoze *Tospovirus*-a, rutinska testiranja i bolje sagledavanje raznovrsnosti pripadnika ovog roda.

KONTROLA

Izražena polifagna priroda TSWV, efikasnost prenošenja vektorima – tripsima, brzina kojom se stvaraju nove varijante virusa, kao i teškoće u kontroli vektora usled njegovih bioloških karakteristika i brzog razvijanja rezistentnosti, čine ovaj virus najopasnijim virusom u proizvodnji ukrasnih biljaka, povrća i proizvodnji rasada duvana u zaštićenom prostoru. Kako nema direktnih načina kontrole virusnih oboljenja, a poznavajući biologiju i epidemiologiju TSWV, mere kontrole treba da budu usmerene na smanjenje populacije tripsa i redovnu, pravovremenu primenu različitih preventivnih mera (OEPP/EPPO, 1999; Anonymus, 2002; Krstić i sar., 2006a; Krstić i Bulajić, 2007; Krstić i sar., 2007b). Te mere podrazumevaju: obavezno pregledanje svih biljaka koje se unose u staklenik/plastenik na prisustvo tripsa i virusa (inspekcija), izolacija novih biljaka koje se unose u staklenik/plastenik u prostorijama odvojenim od proizvodnog pogona (izolacioni prostor) desetak dana pre nego što se unesu u proizvodni deo staklenika, prostorna izolacija osetljivih biljnih vrsta, uništavanje korovskih biljaka u stakleniku i oko staklenika, uništavanje zaraženih biljaka, vegetativnu propagaciju ne vršiti sa zaraženih biljaka, kao i stroga kontrola populacije tripsa (praćenje populacije tripsa, upotreba insekatskih mreža i aluminijumskih folija, hemijska kontrola i biološke mere borbe). Pored navedenih preventivnih mera koje treba primeniti u zaštićenom prostoru, kontrola TSWV na paradajzu, paprici i drugom povrću koje se gaji na otvorenom, u polju, podrazumeva i neke dodatne mere: plodored i malčiranje. Treba imati na umu da je primena insekticida u polju neefikasna u suzbijanju tripsa, jer kontaktni insekticidi ne mogu da dopru do skrivenih mesta na biljci gde se tripsi ishranjuju, a sistemski ne deluju dovoljno brzo da onemoguće vektorsku ulogu tripsa.

Kako je tehnologija proizvodnje duvana specifična, uključuje proizvodnju i u zaštićenom prostoru i u polju, samo integralna strategija kontrole TSWV na duva-

nu obezbeđuje uspešnu proizvodnju. Kontrola je uglavnom usmerena na tripsu kao vektore i primenu ostalih sanitarnih mera: proizvodnja zdravog rasada, određivanje vremena rasađivanja, uništavanje korova u polju, hemijska kontrola tripsa u polju, odstranjivanje zaraženih i dosađivanje novih biljaka, plodored, primena insekticida i aktivatora otpornosti biljaka (Krstić i sar., 2005b, 2006c, 2006d; Krstić i Bulajić, 2007). Za sada ne postoje komercijalne sorte duvana otporne na TSWV. Učinjeni su značajni napor da se kombinacijom aktivatora otpornosti (acibenzolar-S-metil) i insekticida na bazi imidacloprida ili tiametoksana u odgovarajućoj fazi razvoja duvana smanji vektorska uloga tripsa (Csinos i sar., 2001). Primena ova dva preparata u okviru integralnog i kontinuiranog programa zaštite duvana koji uključuje sve navedene dostupne mere, obezbeđuje najbolju moguću kontrolu TSWV na duvanu.

Zbog složene kontrole TSWV i njegovih vektora primenom svih navedenih mera, ukazala se potreba za iznalaženjem novih vidova otpornosti putem genetičkog inženjerstva. Visok nivo otpornosti na TSWV dobijen je u inbred linijama paradajza transformisanim unošenjem gena za nukleoprotein (N) (de Haan i sar., 1996). Sličan nivo otpornosti dobijen je u duvanima, *N. tabacum* i *N. benthamiana* (Vaira i sar., 1995) i u hrizantemi (Sherman i sar., 1998), u koje je inkorporiran N gen. Preporučuju se i dve sorte salate (Tinto i Ancora), koje su selekcionisane kao otporne na TSWV (O'Malley i Hartmann, 1989). Na žalost, velika varijabilnost virusa omogućava brzo prevazilaženje otpornosti dobijene bilo konvencionalnim metodama bilo genetičkim inženjerstvom (Vaira i sar., 1995; Cho i sar., 1996; Mandal i sar., 2006).

FITOSANITARNI RIZIK

TSWV je 1997. godine svrstan na EPP0 A2 listu. Unošenje i brzo širenje tripsa *F. occidentalis* u EPP0 regionu uslovalo je i brzo širenje samog virusa, koji pre toga nije bio prisutan ili se sporadično pojavljivao. Gde god se TSWV pojavio, a pre svega u proizvodnji povrtnarskih i ukrasnih biljaka u zaštićenom prostoru, ekonomska važnost virusa je bila očigledna. Takođe, adaptacijom *F. occidentalis* u južnoj Evropi na povrće gajevo u polju virus je još više dobio na značaju. Vektor i virus su danas prisutni u većini zemalja Evrope, pa bi trebalo razmatrati promenu statusa TSWV u regulisani nekarantinski pre nego karantinski štetni organizam (OEPP/EPP0, 1999).

Niz podataka vezanih za TSWV koji su izneti u ovom preglednom radu ukazali su na važnost ovog virusa. Ovakav pregled je bio potreban našoj stručnoj javnosti kako bi se ukazalo na potreban integralan pristup sprečavanju pojave i širenja TSWV, zbog njegovog velikog ekonomskog značaja za proizvodnju ukrasnih biljaka, paradajza i duvana u zemljama Evrope gde god su prisutni vektori, povećanog obima proizvodnje ukrasnih biljaka u našoj zemlji i povećanog obima proizvodnje paradajza u zaštićenom prostoru, mogućnosti introdukcije ovog virusa u našu zemlju uvozom zaraženog ili tripsima infestiranog vegetativnog propagativnog materijala, štetnosti TSWV u zaštićenom prostoru kako u proizvodnji paradajza i ukrasnih biljaka tako i rasada povrća i duvana, teškoćama u kontroli oboljenja koja TSWV izaziva i utvrđenom prisustvu u našoj zemlji.

ZAHVALNICA

Podaci koji se odnose na istraživanja u Srbiji dobijeni su tokom realizacije projekata: „Povećanje i iskorišćavanje genetičkog potencijala za prinos i kvalitet duvana, hmelja i lekovitog bilja”, koji je finansiralo Ministarstvo nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije od 2005. do 2007. godine; „Utvrđivanje statusa nekih karantinskih štetnih virusa i gljiva na području Republike Srbije” u periodu od 2005. do 2007. godine i „Analiza rizika od unošenja svih karantinskih organizama u Srbiju uvozom cveća” u toku 2005. godine koje je finansiralo Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije.

LITERATURA

Allen, W.R. and Matteoni, J.A.: Petunia as an indicator plant for use by growers to monitor for thrips carrying the tomato spotted wilt virus in greenhouses. *Plant Dis.*, 75: 78-82, 1991.

Allen, W.R., Matteoni, J.A. and Broadbent, A.B.: Factors relating to epidemiology and symptomatology in florist's chrysanthemum infected with Tomato spotted wilt virus. In: *Virus-Thrips-Plant Interactions of TSWV* (Hsu, H.T. and Lawson, R.H., eds.), Springfield, National Technology Information Service, 1991, pp. 28-45.

Amin, P.W., Reddy, D.V.R. and Ghanekar, A.M.: Transmission of *Tomato spotted wilt virus*, the causal agent

- of bud necrosis of peanut, by *Scirtothrips dorsalis* and *Frankliniella schultzei*. Plant Dis., 65: 663-665, 1981.
- Andus, Lj. i Trdan, S.:** Duvanov trips (*Thrips tabaci* Lindeman), najštetnija vrsta tripsa na otvorenom prostoru. Biljni lekar, 4: 395-399, 2005.
- Anonymus:** Plant Protection Compendium, CAB International, Wallingford, UK, 2002.
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. and Zurcher, E.J. (eds.):** *Tomato spotted wilt virus*. Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20th August 1996. <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vidе/descr837>, 1996.
- Chatzivassiliou, E.K., Weekes, R., Morris, J., Wood, K.R., Barker, I. and Katis, N.I.:** *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in Greece: its incidence following the expansion of *Frankliniella occidentalis*, and characterisation of isolates collected from various hosts. Ann. Appl. Biol., 137: 127-134, 2000.
- Cho, J.J., Custer, D.M., Brommonschenkel, S.H. and Tanksley, S.D.:** Conventional breeding: Host-plant resistance and the use of molecular markers to develop resistance to the Tomato spotted wilt virus. Acta Horticulturae, 431: 367-378, 1996.
- Cho, J.J., Mau, R.L., Hamaski, R. and Gonsalves, D.:** Detection of Tomato spotted wilt virus in individual thrips by enzyme-linked immunosorbent assay. Phytopathology, 78: 1348-1352, 1988.
- Csinos, A.S., Pappu, H.R., Mc Pherson, R.M. and Stephenson, M.G.:** Management of Tomato spotted wilt virus in flue-cured tobacco with acibenzolar-S-methyl and imidacloprid. Plant Dis., 85: 292-296, 2001.
- Daughtrey, M.L., Jones, R.K., Moyer, J.W. and Daub, M.E.:** Tospoviruses strike the greenhouse industry—INSV has become a major pathogen on flower crops. Plant Dis., 81: 1220-1230, 1997.
- de Avila, A.C., Huguenot, C., Resende, R. de O., Kitajima, E.W., Goldbach, R.W. and Peters, D.:** Serological differentiation of 20 isolates of Tomato spotted wilt virus. J. Gen. Virol., 71: 2801-2807, 1990.
- de Avila, A.C., de Haan, P., Kormelink, R., Resende, R. de O., Goldbach, R.W. and Peters, D.:** Classification of Tospoviruses based on phylogeny of nucleoprotein. J. Gen. Virol., 74: 153-159, 1993.
- de Haan, P., Ultzen, T., Prins, M., Gielen, J., Goldbach, R. and Grinsven, M.:** Transgenic tomato hybrids resistant to Tomato spotted wilt virus infection. Acta Horticulturae, 431: 417-426, 1996.
- Dukić, N., Bulajić, A., Berenji, J., Đekić, I., Duduk, B. i Krstić, B.:** Prisustvo i rasprostranjenost virusa duvana u Srbiji. Pesticidi i fitomedicina, 21: 205-214, 2006.
- Dukić, N., Finetti Sialer, M.M., Gallitelli, D., Krstić, B., Vico, I. i Duduk, B.:** Molekularna identifikacija virusa bronzavosti paradajza na paprici. Zbornik rezimea XII simpozijuma o zaštiti bilja i savetovanja o primeni pesticida, Zlatibor, 2002, str. 72.
- Đekić, I., Bulajić, A., Berenji, J. i Krstić, B.:** Neravnomerna distribucija *Tomato spotted wilt virus* u duvanu, paradajzu i paprici. Zbornik rezimea XIII simpozijuma sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, 2007a, str. 117-118.
- Đekić, I., Bulajić, A., Zindović, J., Berenji, J., Pauković, M. i Krstić, B.:** Identifikacija sojeva virusa crtičastog mozaika krompira na duvanu. Pesticidi i fitomedicina, 22: 155-163, 2007b.
- Đekić, I., Dukić, N., Bulajić, A., Berenji, J., Duduk, B., Antonijević, D. i Krstić, B.:** Karakterizacija virusa bronzavosti paradajza i nivo otpornosti nekih genotipova duvana u Srbiji. Zbornik rezimea VIII savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, 2006, str. 69-70.
- EPPO/CABI:** *Frankliniella occidentalis*. In: Quarantine Pests for Europe (I.M. Smith, D.G. McNamara, P.R. Scott and K.M. Harris, eds.), CAB International, Wallingford, UK, 1992.
- Gera, A., Kritzman, J., Cohen, J., Raccab, B. and Antignus, Y.:** Tospoviruses infecting vegetable crops in Israel. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 30: 289-292, 2000.
- Goldbach, R. and Kuo, G.:** Biodiversity and taxonomy of tospoviruses. Proceedings of the International Symposium on Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops, Taiwan – Acta Horticulturae, 431: 21-26, 1996.
- Goldbach, R. and Peters, D.:** Possible causes of the emergence of Tospovirus disease. Seminars in Virology, 5: 113-120, 1994.
- Golnaraghi, A.R., Shabrean, N., Pourrahim, R., Ghorbani, S. and Farzadfar, S.:** First report of *Tomato spotted wilt virus* in Iran. Plant Dis., 85: 1290, 2001.
- Groves, R.L., Sorenson, C.E., Walgenbach, J.F. and Kennedy, G.G.:** Effects of imidacloprid on transmission of Tomato spotted wilt tospovirus to pepper, tomato, and tobacco by *Frankliniella fusca* Hinds (Thysanoptera: Thripidae). Crop Protection, 20: 439-445, 2001.
- Hausbeck, M.K., Welliver, R.A., Derr, M.A. and Gildow, F.E.:** Tomato spotted wilt virus survey among greenhouse ornamentals in Pennsylvania. Plant Dis., 76: 795-800, 1992.
- Hsu, H.T. and Lawson, R.H.:** Direct tissue blotting for detection of Tomato spotted wilt in Impatiens. Plant Dis., 75: 292-295, 1991.
- Huguenot, C., van den Dobbelsteen, G., de Haan, P., Wagemakers, C.A.M., Drost, G.A., Osterhaus, A.D.M.E. and Peters, D.:** Detection of Tomato spotted wilt virus using

monoclonal antibodies and riboprobes. Arch. Virol., 110: 47-62, 1990.

Injac, M., Bursać, P., Andus, Lj. i Radosavljević, S.: Pitali ste. Chemical Agrosava, Novi Beograd, 2005.

Jones, D.R.: Plant viruses transmitted by thrips. Eur. J. Plant Pathol., 113: 119-157, 2005.

Jorda, C., Ortega, A. and Juarez, M.: New hosts of Tomato spotted wilt virus. Plant Dis., 79: 538, 1995.

Krstić, B. i Bulajić, A.: Karantinski virusi povrća i ukraških biljaka u zaštićenom prostoru. Poljoprivredni fakultet, Beograd, i Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede RS, Beograd, 2007.

Krstić, B., Bulajić, A. and Dukić, N.: Occurrence of *Tomato spotted wilt virus* and *Impatiens necrotic spot virus* in Serbia. Proceeding of Articles XXXth Meeting for Plant Protection in Republica Macedonia and Ist Congress of Plant Protection „Environmental Concern and Food Safety”, Ohrid, Macedonia, 2005a, pp. 85-88.

Krstić, B., Bulajić, A., Dukić, N. i Duduk, B.: Virus bronzavosti paradajza i virus nekrotične pegavosti *Impatiensa*. Zbornik predavanja Seminara pejzažne hortikulture, Banja Vrujci, 2006a, str. 63-75.

Krstić, B., Bulajić, A., Dukić, N. i Duduk, B.: Prisustvo fitopatogenih virusa u pošiljkama cveća iz uvoza i u domaćoj proizvodnji. Zbornik predavanja Seminara pejzažne hortikulture, Banja Vrujci, 2006b, str. 57-62.

Krstić, B., Bulajić, A., Dukić, N., Duduk, B. i Berenji, J.: Integralna zaštita duvana od virusa bronzavosti paradajza. Bilten za hmelj, sirak i lekovito bilje, 79: 49-60, 2006c.

Krstić, B., Bulajić, A. and Đekić, I.: The Tospoviruses in greenhouse tomato and ornamental crops in Serbia. Abstracts book 5th Balkan Congress for Microbiology, Budva, Montenegro, 2007a, p. 133 (P4.21).

Krstić, B., Bulajić, A. i Đekić, I.: Ekonomski značajni i karantinski virusi paradajza u Srbiji. Zbornik rezimea IV simpozijuma o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, Teslić, BiH, 2007b, str. 13.

Krstić, B., Dukić, N., Vico, I., Bulajić, A. i Berenji, J.: Principi kontrole virusa bronzavosti paradajza. Zbornik sažetaka Naučno-stručnog savjetovanja agronoma Republike Srpske „Poljoprivreda RS kao sastavni dio evropskih integracionih procesa”, Jahorina, BiH, 2005b, str. 45.

Krstić, B., Vico, I., Berenji, J., Dukić, N. i Bulajić, A.: Opšti principi kontrole virusnih oboljenja duvana sa posebnim osvrtom na virus mozaika duvana. Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 42: 401-412, 2006d.

Kucharek, T., Brown, L., Johnson, F. and Funderburk, J.: Tomato spotted wilt virus of agronomic, vegetable, and ornamental crops. Plant Pathology Fact Sheet. Florida

Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Science, University of Florida. <http://plantpath.ifos.ufl.edu/takextpub/Fact Sheet/circ0914.pdf>, 2000.

Love, P.G.: Tomato spotted wilt virus in tobacco. www.ces.ncsu.edu/robenson/agriculture/tospotwiltvirus.pdf, 2005.

Mandal, B., Pappu, H.R., Csinos, A.S. and Culbreath, A.K.: Response of peanut, pepper, tobacco, and tomato cultivars to two biologically distinct isolates of Tomato spotted wilt virus. Plant Dis., 90: 1150-1155, 2006.

Mason, G., Roggero, P. and Tavella, L.: Detection of *Tomato spotted wilt virus* in its vector *Frankliniella occidentalis* by reverse transcription-polymerase chain reaction. J. Virol. Met., 109: 69-73, 2003.

Matthews, R.E.F.: Classification and nomenclature of viruses. 3rd report of the International Committee on Taxonomy on Viruses. Intervirology, 12: 131-296, 1979.

Mickovski, J.: Tomato spotted wilt virus na duvanu u Jugoslaviji (*Lycopersicum virus 3-Smith*). Zaštita bilja, 105: 203-214, 1969.

Mijatović, M., Obradović, A., Ivanović, M. i Stevanović, D.: Rasprostranjenost i intenzitet pojave nekih virusa parazita paprike u Srbiji. Zaštita bilja, 228: 151-159, 1999.

Mumford, R.A., Barker, I. and Wood, K.R.: The detection of tomato spotted wilt virus using the polymerase chain reaction. J. Virol. Met., 46: 303-311, 1994.

Mumford, R.A., Barker, I. and Wood, K.R.: The biology of Tospoviruses. Ann. Appl. Biol., 128: 159-183, 1996a.

Mumford, R.A., Barker, I. and Wood, K.R.: An improved method for the detection of Tospoviruses using the polymerase chain reaction. J. Virol. Met., 57: 109-115, 1996b.

Nischwitz, C., Mullis, S.W., Gitaitis, R.D. and Csinos, A.S.: First report of *Tomato spotted wilt virus* in soybean (*Glycine max*) in Georgia. Plant Dis., 90: 524, 2006.

OEPP/EPPO: Data sheets on quarantine pests. *Tomato spotted wilt virus*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 29: 465-472, 1999.

OEPP/EPPO: Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/34. *Tomato spotted wilt virus*, *Impatiens necrotic spot virus* and *Watermelon silver mottle tospovirus*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 34: 271-279, 2004.

O'Malley, P.J. and Hartmann, R.W.: Resistance to Tomato spotted wilt virus in lettuce. Hort. Science, 24: 360-362, 1989.

Pappu, S.S., Bhat, A.I., Pappu, H.R., Deom, C.M. and Culbreath, A.K.: Phylogenetic studies of tospoviruses (Family: *Bunyaviridae*) based on the intergenic region sequences of small and medium genomic RNAs. Arch. Virol., 145: 1035-1045, 2000.

- Parrella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassie, K., Voulas C. and Marchoux, G.:** An update of the host range of *Tomato spotted wilt virus*. J. Plant Pathol., 85: 227-264, 2003.
- Petković, N., Jeremić, S., Simić, A., Tomić, Đ., Đekić, I., Bulajić, A. i Krstić, B.:** *Tomato spotted wilt virus* prouzročivač sistemične zaraze *Petunia x hybrida*. Zbornik rezimea XIII simpozijuma sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, 2007, str. 131-132.
- Prins, M. and Kormelink, R.:** Transmission and epidemiology. http://www.dpw.wau.nl/viro/research/t_1_5.html, 2004.
- Reddy, D.V.R. and Wightman, J.A.:** Tomato spotted wilt virus: Thrips transmission and control. Adv. Dis. Vector Res., 5: 203-220, 1988.
- Resende, R. de O., de Avila, A.C., Goldbach, R.W. and Peters, D.:** Comparison of polyclonal antisera in the detection of Tomato spotted wilt virus using the double antibody sandwich and cocktail ELISA. J. Phytopathol., 132: 46-56, 1991.
- Roberts, C.A., Dietzgen, R.G., Heelen, L.A. and Maclean, D.:** Real-time RT-PCR fluorescent detection of Tomato spotted wilt virus. J. Virol. Met., 88: 1-8, 2000.
- Robb, K., Casey, C., Whitfield, A., Campbell, L. and Ullman, D.:** A new weapon to fight INSV and TSWV. Growers talk (February): 64-73, 1998.
- Rodoni, B. and Henderson, A.:** *Tomato spotted wilt virus* in potatoes. Agricultural Notes. State of Victoria, Department of Primary Industries. www.dpi.vic.gov.au, 2004.
- Qiu, W.P., Geske, S.M., Hickey, C.M. and Moyer, J.W.:** Tomato spotted wilt *Tospovirus* genome reassortment and genome segment-specific adaptation. Virology, 244: 186-194, 1998.
- Sakimura, K.:** *Frankliniella fusca*, an additional vector of Tomato spotted wilt virus, with notes on *Thrips tabaci*, another vector. Phytopathology, 53: 412-415, 1963.
- Samuel, G., Bald, J.G. and Pittman, H.A.:** Investigations on „spotted wilt” of tomatoes. Australian Council of Science and Industrial Research Bulletin, 44: 64, 1930.
- Scott, A.:** Tomato spotted wilt virus-positive steps towards negative success. Mol. Plant Pathol., 1: 151-157, 2000.
- Sherman, J.M., Moyer, J.W. and Daub, M.E.:** Tomato spotted wilt virus resistance in chrysanthemum expressing the viral nucleocapsid gene. Plant Dis., 82: 407-414, 1998.
- Sherwood, J.L., Sanborn, M.R., Keyser, G.C. and Myers, L.D.:** Use of monoclonal antibodies in detection of Tomato spotted wilt virus in greenhouse crops in Oklahoma. Phytopathology, 79: 61-64, 1989.
- Silva, M.S., Martins, C.R.F., Bezerra, I.C.M., Nagata, I., de Avila, A.C. and Resende, R. de O.:** Sequence diversity of NSm movement protein of Tospoviruses. Arch. Virol., 146: 1267-1281, 2001.
- Šimić, A., Jeremić, S., Tomić, Đ., Petković, N., Đekić, I., Bulajić, A. i Krstić, B.:** *Tomato spotted wilt virus* na *Dablia* vrstama u Srbiji. Zbornik rezimea XIII simpozijuma sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, 2007, str. 133-134.
- Službeni glasnik RS:** Pravilnik o utvrđivanju lista karantinskih štetnih organizama, 14: 2008-09.
- Soellick, T.R., Ubrig, J.F., Bucher, G.L., Kellmann, J.W. and Schreier, P.H.:** The movement protein NSm of Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV): RNA binding, interaction with the TSWV N protein, and identification of interacting plant proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97: 2373-2378, 2000.
- Spasić, R., Krstić, B., Ivanović, M. i Glavendekić, M.:** Problemi i specifičnosti zaštite biljaka u zaštićenom prostoru. Zbornik rezimea XIII simpozijuma sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, 2007, str. 30-32.
- Tomić, Đ., Jeremić, S., Simić, A., Petković, N., Đekić, I., Bulajić, A. i Krstić, B.:** Status viroza paprike u Srbiji. Zbornik rezimea XIII simpozijuma sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, 2007, str. 114-115.
- Vaira, A.M., Semeria, L., Crespi, S., Lisa, V., Allavena, A. and Accotto, G.P.:** Resistance to tospoviruses in *Nicotiana benthamiana* transformed with the N gene of Tomato spotted wilt virus: correlation between transgene expression and protection in primary transformants. Mol. Plant-Microbe Interact., 8: 66-73, 1995.
- Webb, S.E., Kok-Yokomi, M.L. and Tsai, J.H.:** Evaluation of *Frankliniella bispinosa* as a potential vector of Tomato spotted wilt virus. Phytopathology, 87: 102, 1997.
- Weekes, R., Barker, I. and Wood, K.R.:** An RT-PCR test for the detection of Tomato spotted wilt virus incorporating immunocapture and colorimetric estimation. Journal of Phytopathology, 144: 575-580, 1996a.
- Weekes, R., Mumford, R.A., Barker, I. and Wood, K.R.:** Diagnosis of Tospoviruses by reverse-transcription polymerase chain reaction. Acta Horticulturae, 431: 159-166, 1996b.
- Whitfield, A.E., Campbell, L.R., Sherwood, J.L. and Ullman, D.E.:** Tissue blot immunoassay for detection of *Tomato spotted wilt virus* in *Ranunculus asiaticus* and other ornamentals. Plant Dis., 87: 618-622, 2003.
- Williams-Woodward, J.L.:** 1999 Georgia plant disease loss estimates. Univ. Georgia Crop Ext. Serv. Publ. Path., 99-002. June 1999, 2000.
- Wilson, C.R.:** Resistance to infection and translocation of *Tomato spotted wilt virus* in potatoes. Plant Pathol., 50: 402-410, 2001.

Tomato Spotted Wilt Virus – One of the Most Destructive Plant Viruses

SUMMARY

Tomato spotted wilt virus (TSWV) has one of the largest host ranges among plant viruses and is widespread in all climates. TSWV is responsible for numerous epidemics in many parts of the world in different crops, mainly vegetables, tobacco and ornamentals. Its highly polyphagous nature, effectiveness of virus transmission by the thrips as its vectors, rapidity with which new variants arise, as well as difficulties in controlling the vectors make TSWV one of the most dangerous plant viruses. The ability of this virus to cause such severe losses on a broad range of crops, as well as its intriguing biological and molecular characteristics place TSWV amongst the most extensively studied plant viruses in the world at present. This paper provides a general overview of TSWV, encompassing all the major aspects of its biology and current knowledge on host range, symptomatology, molecular biology, vector relationship, control and diagnosis.

Keywords: *Tomato spotted wilt virus*; Economic impact; Biology; Detection and Identification; Control