

Novi pravci primene otpornosti tikava u kontroli virusnih oboljenja

Aleksandra Bulajić¹, Ana Vučurović¹, Ivana Stanković¹, Danijela Ristić¹,
Janoš Berenji² i Branka Krstić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 11080 Beograd, Nemanjina 6, Srbija
(branka.krstic@agrif.bg.ac.rs)

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

Primljen: 22. septembra 2010.

Prihvaćen: 4. oktobra 2010.

REZIME

Kako je pojava brojnih viroza gajenih biljaka u epidemijskim razmerama sve češća, mogućnosti za uspešnu kontrolu stalno se ispituju. Integralna i istovremena primena brojnih pojedinačnih mera kontrole, naročito u slučaju virusa koji se prenose biljnim vašima na nepersistentan način, mogu da doprinesu smanjenju šteta, ali često nisu dovoljno efikasne. Proučavanja osnova otpornosti i načina nasleđivanja, unošenje izvora otpornosti u osetljive genotipove, konvencionalnim ili genetičkim manipulacijama, vrlo su intenzivna kod vrežastih kultura, posebno tikve. Tikve ugrožava veliki broj raznorodnih virusa od kojih se u Srbiji svake godine javljaju virus žutog mozaika kukuruz (Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV), virus mozaika lubenice (Watermelon mosaic virus, WMV) i virus mozaika krastavca (Cucumber mosaic virus, CMV), a pojedinih godina izazivaju epidemije.

Većina sorti gajenih tikava ne poseduje otpornost ili tolerantnost na virusne zaraze, ali izvori otpornosti identifikovani su u različitim srodnim vrstama. Do sada identifikovani izvori otpornosti na ZYMV nalaze se u genotipovima *Cucurbita moschata* i *Citrullus lanatus* var. *lanatus* i obuhvataju jedan ili nekoliko major gena rezistentnosti koji se nasleđuju dominantno. Slična situacija je i sa WMV, mada su izvori dominantnih major gena identifikovani u *C. lanatus* i *C. colocynthis*. Izvor otpornosti na CMV u vidu jednog dominantnog gena identifikovan je u genotipu *C. moschata*, mada je unošenje ovog gena konvencionalnim putem bilo veoma teško. Pored toga, veliki naponi ulažu se u dobijanje genotipova sa istovremenom otpornošću na više virusa čak i drugih patogena, kao i genotipova koji ispoljavaju otpornost na najznačajnije vrste biljnih vaši, kroz mehanizme antiksenoze ili antibioze.

Drugi pravac dobijanja otpornih genotipova podrazumeva genetičke manipulacije. Genetski modifikovane otporne tikve su među prvima, od svih gajenih biljaka, uspešno razvijene. Genotipovi sa PD (pathogen derived) otpornošću već se nalaze u komercijalnoj proizvodnji tikava u nekim delovima sveta i dobijeni su unošenjem gena za CP (coat protein) jednog, dva ili sva tri u svetu najraširenija virusa, ZYMV, WMV i CMV. Ipak, ovaj prilaz kontroli virusnih oboljenja tikava vezan je za uočene moguće negativne posledice, pre svega kroz već registrovan transfer gena u biljke spontane flore i nastanak otpornih transgenih korova nepredvidljivog ponašanja i značaja u prirodi.

Poboljšana genetička otpornost biljke domaćina bilo na infekciju virusima, bilo na biološke vektore, dobijena konvencionalnim ili metodama genetičkog inženjeringa predstavlja najdinamičnije i najperspektivnije polje istraživanja kao ekonomski i ekološki najopravdaniji pristup kontroli oboljenja tikava i drugih biljaka koje izazivaju virusi koji se neperzistentno prenose biljnim vašima.

Ključne reči: Tikve; biljne vaši; neperzistentno prenošenje; otpornost; kontrola

UVOD

Poslednjih godina, u svetu i u Srbiji, oboljenja većeg broja gajenih biljaka izazvana virusima dostižu epidemijske razmere. U našoj stručnoj javnosti kao i među proizvođačima, mnoge kontroverze i nerazumevanje često se vezuju za kontrolu virusnih oboljenja, koja zahteva svestran pristup i uključuje brojne i raznovrsne mere koje je potrebno istovremeno primeniti. Od tih mera, svaka pojedinačno ne može da reši problem virusnih zaraza, ali integralni pristup i kombinacija više različitih mera može veoma efikasno da otkloni negativne ekonomske efekte u većini useva (Krstić i Bulajić, 2007). Ipak, svi naponi u cilju kontrole virusnih oboljenja mogu biti uveliko olakšani ukoliko genotip gajene biljke poseduje poboljšan nivo otpornosti na prevalentne vrste i sojeve virusa u nekom regionu. Osnovni cilj teksta koji sledi jeste da ukaže na aspekte otpornosti na virusna oboljenja, proučavanje osnove i načina nasleđivanja otpornosti, konvencionalne i genetičke načine razvoja, testiranja i uvođenja u praksu. Kao model usev odabrane su vrežaste kulture iz familije Cucurbitaceae, posebno tikve.

Vrežaste kulture, koje se sve više gaje u našoj zemlji, obuhvataju brojne, vrlo značajne useve, kao što su krastavac, lubenica, dinja i tikve. Pozitivni ekonomski efekti čine gajenje različitih vrežastih useva, naročito formi tikve i bundeve vrlo značajnim (Riedle-Bauer i sar., 2002; Gaba i sar., 2004; Jossey i Babadoost, 2008), naročito za zemlje u razvoju (Berenji, 1999; Kassem i sar., 2007). Površine pod različitim tikvama, zbirne grupe koja podrazumeva više vrsta i formi uključujući običnu tikvu (*Cucurbita pepo*), kao i bundevu (*C. maxima*), muskatnu tikvu (*C. moschata*), smokvolisnu tikvu (*C. ficifolia*) i zimsku tikvu (*C. mixta*), postaju u našoj zemlji sve značajnije (Berenji, 1988, 2000, 2007). U poslednje vreme, naročitu pažnju privlači posebna forma obične tikve – uljana tikva (Berenji 1999, 2007), zbog sve šire primene proizvoda dobijenih iz uljane tikve u ishrani i zbog lekovitog svojstva (Wagner, 2000; Fruhwirth i Hermetter, 2007).

Mada vrežaste kulture mogu biti ugrožene od brojnih prouzrokovaca biljnih bolesti, smatra se da virusi

prouzrokuju ekonomski najznačajnije gubitke (Provvidenti i Schroeder, 1970; Blancard i sar., 1994; Lecoq i sar., 2003; Sevik i Arli-Sokmen, 2003). Do danas je opisano preko 50 vrsta virusa koji mogu da zaraze tikve (Kucharek i Purcifull, 1997), mada ne nanose svi virusi svake godine ekonomski značajne gubitke. Oboljenja tikava izazvana virusima koji se prenose biljnim vašima na neperzistentan način predstavljaju najveći problem u proizvodnji tikava kako širom sveta tako i u našoj zemlji (Provvidenti, 1996; Krstić i sar., 2002a; Vučurović i sar., 2009a). Od 2000. godine, u Srbiji se sprovode detaljna i kontinuirana ispitivanja rasprostranjenosti i učestalosti oboljenja koja virusi izazivaju na svim vrstama tikava. U proizvodnim područjima tikava u svetu nekoliko virusa nanosi ogromne štete. Od njih se u Srbiji javljaju virus žutog mozaika kukuruz (Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV), virus mozaika lubenice (Watermelon mosaic virus, WMV) i virus mozaika krastavca (Cucumber mosaic virus, CMV), dok je tokom višegodišnjih istraživanja stalno testirano i nije ustanovljeno prisustvo virusa mozaika bundeve (Squash mosaic virus, SqMV), virusa prstenaste pegavosti papaje (Papaya ringspot virus, PRSV), virusa prstenaste pegavosti duvana (Tobacco ringspot virus, TRSV) i virusa bronzavosti paradajza (Tomato spotted wilt virus, TSWV) (Krstić i sar., 2002a; Đukić i sar., 2004; Đekić i sar., 2007, 2008; Krstić i sar., 2009; Vučurović, 2008, 2009b). Ekonomski značajan nivo zaraze tikava u Srbiji virusima ZYMV, WMV i CMV, u pojedinačnim i mešanim zarazama, javlja se svake godine, a relativan značaj svakog od navedena tri virusa promenljiv je po godinama i lokalitetima. Ova tri virusa, ZYMV, WMV i CMV, imaju veoma složenu epidemiologiju, što uslovljava i da su aspekti kontrole komplikovani i ograničeni. Složena epidemiologija obuhvata pre svega neperzistentan način prenošenja vašima i brzinu kojom veliki broj biljaka može da bude zaražen, kao i brojnost sojeva virusa, širok krug domaćina među kojima su brojne korovske vrste (Lovisolo, 1980; Riedle-Bauer i sar., 2002; Roossinck, 2002; Svoboda i Polák, 2002), stalno prisutan visok nivo inokuluma u prirodi i mogućnost prenošenja semenom nekih biljnih vrsta (Provvidenti, 1996; Riedle-Bauer i sar., 2002; Tóbiás i sar., 2008).

Kako su na tikvama najznačajniji i najdestruktivniji patogeni upravo virusi koji se prenose vašima na neperezistentan način, a njihova kontrola hemijskim ili brojnim nehemijskim merama često neefikasna, idealan metod kontrole ovih bolesti, naročito u smislu eliminacije ekonomskih gubitaka usled deformacija ploda i smanjenja prinosa, mogla bi da bude poboljšana otpornost genotipova tikava. Upravo zbog toga, mnogo napore usmereno je ka iznalaženju izvora otpornosti naročito unutar roda *Cucurbita*. Brojna istraživanja bavi la su se iznalaženjem izvora rezistentnosti i ukazala da je to najefikasniji način kontrole virusnih oboljenja tikava i danas postoji više definisanih gena koji kontrolišu otpornost i koji su na raspolaganju selekcionarima. Razvijene su i strategije koje uključuju genetički inženjering kao što je na primer dobijanje transgene zaštite koja se postiže unošenjem gena za proteinski omotač virusa u genom biljke domaćina (Provvidenti, 1996). Rezistentni ili tolerantni varijeteti tikava mogli bi da osiguraju najefikasniju kontrolu virusa koji se šire pomoću vaši kao vektora (Clough i Hamm, 1995; Tricoli i sar., 1995; Webb, 2007). Danas postoji više takvih genotipova koji su komercijalno dostupni uključujući i genetički modifikovane sa CP genom iz jednog ili više iz različitih virusa (Fuchs i Gonsalves, 1995; Tricoli i sar., 1995; Zitter, 2002).

Otporne sorte u funkciji kontrole

Vrste iz porodice tikava, generalno govoreći, veoma se razlikuju po osetljivosti na mnoge bolesti, uključujući i viruse. Pojava, nivo šteta i ekonomski značaj, kao i kontrola mogu značajno biti promenjeni izborom genotipa tikava koje se gaje. Mnogi varijeteti krastavca rezistentni su na CMV i uglavnom retko ugroženi i ostalim virusima koji inače zaražavaju srodne biljke. *Cucumis melo* je obično ugrožena virusom mozaika bundeve (SqMV) koji potiče iz zaraženog semena, i virusima mozaika krastavca i mozaika lubenice (CMV i WMV). *Cucurbita moschata* i *C. maxima* obično na virusne infekcije reaguju blaže, u vidu simptoma na listovima. Ubedljivo najosetljivija gajena biljka iz ove familije je *Cucurbita pepo* i svi varijeteti mogu biti značajno ugroženi virusnim zarazama (Zitter i sar., 2004).

Kako većina sorti gajenih *Cucurbita* spp. ne poseduje otpornost ili tolerantnost na virusne zaraze, zbirno posmatrano, izvori otpornosti identifikovani su u *C. ecuadorensis* i *C. foetidissima*. U komercijalnim gajenim genotipovima *C. pepo*, *C. moschata* i *C. maxima* uglavnom nije ustanovljeno postojanje povišene otpornosti na

viruse (Maluf i sar., 1997). Poboljšanje genetičke osnove otpornosti u gajenim genotipovima uljanih i ostalih tikava i biljaka iz familije Cucurbitaceae uopšte, vezano je sa nizom problema uključujući nekoliko aspekata od kojih su najznačajniji: (i) tikve ugrožava veliki broj različitih virusa, a izvori otpornosti identifikovani u pojednim vrstama ili genotipovima uglavnom imaju potpuno različitu genetičku osnovu; (ii) prilikom intraspecijskog ili interspecijskog ukrštanja tikava često se javljaju barijere inkompatibilnosti ili drugi negativni efekti; (iii) virusi koji zaražavaju tikve brojni su i veoma varijabilni ugrožavajući dugotrajnost otpornosti u konvencionalno ili biotehnologijom poboljšanim genotipovima; (iv) dobijanje i uvođenje u proizvodnju genotipova dobijenih genetičkim inženjeringom vezano je za brojne nedoumice u pogledu njihove ekološke bezbednosti i (v) teškoće vezane za postojanje potrebe da se razviju genotipovi određenih vrsta tikava koji su istovremeno rezistentni na veći broj virusa ili njihovih vektora.

Osnove otpornosti tikava na ZYMV

Različiti gajeni genotipovi *C. pepo* uglavnom ne poseduju rezistentnost na ZYMV, kao ni drugim značajnijim virusima tikava (Provvidenti i sar., 1984). Osnove rezistentnosti identifikovane su u nekoliko drugih vrsta *Cucurbita* sp., kao što su neki genotipovi *C. moschata*, ali je prenošenje odgovarajućih gena često bilo vezano sa velikim teškoćama, tako da je za dobijanje prvih komercijalnih genotipova bilo potrebno skoro 20 godina (Brown i sar., 2003). Kako su različiti autori proučavali način nasleđivanja rezistentnosti na ZYMV u različitim genotipovima različitih vrsta tikava, izgleda da je kontrolisana na različite načine, kao i da su načini nasleđivanja različiti. Po rezultatima Zraidi i sar. (2007), unošenje genetičkog materijala iz *C. moschata* u *C. pepo* bilo je bez negativnih posledica, a ogledi načina nasleđivanja ukazali su da je genetička osnova otpornosti na ZYMV uključivala tri nezavisna komplementarna gena koji kontrolišu introdukovanu otpornost *C. pepo* na ZYMV. U genotipu *C. moschata* poreklom iz Nigerije otpornost na ZYMV kontrolisana je jednim dominantnim genom koji je preliminarno označen kao *Zym* gen (Brown i sar., 2003). U slučaju ukrštanja genotipa cukinija, *C. pepo* grupe Courgette i *C. moschata* u cilju poboljšanja otpornosti na ZYMV, usvojena rezistentnost bila je kontrolisana oligogenski i to najmanje pomoću tri dominantna gena, *Zym-1*, *Zym-2* i *Zym-3*. Da bi hibrid ispoljio otpornost, neophodno je prisustvo bar dva gena, i to obavezno *Zym-1* i jednog od preostala dva, *Zym-2* ili *Zym-3* (Paris i Cohen, 2000).

Genetička osnova otpornosti u drugim srodnim biljkama uglavnom je različita. Otpornost na ZYMV razvijena je prema određenim sojevima, prevalentnim u pojedinim delovima sveta, kao što su ZYMV-FL (prevalentan u Floridi), ZYMV-CH (prevalentan u Kini). Otpornost na ZYMV-FL kontrolisana je jednim recesivnim genom koji se često obeležava kao *zym* gen, dok je predložena oznaka gena koji kontroliše otpornost na ZYMV-CH *zym-CH* (Guner i Wehner, 2008). Xu i sar. (2004), analizirajući načine nasleđivanja visoke rezistentosti na ZYMV u genotipu *Citrullus lanatus* var. *lanatus* dokazuju da je određena jednim recesivnim genom za koji predlažu oznaku *zym-CH* jer je ispoljena prema soju CH, prevalentnom u Kini.

Biohemijska osnova mehanizma ispoljavanja otpornosti jednog genotipa *C. pepo* ukazala je na glutatation (γ -glutamyl-cystenyl-glycine) koji kao antioksidans igra značajnu zaštitnu ulogu tokom zaraze ZYMV-om. Razlike u koncentraciji glutatona u različitim genotipovima tikve ukazuju na jaku korelaciju i ulogu ovog jedinjenja u tolerantnom odgovoru otpornih genotipova (Zechmann i Muller, 2008). Koncentracija i nagomilavanje ZYMV u biljnim ćelijama i različitim tkivima, kao i intenzitet simptoma, u biljkama *C. pepo* subsp. *pepo* var. *styriaca*, direktno je zavisio od koncentracije glutatona (Zechmann i sar., 2007).

Uvođenje u proizvodnju rezistentnih hibrida tikvica kukini (*C. pepo*), dobijenih interspecijskim ukrštanjima sa *C. moschata*, pokazalo je da ovi genotipovi vremenom ispoljavaju tolerantnu reakciju. Izolati ZYMV koji su zaražavali rezistentne hibride kukinija ispoljili su povišenu agresivnost što je označeno kao evolutivno prilagođavanje virusa, a identifikovana genetička osnova ukazuje na point mutaciju u P3 proteinu virusa (Desbiez i sar., 2003). Do promena u manifestaciji simptoma mogu dovesti i spoljni hemijski tretmani odgovarajućim jedinjenjima. Tako, tretman salicilnom kiselinom (salicylic acid, SA) dovodi do smanjenja broja zaraženih biljaka, blažeg ispoljavanja oboljenja i smanjene koncentracije ZYMV u osetljivim genotipovima, ukazujući da SA može da indukuje odbrambene mehanizme (Radwan i sar., 2007).

Osnove otpornosti tikava na WMV

Slično situaciji sa ZYMV, komercijalni genotipovi *C. pepo* ne poseduju genetičku osnovu rezistentnosti na WMV, mada je ona identifikovana u drugim srodnim vrstama kao što je *C. moschata* (Brown i sar., 2003).

Na osnovu proučavanja genetičke osnove, načina nasleđivanja i donekle ekspresije otpornosti na WMV, ustanovljeno je da je monogenska, dominantna i potpuno vezana za otpornost na ZYMV (Gilbert-Albertini i sar., 1993). Do sličnih rezultata došli su i Brown i sar. (2003) predloživši da gen koji kontroliše rezistentnost na WMV nosi oznaku *Wmv*.

Otpornost na WMV registrovana je 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. Nekoliko genotipova *C. colocynthis* ispoljilo je otpornost na WMV kako u stakleniku, tako i u polju. Kako je interspecijsko ukrštanje *C. colocynthis* sa *C. lanatus* moguće, ova vrsta može da predstavlja koristan izvor otpornosti. Međutim, otežavajuće je što nije komercijalno upotrebljiva zato što ima gorak mezokarp ploda, a ta osobina se veoma često prenosi prilikom ukrštanja. Upravo zbog toga, potrebno je uložiti još dosta napora u selekciji da bi se ovi problemi prevazišli (Guner i Wehner, 2008). U genotipu *Citrullus lanatus* var. *lanatus* ustanovljeno je prisustvo srednje rezistentnosti na WMV koja se manifestovala kao tolerantnost i, prema ogleđima nasleđivanja, bila kontrolisana pomoću najmanje dva recesivna gena (Xu i sar., 2004).

Osnove otpornosti tikava na CMV

Izvori otpornosti na CMV identifikovani su u genotipu *C. moschata* poreklom iz Nigerije, koji su kontrolisani jednim dominantnim genom za koji je predložena oznaka *Cmv*. Ovaj genotip se smatra izuzetno perspektivnim, jer u isto vreme poseduje genetičku osnovu rezistentnosti na ZYMV, WMV i PRSV tako da se smatra da ima velike perspektive u daljoj selekciji komercijalnih genotipova tikve (Brown i sar., 2003).

Prilikom introdukcije rezistentnosti na CMV u tikvu sorte Cinderellam ustanovljeno je da je najverovatnije kontrolisana pomoću dva nezavisna recesivna gena. Introdukcija gena za rezistentnost bila je povezana sa značajnim teškoćama i interakcijama gena, verovatno sa genima koji kontrolišu vigor, robustnost biljaka, tako da je mali broj jedinki hibrida normalno završavao razviće. Ipak, u više slučajeva, rezistentnost je uspešno introdukovana odgovarajućim brojem povratnih ukrštanja (Pink, 1987).

Slično indukovanoj otpornosti *C. pepo* na ZYMV (Radwan i sar., 2007), tretman salicilnom kiselinom dovodi do smanjene akumulacije CMV u direktno inokulisanim listovima *C. pepo*, najverovatnije kroz mehanizam ometanja kretanja virusa između ćelija (cell-to-cell movement) (Mayers i sar., 2005)

Otpornost na ostale viruse

Brojni istraživači bavili su se istraživanjima nivoa otpornosti u različitim vrežastim kulturama, načinima nasleđivanja i dobijanjem otpornih genotipova na druge viruse tikve, i to na: *Papaya ringspot virus-watermelon strain*, PRSV-W (Maluf i sar., 1997; Grumet i sar., 2000; Strange i sar., 2002; Brown i sar., 2003; de Oliveira i sar., 2003); *Melon necrotic spot virus*, MNSV (Mallor i sar., 2006); *Cucurbit yellow stunting disorder virus*, CYSDV (Marco i sar., 2003; Aguilar i sar., 2006; Eid i sar., 2006; McCreight i Wintermantel, 2008; de Ruiter i sar., 2008); *Cucurbit aphid-borne yellows virus*, CABYV (Dogimont i sar., 1996; Dogimont i sar., 1997; Kassem i sar., 2007); *Moroccan watermelon mosaic virus*, MWMV (Kabelka i Grumet, 1997), *Watermelon chlorotic stunt virus*, WCSV (Kheyr-Pour i sar., 2000; Yousif i sar., 2007) i *Zucchini lethal chlorosis virus*, ZLCV (Giampan i sar., 2007). Eksperimentalno su dobijeni genetski modifikovani konstrukti sa genima replikaze *Cucumber fruit mottle mosaic virus* (CFMMV), *Cucumber vein yellow virus* (CVYV) i CYSDV (Leibman i sar., 2008).

Otpornost na veći broj patogena

U pojedinim genotipovima tikava identifikovano je istovremeno prisustvo više izvora otpornosti na dva ili više virusa ili prouzrokovala drugih bolesti. Tako su Anagnostou i sar. (2000) ispitivali specifičan genotip *Cucumis melo* i identifikovali prisustvo i odredili način nasleđivanja dva pojedinačna dominantna gena *Zym* i *Wmv*, kao i dva recisivna gena za otpornost na PRSV i najvažniji prouzrokovalac pepelnice *Sphaerotheca fuliginea* rasa I. Mada ovaj genotip dinje u poljskim uslovima nije ispoljavao rezistentnost, otpornost se manifestovala kroz tolerantnost, odnosno maskiranjem simptoma. Nakon inokulacije ovog genotipa pojedinačnim ili mešanim inokulumom navedenih prouzrokovala, 14-21 dan od infekcije dolazilo je do razvoja blagih, lokalizovanih simptoma, ali su se biljke potom oporavljale i nastavljale dalji rast bez ispoljavanja simptoma.

Otpornost na vaši

Biljke mogu posredno ispoljavati otpornost na zarazu sa više vrsta virusa kroz otpornost na vektore koji ih prenose. Iako rezistentnost na jednu ili nekoliko važnih vrsta vaši može da ne bude presudna za prenošenje neperzistentnih virusa, jer i vaši koje ne koloniziraju biljke mogu biti efikasni vektori, ova rezistentnost ipak može

da bude važan element integralnih mera kontrole (Katis i sar., 2007). Najviše rezultata potiče iz ispitivanja otpornosti genotipova tikava na biljne vaši, koja se može manifestovati kroz dva osnovna mehanizma, antiksenozu (negativan uticaj na ponašanje adulta) i antibiozu (inhibicija razvoja larvi) (van Emden, 2007). Rezi- stentnost na *Aphis gossypii* prisutna je u određenim genotipovima dinje (Pitrat i Lecoq, 1980; Kishaba i sar., 1992) i *C. pepo* (Lecoq i sar., 1980).

Kako je *A. gossypii* efikasan vektor značajnih virusa tikava kao što su WMV, ZYMV i PRSV, Chen i sar. (1997) proučavali su nivo zaraze, ponašanje vaši i doneli zaključke o ekspresiji *Vat* gena koji kontroliše antiksenotičan tip rezistentnosti u određenom genotipu lubenice. Iako ovaj genotip ne ispoljava otpornost na ove viruse, već samo na vaš, nivo zaraze neperzistentnim virusima bio je u direktnoj vezi sa ispoljenim nivoom rezistentnosti. Osnovna razlika u ponašanju vaši po dospeću na rezistentan genotip ogledala se u čestim prekidi- ma u hranjenju, tako da su vaši imale teškoće da stiletom dospeju do floema, što je čak često bilo bezuspešno. Vektorska efikasnost *A. gossypii* u prenošenju WMV potpuno je različita i bila je smanjena 31-74% u poređ- nju sa prenošenjem na osetljive genotipove. Pored toga, za ostvarenje infekcije na osetljivom genotipu dovoljno je u proseku 20 jedinki vaši, dok je u istim uslovima za ostvarenje zaraze tri rezistentne linije bilo potrebno 60-400 jedinki (Kishaba i sar., 1992).

Iako su u proučavanjima rezistentnosti na vaši, kao elementa koji doprinosi uspešnoj kontroli virusa vrež- astih kultura, zabeleženi značajni eksperimentalni rezul- tati, još uvek nema praktične primene. Genotipovi ti- kve rezistentni na *A. gossypii* nisu zaštićeni od zaraze neperzistentnim virusima, jer oni mogu biti introdu- kovani u usev pomoću neke druge vektorske vrste va- ši (Webb, 2007).

Kontrola virusa tikava kroz genetske modifikacije biljaka

U poslednje vreme, u mnogim delovima sveta, naročito u SAD, razvijeni su prilazi u dobijanju genoti- pova koji svoju otpornost zasnivaju na rezistentnosti koja potiče od patogena (pathogen-derived resistance, PDR) (Sanford i Johnston, 1985). Odabrani geni viru- sa (u funkcionalnoj ili nefunkcionalnoj formi) mogu da budu inkorporirani u genom biljke i tako se PDR isko- rišćava za dobijanje genetski modifikovanih biljaka ot- pornih na željene viruse. Genotipovi *C. pepo* predstav- ljaju prve genetski modifikovane biljke koje su se po- javile slobodno na tržištu u komercijalnoj proizvodnji

(Gaba i sar., 2004). Fuchs i sar. (1998) testirali su otpornost u polju konstrukata tikava u koje su uneti jedan, dva ili sva tri CP gena poreklom iz CMV, ZYMV, odnosno WMV. Najotpornijim genotipovima pokazali su se oni u koje su inkorporirana sva tri CP gena. Najniži nivo otpornosti na mešanu infekciju sa sva tri virusa u uslovima prirodne zaraze ispoljili su konstrukti sa po jednim CP genom, mada su u proseku bili zaraženi 2-4 nedelje kasnije u poređenju sa biljkama u kontroli, tako da je i nivo oštećenja bio manji, a time ostvaren viši prinos i bolji ekonomski efekat.

Prilikom razvijanja i gajenja genetski modifikovanih useva važno je prethodno ustanoviti genetičku strukturu populacije i odrediti variranja genetičke homologije gena koji se unosi u transgen u biljku. Tripathi i sar. (2008) pokazali su da je ispoljavanje otpornosti genetski modifikovanih useva povezano sa nukleotidnom homologijom CP gena prevalentnog virusnog izolata PRSV i transgenog CP gena. Inokulacije transformisanog genotipa papaje CP genom PRSV dovele su do pojave simptoma posle inokulacija izolatima istog virusa poreklom iz drugih delova sveta sa nižom homologijom sekvenci koja se kretala 89-93%. Očekivana poljska dugotrajnost transgene otpornosti tikava na ZYMV trebalo bi da bude zadovoljavajuća zbog izražene homologije populacije ovog virusa na molekularnom nivou u jednom lokalitetu. Lecoq i sar. (2009) navode da je, iako je zabeležena varijabilnost ZYMV u regionu CP gena između izolata iz različitih delova sveta, varijabilnost izolata u istom polju zanemarljiva i vrlo je retko dokazano prisustvo više od jednog haplotipa. Ukoliko je prisustvo drugog haplotipa otkriveno, bili su izuzetno slični i detektovane su najviše dve nukleotidne razlike. Struktura populacije WMV, sa druge strane u pojedinim delovima sveta značajno se menja poslednjih godina, što može da ima velike posledice po kontrolu primenom genetski modifikovanih genotipova tikava. U Francuskoj je 1999. godine primećena pojava i naglo širenje novog, značajno patogenijeg soja WMV (Desbiez i sar., 2009), a efikasnost ispoljavanja rezistentnosti ranije genetski modifikovanih useva tikve na ovaj novi soj još uvek nije procenjena.

Određeni genotipovi i sorte tikava koje su genetski modifikovane i sadrže CP gene ZYMV, WMV i CMV već su uvedene u komercijalnu proizvodnju u pojedinim delovima sveta i ispitivan je ekološki uticaj na okolinu (Fuchs i sar., 2004a). Dva su osnovna aspekta koja zabrinjavaju stručnu javnost u pogledu gajenja genetski modifikovanih useva i svode se na mogućnost da bi, sa jedne strane, heterologom enkapsidacijom i rekombinacijama mogli da nastanu novi i promenjeni genotipovi

virusa sa drugačijim krugom domaćina, povećane patogenosti ili sa izmenjenom vektorskom specifičnošću. Sa druge strane, putem protoka gena (gene flow) postoji mogućnost da se divlje biljne vrste genetski transformišu u opasne korove koje bi bilo teško kontrolisati, jer bi ispoljavali evolutivnu prednost u poređenju sa divljim formama izraženu kroz otpornost na određene viruse. Protok gena ustanovljen je u prirodi kod biljaka *C. texana* koje su usvojile CP gene na sva tri virusa iz genetski modifikovanih gajenih tikava. U eksperimentalnim uslovima visokog inokulacionog pritiska i epidemijske pojave oboljenja, genetski modifikovane *C. texana*, ne samo da su bile otporne na zarazu CMV-om, ZYMV-om i WMV-om, već su rasle brže, formirale veći broj potpuno zrelih plodova i više vitalnog semena. Međutim, u trogodišnjim ispitivanjima, u prirodi nije zabeležen visok inokulacioni pritisak, tako da se procenjuje da introdukcija rezistentnosti na viruse kroz zabeležen protok gena ne bi trebalo da dovede do značajnih promena u populaciji divljih tikava, odnosno da rezistentne forme divljih tikava neće imati veliku selekciju prednost (Fuchs i sar., 2004b). Sa druge strane, hibridi *C. pepo* između divljih vrsta i transgenih (sa introdukovanim CP genom virusa ZYMV i WMV) gajenih vrsta u Arkanzasu i Ohaju, proučavani u trogodišnjem periodu, nisu se značajno razlikovali po vitalnosti i nisu ispoljavali uporedne biološke prednosti u odnosu na divlju populaciju, takođe ukazujući na prihvatljivost komercijalnog gajenja transgenih useva (Spencer i Snow, 2001).

Uticaj mešanih zaraza na ispoljavanje otpornosti

Mešane zaraze sa dva ili više virusa mogu u sinergističkom delovanju dovesti do promena u ispoljavanju otpornosti nekog genotipa biljke domaćina. Choi i sar. (2002) ustanovili su da u slučaju mešanih zaraza genotipova *C. pepo* CMV-om soj M i ZYMV-om soj A, dva virusa koji nisu srodni, dolazi do brzog sistemskog širenja i nagomilavanja oba virusa u zaraženim biljkama, odnosno do ispoljavanja jakog sinergizma. Nivo ispoljenog sinergizma ova dva virusa, bar u određenoj meri zavisi je od sposobnosti ZYMV kao *Potyvirus*-a, da neutrališe odbrambene mehanizme genotipa biljke.

U nekim delovima sveta detektovano je prisustvo izolata koji su sposobni da nadvladaju otpornost određenih genotipova tikava (Desbiez i sar., 2003). Upravo zbog toga, u komercijalnoj proizvodnji, veoma je značajno korišćenje što više navedenih elemenata za poboljšanje nivoa otpornosti genotipova uljane i drugih tikava.

U uslovima postojanja više genetičkih modela otpornosti, gajenje otpornih sorti sa različitim genetičkim osnovama rezistentnosti smanjuje mogućnost nastanka novih sojeva virusa koji mogu da slome prisutnu otpornost, čime se stvaraju uslovi za obezbeđenje stabilnije i efikasnije kontrole oboljenja.

ZAKLJUČAK

Ekonomski najveći problem u proizvodnji vrežastih kultura, naročito tikava, predstavljaju oboljenja izazvana virusima koji se prenose biljnim vašima na neperzistentan način i koja je izuzetno komplikovano uspešno kontrolisati. U Srbiji, u usevima tikve, redovno se javljaju u pojedinačnim i mešanim zarazama tri virusa, ZYMV, WMW i CMV, koji imaju relativno sličnu i složenu epidemiologiju, koja upravo zadaje velike teškoće u pokušajima kontrole. Sva tri virusa efikasno se šire vašima na neperzistentan način, mogu da zaraze veliki broj biljaka u usevu za vrlo kratko vreme, imaju veliku brojnost sojeva, širok krug biljaka domaćina među kojima su brojne korovske vrste, u prirodi je stalno prisutan visok nivo inokuluma, značajna je i mogućnost prenošenja semenom nekih biljnih vrsta. Upravo zbog toga, za uspešnu kontrolu preporučuje se istovremeno korišćenje većeg broja mera koje se međusobno dopunjuju i koje su usmerene na smanjenje virusnog inokuluma u prirodi i sprečavanje vektorske uloge vaši.

Bez obzira na velike napore, mere kontrole su ograničene efikasnosti i kao najbolje rešenje za kontrolu neperzistentnih virusa tikava preporučuje se gajenje otpornih sorti. Brojna istraživanja bavila su se iznalaženjem izvora rezistentnosti i danas postoji više definisanih gena koji kontrolišu otpornost na ZYMV, WMW i CMV i na raspolaganju su selekcionarima, uključujući otpornost na jedan ili više virusa ili otpornost na vaši kao vektore. Gajenje otpornih sorti sa različitim genetičkim osnovama rezistentnosti smanjuje mogućnost nastanka novih sojeva virusa koji mogu da slome prisutnu otpornost, čime se obezbeđuje stabilna i efikasna kontrola oboljenja koje ekonomski značajni virusi izazivaju na različitim gajenim vrstama tikve.

Genetski modifikovane tikve, genotipovi sa PD (patogen derived) otpornošću već se nalaze u komercijalnoj proizvodnji u nekim delovima sveta i dobijeni su unošenjem gena za CP (coat protein) jednog, dva ili sva tri u svetu najraširenija virusa, ZYMV, WMW i CMV. Ipak, ovaj prilaz kontroli virusnih oboljenja tikava vezan je za uočene moguće negativne posledice bilo kao mogućnost nastanka novih varijanti virusa (kroz heterologu

enkapsidaciju ili rekombinacije), bilo kao već registrovan transfer gena u biljke spontane flore i nastanak otpornih transgenih korova nepredvidljivog ponašanja i značaja u prirodi.

Iako predstavlja samo jedan od mogućih pristupa strategiji kontrole, poboljšana genetička otpornost biljke domaćina bilo na infekciju virusima, bilo na biološke vektore, dobijena bilo konvencionalnim bilo metodom genetičkog inženjeringa, i danas se smatra jednim od ekonomski najopravdanih pristupa kontroli. Mada razvoj i uvođenje u proizvodnju otpornih genotipova zahteva značajna ulaganja, istraživanja i veći broj godina za realizaciju, ukoliko se pokaže dugotrajnom, ekonomski i ekološki posmatrano predstavlja najpovoljniji način eliminisanja šteta koje virusi prouzrokuju u usevima vrežastih kultura.

ZAHVALNICA

Ovaj rad realizovana je kao deo projekta „Unapređenje sortimenta, tehnologije proizvodnje i primarne obrade uljane tikve-golice i nevena“ (BTR 200089), koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

LITERATURA

- Aguliar, J.M., Abad, J. and Aranda, M.A.*: Resistance to *Cucurbit yellow stunting disorder virus* in Cucumber. *Plant Disease*, 90: 583-586, 2006.
- Anagnostou, K., Jabn, M. and Perl-Treves, R.*: Inheritance and linkage analysis of resistance to zucchini yellow mosaic virus, watermelon mosaic virus, papaya ringspot virus and powdery mildew in melon. *Euphytica*, 116: 265-270, 2000.
- Berenji, J.*: Poznavanje tikava *Cucurbita sp.* Zbornik referata 3. Poljedelski dnevni ABC Pomurka, Murska Sobota, 1988, str. 24-27.
- Berenji, J.*: Tikve – hrana, lek i ukras. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 31: 63-75, 1999.
- Berenji, J.*: Breeding, production, and utilization of oil pumpkin in Yugoslavia. *Cucurbit Genetics Cooperative Report*, 23: 105-109, 2000.
- Berenji, J.*: Hemijska, nutritivna i farmakološka vrednost uljane tikve-golica (*Cucurbita pepo L.*). Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 43: 149-159, 2007.
- Blancard, D., Lecoq, H. and Pitrat, M.*: A Colour Atlas of Cucurbit Diseases: Observation, Identification, and Control. Wiley, New York, 1994.

- Brown, R.N., Bolanos-Herrera, A., Myers, J.R. and Miller Jabn, M.:** Inheritance of resistance to four cucurbit viruses in *Cucurbita moschata*. *Euphytica*, 129: 253-258, 2003.
- Chen, J.Q., Rabbe, Y., Delobel, B., Sauvion, N., Guillaud, J. and Febvay, G.:** Melon resistance to the aphid *Aphis gossypii*: behavioural analysis and chemical correlations with nitrogenous compounds. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85: 33-44, 1997.
- Choi, S.K., Yoon, Y.J., Ryu, H.K., Choi, J.K., Palukaitis, P. and Park, W.M.:** Systemic movement of a movement-deficient strain of *Cucumber mosaic virus* in zucchini squash is facilitated by a cucurbit-infecting potyvirus. *Journal of General Virology*, 83: 3173-3178, 2002.
- Clough, G.H. and Hamm, P.B.:** Coat protein transgenic resistance to watermelon mosaic and zucchini yellows mosaic virus in squash and cantaloupe. *Plant Disease*, 79: 1107-1109, 1995.
- de Oliveira, A.C.B., Maluf, W.R., Pinto, J.E.B.P. and Azevedo, S.M.:** Resistance to papaya ringspot virus in summer squash *Cucurbita pepo* L., introgressed from an interspecific *C. pepo* x *C. moschata* cross. *Euphytica*, 132: 211-215, 2003.
- de Ruiter, W., Holfstede, R., de Vries, J. and van den Heuvel, H.:** Combining QTLs for resistance to CYSDV and powdery mildew in a single cucumber line. Proceedings, IXth EUCARPIA meeting on genetic and breeding of Cucurbitaceae, Avignon, France, 2008, pp. 181-188.
- Desbiez, C., Gal-On, A., Girard, M., Wipf-Scheibel, C. and Lecoq, H.:** Increase in *Zucchini yellow mosaic virus* symptom severity in tolerant zucchini cultivars is related to a point mutation in P3 protein and is associated with a loss of relative fitness on susceptible plants. *Phytopathology*, 93: 1478-1484, 2003.
- Desbiez, C., Joannon, B., Wipf-Scheibel, C., Chandeysson, C. and Lecoq, H.:** Emergence of new strains of Watermelon mosaic virus in South-eastern France: Evidence for limited spread but rapid local population shift. *Virus Research*, 141: 201-208, 2009.
- Dogimont, C., Bussemakers, A., Martin, J., Slama, S., Lecoq, H. and Pitrat, M.:** Two complementary recessive genes conferring resistance to Cucurbit aphid Borne Yellows Luteovirus in an Indian melon line (*Cucumis melo* L.). *Euphytica*, 96: 391-395, 1997.
- Dogimont, C., Slama, S., Martin, J., Lecoq, H. and Pitrat, M.:** Sources of resistance to cucurbit aphid-borne yellows luteovirus in a melon germ plasm collection. *Plant Disease*, 80: 1379-1382, 1996.
- Dukić, N., Berenji, J., Krstić, B., Vico, I. i Bulajić, A.:** Prisustvo i rasprostranjenost viroza obične tikve (*Cucurbita pepo* L.) u Vojvodini. Bilten za hmelj, sirak i lekovito bilje, 76-77: 71-79, 2004.
- Dekić, I., Bulajić, A., Berenji, J. i Krstić, B.:** Epidemijska pojava viroza tikava (*Cucurbita* spp.) u Srbiji. Zbornik rezimea XIII simpozijuma sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, 2007, str. 118-119.
- Dekić, I., Bulajić, A., Jović, J., Krnjajić, S., Vućurović, A., Berenji, J. i Krstić, B.:** Zastupljenost i molekularna karakterizacija virusa mozaika krastavca u usevu duvana. Bilten za sirak, hmelj i lekovito bilje, 40: 70-82, 2008.
- Eid, S., Abou-Jawdah, T., El-Mohhtar, C., Sobh, H. and Havey, M.:** Tolerance in Cucumber to *Cucurbit yellow stunting disorder virus*. *Plant Disease*, 90: 645-649, 2006.
- Fruhirth, G.O. and Hermetter, A.:** Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109: 1128-1140, 2007.
- Fuchs, M. and Gonsalves, D.:** Resistance of transgenic hybrid squash ZW-20 expressing the coat protein genes of zucchini yellow mosaic virus and watermelon mosaic virus 2 to mixed infections by both potyviruses. *Bio-Technology*, 13: 1466-1473, 1995.
- Fuchs, M., Chirco, E.M. and Gonsalves, D.:** Movement of coat protein genes from commercial virus-resistant transgenic squash into a wild relative. *Environmental Biosafety Research*, 3: 5-16, 2004a.
- Fuchs, M., Chirco, E.M., McFerson, J.R. and Gonsalves, D.:** Comparative fitness of a wild squash species and three generations of hybrids between wild x virus-resistant transgenic squash. *Environmental Biosafety Research*, 3: 17-28, 2004b.
- Fuchs, M., Tricoli, D.M., Carney, K.J., Schesser, M., McFerson, J.R. and Gonsalves, D.:** Comparative virus resistance and fruit yield of transgenic squash with single and multiple coat protein genes. *Plant Disease*, 82: 1350-1356, 1998.
- Gaba, V., Zelcer, A. and Gal-On, A.:** Cucurbit biotechnology: The importance of virus resistance. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 40: 346-358, 2004.
- Giampan, J.S., Rezende, J.A.M. and Silva, R.F.:** Reaction of cucurbits species to infection with *Zucchini lethal chlorosis virus*. *Scientia Horticulturae*, 114: 129-132, 2007.
- Gilbert-Albertini, F., Lecoq, H., Pitrat, M. and Nicolet, J.L.:** Resistance of *Cucurbita moschata* to *Watermelon mosaic virus* type 2 and its genetic relation to resistance to zucchini mosaic virus. *Euphytica*, 69: 231-237, 1993.
- Grumet, R., Kabelka, E., McQueen, S., Wai, T. and Humphrey, R.:** Characterization of sources of resistance to the watermelon strain of *Papaya ringspot virus* in cucumber: allelism and co-segregation with other potyvirus resistances. *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 463-472, 2000.

- Guner, N. and Wehner, T.C.:** Overview of Potyvirus resistance in watermelon. Proceedings IX EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Avignon, France, 2008, pp. 445-452.
- Jossey, S. and Babadoost, M.:** Occurrence and distribution of pumpkin and squash viruses in Illinois. Plant Disease, 92: 61-68, 2008.
- Kabelka, E. and Grumet, R.:** Inheritance of resistance to the Moroccan watermelon mosaic virus in the cucumber line TMG-1 and cosegregation with zucchini yellow mosaic virus resistance. Euphytica, 95: 237-242, 1997.
- Kassem, M.A., Sempere, R.N., Juarez, M., Aranda, M.A. and Truniger, V.:** *Cucurbit aphid-borne yellows virus* is prevalent in field-grown cucurbit crops of southeastern Spain. Plant Disease, 91: 232-238, 2007.
- Katis, N.I., Tsitsipis, A.J., Stevens, M. and Powell, G.:** Transmission of Plant Viruses. In: Aphids as Crop Pests (van Emden H.F., Harrington R., eds.), CABI, Wallingford, 2007, pp. 353-390.
- Kheyr-Pour, A., Bananej, K., Dafalla, G.A., Caciagli, P., Noris, E., Aboonmanesh, A., Lecoq, H. and Gronenborn, B.:** *Watermelon chlorotic stunt virus* from the Sudan and Iran: sequence comparisons and identification of a whitefly-transmission determinant. Phytopathology, 90: 629-635, 2000.
- Kishaba, A.N., Castle, S.J., Coudriet, D.L., McCreight, J.D. and Bohn, G.W.:** Virus transmission by *Aphis gossypii* Glover to aphid-resistant and susceptible muskmelons. Journal of the American Society for Horticultural Science, 117: 248-254, 1992.
- Krstić, B. i Bulajić, A.:** Karantinski virusi povrća i ukraških biljaka u zaštićenom prostoru. Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet i Ministarstvo poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva, Beograd, 2007.
- Krstić, B., Berenji, J., Dukić, N., Vico, I., Katis, N.I. and Papavassiliou, C.:** Identification of viruses infecting pumpkins (*Cucurbita pepo* L.) in Serbia. Proceedings Matica Srpska for Natural Sciences, Novi Sad, 2002a, 103: 57-65.
- Krstić, B., Vučurović, A., Bulajić, A., Stanković, I., Ristić, D. i Berenji, J.:** Virusi uljane tikve u Srbiji. Zbornik rezimea VI simpozijuma o zaštiti bilja u BiH, Tuzla, 2009, str. 39-41.
- Kucharek, T.A. and Purcifull, D.E.:** Aphid-transmitted viruses of cucurbits in Florida. Florida Cooperative Extension Service Circular, No. 1184. University of Florida, Gainesville, 1997, pp. 11.
- Lecoq, H., Desbiez, S., Wipf-Schibel, C. and Girard, M.:** Potential involvement of melon fruit in long distance dissemination of cucurbit potyviruses. Plant Disease, 87: 955-959, 2003.
- Lecoq, H., Labonne, G. and Pitrat, M.:** Specificity of resistance to virus transmission by aphids to *Cucumis melo*. Ann Review of Phytopathology, 12: 139-144, 1980.
- Lecoq, H., Wipf-Schibel, C., Chandeysson, C., Le Van, A., Fabre, F. and Desbiez, C.:** Molecular epidemiology of Zucchini yellow mosaic virus in France: An historical overview. Virus Research, 141: 190-200, 2009.
- Leibman, D., Wolf, D., Segev, O., Raskin, A., Gaur, R., Saharan, V., Zelcer, A. and Gal-On, A.:** Transgenic resistance to RNA viruses in cucurbits is dependant on transgenic construct and varies between viruses. Proceedings IXth EUCARPIA Meeting on Genetic and Breeding of Cucurbitaceae, Avignon, France, 2008, pp. 457.
- Lovisolo O.:** Virus and viroid diseases of cucurbits. Acta Horticulturæ, 88: 33-71, 1980.
- Mallor, C., Luis-Arteaga, M., Alvarez, J.M., Montaner, M. and Floris, E.:** Resistance to Melon necrotic spot virus in *Cucumis melo* L. *Doublon* artificially inoculated by fungus vector *Olpidium bornovanus*. Crop Protection, 25: 426-431, 2006.
- Maluf, W.R., Pereira, J.J. and Figueria, A.R.:** Inheritance to resistance to the papaya ringspot virus – watermelon strain from two different accessions of winter squash *Cucurbita maxima* Duch. Euphytica, 94: 163-168, 1997.
- Marco, C.F., Aguilar, J.M., Abad, J., Gomez-Guillamon, M.L. and Aranda, M.A.:** Melon resistance to *Cucurbit yellow stunting disorder virus* is characterized by reduced virus accumulation. Phytopathology, 93: 844-852, 2003.
- Mayers, C.N., Lee, K.C., Moore, C.A., Wong, S.M. and Carr, J.P.:** Salicylic acid – induced resistance to *Cucumber mosaic virus* in squash and *Arabidopsis thaliana*: contrasting mechanisms of induction and antiviral action. Molecular Plant Microbe Interactions, 18: 428-434, 2005.
- McCreight, J.D. and Wintermantel, W.M.:** Potential new sources of genetic resistance in melon to *Cucurbit yellow stunting disorder virus*. Proceedings IXth EUCARPIA Meeting on Genetic and Breeding of Cucurbitaceae, Avignon, France, 2008, pp. 173-179.
- Paris, H.S. and Cohen, S.:** Oligogenic inheritance for resistance to *Zucchini yellow mosaic virus* in *Cucurbita pepo*. Annals of Applied Biology, 136: 209-214, 2000.
- Pink, D.A.C.:** Genetic control of resistance to cucumber mosaic virus in *Cucurbita pepo*. Annals of Applied Biology, 111: 425-432, 1987.
- Pitrat, M. and Lecoq, H.:** Inheritance of resistance to cucumber mosaic virus transmission by *Aphis gossypii* in *Cucumis melo*. Phytopathology, 70: 958-961, 1980.
- Providenti, R.:** Diseases caused by viruses. In: Compendium of Cucurbit Diseases (Zitter T.A., Hopkins D.L., Thomas C.E., eds.), APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 1996, pp. 37-38.
- Providenti, R., Gonsalves, D. and Humaydan, H.S.:** Occurrence and of *Zucchini yellow mosaic virus* in cucurbits

- from Connecticut, New York, Florida, and California. *Plant Disease* 68: 443-446, 1984.
- Provvidenti, R. and Schroeder, W.T.:** Epiphytotic of watermelon mosaic among Cucurbitaceae in Central New York in 1969. *Plant Disease Reporter*, 54: 744-748, 1970.
- Radwan, D.E.M., Fayez, K.A., Mahmoud, S.Y., Hamad, A. and Li, G.:** Physiological and metabolic changes of *Cucurbita pepo* leaves in response to zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45: 480-489, 2007.
- Riedle-Bauer, M., Suarez, B. and Reinprecht, H.J.:** Seed transmission and natural reservoirs of *Zucchini yellow mosaic virus* in *Cucurbita pepo* var. *styriaca*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 109: 200-206, 2002.
- Roossinck, M.J.:** Evolutionary history of *Cucumber mosaic virus* deduced by phylogenetic analyses. *Journal of General Virology*, 76: 3382-3387, 2002.
- Sanford, J.C. and Johnston, S.A.:** The concept of parasite-derived resistance: deriving resistance genes from the parasite's own genome. *Journal of Theoretical Biology*, 113: 395-405, 1985.
- Sevik, M.A. and Arli-Sokmen, M.:** Viruses infecting cucurbits in Samsun, Turkey. *Plant Disease*, 87: 341-344, 2003.
- Spencer, L.J. and Snow, A.A.:** Fecundity of transgenic wild-crop hybrids of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae): implications for crop-to-wild gene flow. *Heredity*, 86: 694-702, 2001.
- Strange, E.B., Guner, N., Pesic-VanEsbroeck, Z. and Webner, T.C.:** Screening the Watermelon Germplasm Collection for Resistance to Papaya Ringspot Virus Type-W. *Crop Science*, 42: 1324-1330, 2002.
- Svoboda, J. and Polák, J.:** Distribution, variability and overwintering of *Zucchini yellow mosaic virus* in the Czech Republic. *Plant Protection Science*, 38: 125-130, 2002.
- Tóbiás, I., Szabó, B., Salánki, K., Sári, L., Kublmann, H. and Palkovics, L.:** Seedborne transmission of *Zucchini yellow mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* in styrian hulle-ss group of *Cucurbita pepo*. *Proceedings IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*, Avignon, France, 2008, pp. 189-197.
- Tricoli, D.M., Carney, K.J., Russell, P.F., McMaster, J.R., Groff, D.W., Hadden, K.C., Himmel, P.T., Hubbard, J.T., Boeshore, M.L. and Quemada, H.D.:** Field evaluation of transgenic squash containing single or multiple coat protein gene constructs for resistance to cucumber mosaic virus, watermelon mosaic virus 2, and zucchini yellow mosaic virus. *Bio-Technology*, 13: 1458-1465, 1995.
- Tripathi, S., Suzuki, J.Y., Ferreira, S.A. and Gonsalves, D.:** *Papaya ringspot virus-P*: characteristics, pathogenicity, sequence variability and control. *Pathogen profile. Molecular Plant Pathology*, 9: 269-280, 2008.
- van Emden, H.F.:** Host-Plant Resistance. In: *Aphids as Crop Pests* (van Emden H.F., Harrington R., eds.). CABI, Wallingford, 2007, pp. 447-468.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Đekić, I., Berenji, J. i Krstić, B.:** Virusi – stalni problem u usevu tikava u Srbiji. *Zbornik rezimea IX savetovanja o zaštiti bilja*, Zlatibor, 2008, str. 96-97.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Đekić, I., Ristić, D., Berenji, J. i Krstić, B.:** Prisustvo i rasprostranjenost virusa uljane tikve i molekularna karakterizacija virusa žutog mozaika kukurjica. *Pesticidi i fitomedicina*, 24: 85-94, 2009a.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Đekić, I., Ristić, D., Berenji, J. i Krstić, B.:** Biološka varijabilnost virusa žutog mozaika kukurjica u Srbiji. *Pesticidi i fitomedicina*, 24: 271-280, 2009b.
- Wagner, F.S.:** The health value of styrian pumpkin seed oil-science and fiction. *Cucurbit Genetics Cooperative Report*, 23: 122-123, 2000.
- Webb, S.E.:** IPM case studies: Cucurbits. In: *Aphids as Crop Pests* (van Emden H.F., Harrington R., eds.), CABI, Wallingford, 2007, pp. 639-649.
- Xu, Y., Kang, D., Shi, Z., Shen, H. and Webner, T.:** Inheritance of resistance to Zucchini Yellow Mosaic Virus and Watermelon Mosaic Virus in Watermelon. *Journal of Heredity*, 95: 498-502, 2004.
- Yousif, M.T., Kheyr-Pour, A., Gronenborn, B., Pitrat, M. and Dogimont, C.:** Sources of resistance to *Watermelon Chlorotic Stunt Virus* in melon. *Plant Breeding*, 126: 422-427, 2007.
- Zechmann, B. and Muller, M.:** Effects of zucchini yellow mosaic virus infection on the subcellular distribution of glutathione and its precursors in a highly tolerant *Cucurbita pepo* cultivar. *Botany*, 86: 1092-1100, 2008.
- Zechmann, B., Zellnig, G., Urbanek-Krajnc, A. and Muller, M.:** Artificial elevation of glutathione affects symptom development in ZYMV-infected *Cucurbita pepo* L. plants. *Archives of Virology*, 152: 747-762, 2007.
- Zitter, T.A.:** Diseases of cucurbits and their control with genetic resistance. *Vegetable MD Online*, Cornell University, Ithaca (http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc_Genetic.htm), 2002.
- Zitter, T.A., Hoffman, M.P., McGrath, M.T., Petzoldt, C.H., Seaman, A.J. and Pedersen, L.H.:** 2004-Cucurbit IPM Scouting Procedures. *IPM Bulletin No. 113*. New York State Integrated Pest Management Program, Cornell University and New York State Department of Agriculture and Markets, Ithaca, 2004.
- Zraidi, A., Stift, G., Pachner, M., Shojaeiyan, A., Gong, L. and Lelley, T.:** A consensus map for *Cucurbita pepo*. *Molecular Breeding*, 20: 375-388, 2007.

Novel Approaches to Implementation of Pumpkin Resistance in Control of Viral Diseases

SUMMARY

As there is a growing frequency of viral plant diseases in epidemic proportions, the possibilities for successful control are constantly being explored. Despite the fact that integral and simultaneous employment of numerous control measures may contribute to the decreasing amount of yield losses, especially concerning non-persistently aphid-transmitted viruses, these measures are often not efficient enough. Research into the basis of resistance to viral infection and principles of its inheritance, introduction of sources of resistance in susceptible genotypes, by conventional or genetic manipulations, are very intensive for cucurbit crops, especially pumpkins. Pumpkin crops are being endangered by a great number of different viruses, among which the *Zucchini yellow mosaic virus*, (ZYMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV) and *Cucumber mosaic virus* (CMV) are present every year in Serbia, frequently causing epidemics.

The majority of pumpkin cultivars are not resistant or tolerant to viral infections, but sources of resistance have been identified in various related species. So far, the identified sources of resistance to the ZYMV are found in *Cucurbita moschata* and *Citrullus lanatus* var. *lanatus* genotypes and consist of one or several major dominant genes of resistance. It is a similar case with WMV, although the sources of dominant major genes are identified in *C. lanatus* and *C. colocynthis*. The sources of resistance to CMV in the form of one dominant gene have been identified in the genotype *C. moschata*, although the introduction of this gene by conventional means proved to be very difficult. Besides the aforementioned, substantial efforts are being made in developing genotypes with multiple resistance against several viruses and even other pathogens, as well as genotypes with resistance to the most significant plant aphid species, through mechanisms of antixenosis or antibiosis.

The other way of obtaining resistant genotypes includes genetic manipulation. Genetically modified resistant pumpkins have been among the first successfully developed crops. Genotypes with pathogen derived resistance can already be found in commercially grown pumpkins in some parts of the world, and they have been developed by introducing the coat protein gene of one, two or all three viruses which are the most frequent, ZYMV, WMV and CMV. Yet, this approach to the control of pumpkin viral diseases is related to possible negative consequences, mostly through the already detected gene transfer to wild plants and development of resistant transgenic weeds of unpredictable impact on the environment.

Improved host plant genetic resistance to viral infections or biological vectors, developed by conventional or genetic engineering methods, represents the most dynamic and prominent field of research. It is economically and ecologically the most justified approach to the control of pumpkin and other plant diseases caused by viruses non-persistently transmitted by aphids.

Keywords: Pumpkins; Plant aphids; Non-persistent transmission; Resistance; Control