

"Zbornik radova", Sveska 42, 2006.

Pregledni rad - Review

OPŠTI PRINCIPI KONTROLE VIRUSNIH OBOLJENJA DUVANA SA POSEBNIM OSVRTOM NA VIRUS MOZAIKA DUVANA

Krstić, B.¹, Vico, I.¹, Berenji, J.², Dukić, N.¹, Bulajić, A.¹

IZVOD

Duvan je domaćin velikog broja virusa. Neki od njih su prouzrokovali značajnih ekonomskih šteta. Zbog veoma složene kontrole virusnih oboljenja, značaj virusa duvana je još veći. Iako protiv virusa nema direktnih hemijskih mera borbe i nema mogućnosti izlječenja zaraženih biljaka, ipak se može i mora sprovesti kontrola oboljenja. Postoji čitav niz mera, pre svega preventivnih, koje su vezane za načine primarnog i sekundarnog širenja virusa. Zbog toga je neophodno poznavanje osnovnih karakteristika virusa, izvora inokuluma i načina širenja virusa u prirodi. Mada izbor određene strategije kontrole zavisi od određenog virusa, postoje i opšti principi, koji su izneti u ovom radu.

U tom kontekstu je, u ovom radu, izneto šta je sve potrebno znati o virusu mozaika duvana kako bi se smanjila njegova štetnost u proizvodnji duvana. Pored toga, navedene su i one sanitarne mere kojih se treba strogo pridržavati i u proizvodnji rasada i pri gajenju useva duvana na otvorenom polju. Osim toga, ukazano je na značaj korišćenja otpornih sorti i primene plodoređa. Dat je pregled mogućnosti kontrole oboljenja koje pružaju biološke mere borbe, kao i razvijanje molekularnih strategija stvaranjem transgenih biljaka otpornih na virus mozaika duvana.

KLJUČNE REČI: duvan, viroze duvana, virus mozaika duvana, mere kontrole

Značaj gajenja duvana kod nas

Rod *Nicotiana* obuhvata oko 60 vrsta od kojih se gaje samo običan duvan (*Nicotiana tabacum* L.) i krdža (mahorka, *N. rustica*). U našoj zemlji gaji se

1 Dr Branka Krstić, red. profesor, dr Ivana Vico, docent, mr Nataša Dukić, asistent, mr Aleksandra Bulajić, asistent, Poljoprivredni fakultet, Beograd

2 Dr Janoš Berenji, naučni savetnik, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

isključivo običan duvan. Naša tri najraširenija tipa duvana su Berlej, Virdžinija i orijentalni duvan (Berenji et al., 2003). Ukupna proizvodnja duvanskog lista je oko 10.000 t godišnje. Kao osnovnom ili dopunskom delatnošću proizvodnjom sirovog duvana godišnje se bavi oko 25.000 domaćinstava ili oko 100.000 stanovnika. Skoro sva proizvodnja duvana kod nas obavlja se na individualnim posedima, što ovoj grani poljoprivrede daje poseban ekonomsko-socijalni značaj. Po proizvodnji duvana naročito se ističu privredno nedovoljno razvijena područja. Na većini ovih područja, zbog usitnjenosti poseda, specifične konfiguracije terena, nedostatka padavina u toku vegetacije, lošijih tipova zemljišta i drugih razloga gajenje duvana je dominantna grana ratarske proizvodnje (Berenji i Sikora, 2002). Uopšteno se može reći da domaća proizvodnja sirovog duvana ne zadovoljava potrebe domaćih proizvođača cigareta te se ubrajamo među zemlje-uvoznike duvana. U cilju podmirivanja potreba domaće industrije cigareta i ostvarivanja projektovanog izvoza jedan od prioriteta strategije daljeg razvoja proizvodnje sirovog duvana je povećanje obima proizvodnje. Među najvažnije zadatke povećanja obima i kvaliteta proizvedenog duvana treba ubrajati primenu savremenog načina proizvodnje rasada (po sistemu "plivajućih tacni"), specifičnih mera nege useva (zakidanje zaperaka i zalamanje cvasti), savremenog načina berbe i sušenja duvana kao i efikasne zaštite duvana od korova, štetočina i bolesti. Podizanje nivoa zaštite duvana od viroznih obolenja je jedan od prioritenih zadataka programa unapređenja proizvodnje duvana u nas (Jasnić et al., 2000).

Virusi duvana

Od svih patogena, virusi su najvažniji i najodgovorniji za značajno smanjenje prinosa i komercijalne vrednosti duvana. U svetu je opisano preko 20 virusa koji u prirodi zaražavaju duvan, a nekoliko njih su prouzrokovali značajnih ekonomskih šteta. Pored toga, duvan je potencijalni domaćin još preko 100 virusa. Najčešći efekti virusnih oboljenja duvana su nepravilan izgled biljaka, promene na lišću, smanjenje porasta, prinosa i kvaliteta duvana. Biljke duvana zaražene izvesnim virusima često ne ispoljavaju vidljive simptome, dok se infekcije drugim virusima završavaju izraženom nekrozom i uginućem biljaka.

Najrasprostranjeniji i najznačajniji virusi duvana u svetu su: *virus mozaika duvana - Tobacco mosaic virus (TMV)*; *virus bronzavosti paradajza - Tomato spotted wilt virus (TSWV)*, *virus mozaika krastavca - Cucumber mosaic virus (CMV)*, *virus crtičastog mozaika krompira - Potato virus Y (PVY)*, *virus mozaika lucerke - Alfalfa mosaic virus (AMV)*, *virus prstenaste pegavosti duvana - Tobacco ringspot virus (TRSV)*, *virus graviranosti duvana - Tobacco etch virus (TEV)* i *virus šarenila nerava duvana - Tobacco vein mottling virus (TVMV)* (Shew and Lucas, 1991). Prema Jasniću i sar. (2000) najrasprostranjeniji virusi duvana u Vojvodini su TSWV, AMV, CMV, TMV i PVY.

Ekonomski značaj viroza duvana

Virusi prouzrokuju značajne gubitke u proizvodnji sirovina za potrebe duvanske industrije, kako smanjenjem prinosa tako i pogoršanjem kvaliteta

duvanskog lista. Tako prema Gameru (1951) američka duvanska privreda od virusa je godišnje gubila 15% berbe, što je iznosilo 33 miliona dolara, od čega su samo u Severnoj Karolini zabeleženi gubici od 26 miliona dolara (Akhurst, 1970) (loc.cit. Uzunoski, 1987). Mickovski (1965) je utvrdio da TMV prosečno smanjuje prinos duvana od 30-35%, odnosno 31-62% u slučaju ranih infekcija, a njegovu novčanu vrednost oko 50%, odnosno 48-81% u slučaju ranih infekcija. Duvan tipa Berlej uglavnom poseduje tzv. N gen odgovoran za hipersenzibilnu reakciju, ali na osetljivim kultivarima ovog tipa duvana, zabeleženi su gubici od TMV-a iznad 50% u južnoj Italiji (Piccirillo and Diana, 1991). Virusi doprinose pogoršanju kvaliteta duvana, jer se u zaraženom lišću remeti odnos šećera, proteina, azota i nikotina. TMV infekcija smanjuje kvalitet duvana modifikujući odnos glavnih hemijskih konstituenata kao što su azot, šećer i nikotin (Patel and Patel, 1995). Gao et al. (1994) utvrdili su smanjenje sadržaj šećera, a povećanje proteina u listovima duvana zaraženih TMV-om. U godinama epidemije TSWV-a, koje su zabeležene u južnoj Srbiji i na Kosovu od 1967. do 1969. godine, ovaj virus je identifikovan na 50-90% biljaka i tada je u većini slučajeva potpuno uništio proizvodnju duvana (Mickovski, 1969).

Opšti principi kontrole virusnih oboljenja duvana

Iako se zna da protiv virusa nema direktnih hemijskih mera borbe i nema mogućnosti izlečenja zaraženih biljaka, ipak se može sprovoditi efikasna kontrola i to kako u pogledu sprečavanja pojave zaraze tako i sprečavanjem širenja virusa. Kontrola je veoma složena i potrebno je dobro razumevanje biologije i epidemiologije virusa.

Smanjenje gubitaka prinosa duvana usled virusnih zaraza zahteva:

- (i) Poznavanje pojave i rasprostranjenosti pojedinih virusa zbog čega je potrebno izvršiti identifikaciju virusa prouzrokovala u određenom regionu gajenja duvana i pratiti učestalost njihove pojave;
- (ii) Utvrđivanje izvora inokuluma, kako bi se ograničilo širenje virusa u toku vegetacije. U tom smislu najvažnije je poznavanje korovske flore kao mogućeg domaćina ne samo virusa već i vektora virusa;
- (iii) Poznavanje useva koji se gaje u okolini polja sa duvanom, njihove osetljivosti prema virusima duvana i njihov uticaj na populaciju vektora;
- (iv) Razumevanje povezanosti agrotehničkih mera koje se primenjuju u duvanu i širenja pojedinih virusa;
- (v) Poznavanje uticaja faktora spoljašnje sredine na održavanje inokuluma i na brojnost populacije vektora.

Ova saznanja su neophodna radi izbora odgovarajućih preventivnih mera. Strogo pridržavanje profilaktičkih mera je jedini način da se spreči zaraza rasada čime bi se onemogućilo da virus bude unet u usev na otvorenom polju ili da se spreči širenje virusa u usevu, ako su naponi da se virus ne unese u polje neuspešni.

Najidealnije bi bilo da se duvan gaji u lokalitetima gde se virusi infektivni za duvan ne javljaju. Ali kako je to praktično neizvodljivo, značajno smanjenje pojave viroza duvana moguće je izborom izdvojenih površina koje nisu ugrožene izvo-

rima zaraza ili prostornim udaljavanjem useva duvana od poznatih izvora inokuluma (površine pod povrćem-paprika, paradajz, plavi patlidžan, površine pod krompirom ili lucerkom, itd.). Značajno smanjenje intenziteta zaraze PVY-om postiže prostornim udaljavanjem duvana of izvora zaraze. Dobri efekti su postignuti udaljavanjem i za svega nekoliko stotina metara od poznatih izvora zaraze ovim virusom (Shew and Lucas, 1991).

Razvijanje strategija kontrole u uslovima gajenja osetljivih kultivara duvana u lokalitetima gde su i virus i vektor prisutni skoro je nemoguće. U uslovima kada je usev duvana izložen visokom pritisku virusnog inokuluma, najefikasnija mera bi bila korišćenje otpornih kultivara. Generalno gledano, vrlo je ograničen izbor kultivara duvana koji su otporni na virus/viruse, a pritom se odlikuju visokim prinosom kvalitetnog lišća. Ipak, postoje izuzeci. TMV je bio veoma ozbiljan problem na duvanu tipa Berlej sve dok nisu uvedeni kultivari otporni na ovaj virus.

Mada sam izbor strategija kontrole zavisi od pojedinačnog virusa, postoje neki opšti principi borbe protiv viroznih obolenja duvana.

Veliki napor treba uložiti da se proizvede zdrav rasad. Obezbeđivanje zdravog rasada je prvi i najvažniji korak u uspešnoj proizvodnji duvana. Osim virusa i drugi patogeni kao što su *Rhizoctonia* spp., *Peronospora tabacina*, *Pythium* spp., *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* predstavljaju ograničavajući faktor u proizvodnji zdravog rasada (Nesmith, 2004). Proizvodnja zdravog rasada duvana uključuje izolovano gajenje rasada, uništavanje korova domaćina virusa oko objekata u kojima se gaji rasad, dezinfekciju ruku pre i u toku rada kako bi se sprečilo širenje virusa koji se lako mehanički prenose, zatim odstranjivanje zaraženih biljaka rasada odmah po pojavi simptoma, čak i korišćenje pokrivki kako bi se isključilo prenošenje virusa vektorima. Najbolje je da se zemljište ili supstrat u kome rastu zaražene biljke odmah odstrani. Ova mera je takođe korisna za kontrolisanje oboljenja korena i poleganja rasada koje prouzrokuju razne gljive i bakterije. Gajenje drugih biljaka sa ili pored rasada duvana povećava rizik od unošenja virusa infektivnih za duvan. Veoma je važno ne gajiti ukrasne biljke, pre svega cveće u blizini rasada duvana, jer se sa njih TSWV prenosi tripsima na duvan.

Posle rasađivanja, zaražene biljke u polju treba odmah odstraniti i uništiti čim se identifikuju. Odstranjivanje do 5% zaraženih biljaka nema značajniji uticaj na prinos duvana, a na taj način je izvršena eliminacija sekundarnih izvora zaraze koji su važni za širenje virusa (Shew and Lucas, 1991).

U literaturi se skreće pažnja na neophondost uklanjanja samoniklih biljaka duvana iz prethodnog useva pre početka rasađivanja novih biljaka duvana. Ova mera u našim uslovima nema veći praktičan značaj, ali je uočeno da, čak i u zemljama sa izrazito hladnim zimama, nije neobično naći izdanke izrasle iz korena biljaka duvana iz prethodne vegetacije, koji bi mogli da budu izvor inokuluma ne samo za viruse nego i za neke gljive, kao što je *Peronospora tabacina* (Shew and Lucas, 1991). U našim uslovima ovaj princip se više odnosi na eventualno pojavljivanje izdanaka od zaraženih biljaka koje nisu dobro isčupane.

Suzbijanje vaši izgleda kao logična mera u kontroli virusa koji se prenose ovim vektorima, mada postoje i suprotna mišljenja. Neka ispitivanja su pokazala da primena insekticida nije smanjila pojavu zaraženih biljaka, a neka da ima pozitivnih efekata. Razlog ove kontradiktorne pojave, koja varira od godine do

godine i od polja do polja, nije poznat, ali verovatno je posledica interakcije populacije vaši i nivoa inokuluma. U svakom slučaju treba testirati efikasnost insekticida za određeni lokalitet.

Korišćenje hemijskih preparata u kontroli virusnih oboljenja, pa i duvana, pokazalo se kao neefikasno, osim za sprečavanje širenja TMV-a. Kada se govori o korišćenju hemijskih preparata, misli se na pranje ruku sapunom ili potapanje ruku u mleko, kao i na inaktivaciju TMV-a na konstrukciji toplih leja ili na priboru za negu useva (Šutić, 1995).

Unakrsna zaštita (inokulacija biljaka blagim sojem virusa štiti biljku od kasnije zaraze jakim sojem istog virusa) se uspešno koristi za smanjenje šteta od virusnih oboljenja u nekim usevima. Pokazano je da je unakrsna zaštita efikasna u smanjenju šteta od TMV-a na duvanu u eksperimentalnim poljskim ogledima i prema PVY u uslovima staklenika (Shew and Lucas, 1991). Iako je unakrsna zaštita efikasna mera, ne primenjuje se u poljskim uslovima zbog većeg broja nedostataka.

Otkako su Powell Abel et al. (1986) stvorili transgene biljke duvana sa ugrađenom zaštitom od TMV-a, skoro za sve grupe biljnih virusa je uspešno primenjen ovaj koncept, mada tip i nivo otpornosti ostvarene na ovaj način variraju. Negativan stav javnog mnjenja prema transgenim biljkama jedan od glavnih razloga zašto proizvođači cigareta za sada strikno zabranjuju gajenje transgenog duvana svuda u svetu.

Mere kontrole virusa mozaika duvana

Karakteristike virusa

TMV ima dve osobine po kojima se razlikuje od ostalih virusa duvana, a one se veoma važne za kontrolu oboljenja koje izaziva. Prvo, TMV je veoma stabilan virus. Za razliku od ostalih virusa duvana, može da sačuva svoju infektivnost mesecima i godinama u fermentisanom duvanu, iz koga ga npr. pušači dodirrom lako prenose na biljke duvana. Može da se održi najmanje 50 godina u suvom tkivu biljaka, dok se drugi virusi duvana inaktiviraju uginjavanjem biljaka domaćina (Šutić, 1995). Drugo, TMV se primarno prenosi mehanički, dok je osnovni način prenošenja ostalih virusa duvana vektorima (vašima, tripsom, nematodama).

Identifikacija virusa

Prvi korak u kontroli TMV-a je identifikacija prouzrokovala mozaika ili šarenila lišća, jer nekoliko drugih virusa takođe prouzrokuje slične mozaične šare na lišću. Treba voditi računa i o tome da su simptomi na rasadu često veoma blagi i ne mogu se lako identifikovati. Zaraza duvana TMV-om lako se dokazuje pojavom lokalnih nekrotičnih pega na inokulisanom lišću vrste *Nicotiana glutinosa* ili primenom seroloških metoda, pre svega ELISA testom.

Prenošenje virusa

TMV se prenosi mehanički, odnosno bilo kojim načinom koji omogućava virusu da dođe u kontakt sa ozleđenim tkivom biljke. Najčešći način mehaničkog

prenošenja je kontaminiranim rukama radnika ili opremom (Lukas, 1975, loc. cit. CAB International, 2000).

Virus se ne prenosi semenom duvana, ali seme može da bude inficirano zaraženim biljnim ostacima, tako da je neophodno koristiti čisto seme.

Insekti, kao vektori ovog virusa nisu utvrđeni, ali insekti koji žvaću (skakavci, gusenice leptira, cikade) su mogući prenosioci zbog mehaničkog dodira sa biljkom.

Primarno širenje virusa

Infekcije duvana iz izvora u kojima se virus održava je poznata kao primarna infekcija. Dobro poznavanje mogućih izvora inokuluma i različitih načina primarnog širenja virusa neophodno je za uspešnu kontrolu sprovođenjem sanitarnih mera.

Kao izvori inokuluma ovog virusa poznati su:

(i) Proizvodi od duvana - svi proizvodi od duvana (cigarete, cigare, itd.) mogu da nose čestice TMV-a, pa je preporučljivo da ih radnici ne koriste u toku rada, naročito prilikom rasađivanja. U toku rada sa biljkama preporučuje se pranje ruku u čestim intervalima (15-30 minuta) toplom vodom i sapunom ili 3% rastvorom natrijum trifosfata (Nesmith, 2004). Pranje ruku je obavezno pre rada i posle svake pauze. Prskanje rasada punim ili obranim kravljim mlekom pre rukovanja rasadom (npr. čupanje rasada, rasađivanja) će smanjiti broj zaraženih biljaka i broj ranih zaraza koje su najopasnije. Za tretiranje se preporučuje rastvor 1 kg obranog mleka na 10 l vode, a biljke treba isprskati 1-24 časa pre rada sa njima (Melton, 2004).

(ii) Biljni ostaci - TMV se održava godinama u osušenom tkivu biljaka duvana, tako da sve što može da bude kontaminirano komadićima zaraženog tkiva lišća, stabla ili korena treba da bude očišćeno pre upotrebe. Treba izbegavati proizvodnju rasada blizu skladišta duvana.

(iii) Zemljište - TMV se dugo održava u zemljištu u biljnim ostacima (od nekoliko meseci do nekoliko godina). Istraživanja su pokazala da do zaraze rasada najčešće dolazi u momentu vađenja iz zaraženog zemljišta ili rasađivanja u zaraženo zemljište. Broj biljaka koji se zaražava na ovaj način zavisi od količine zaraženih biljnih ostataka u zemljištu. Brojna istraživanja su pokazala da 0,1-5,5% biljaka biva zaraženo TMV-om ako su biljke bile rasađene u polju u kojem je prethodne godine bio izražen problem sa mozaikom (Melton, 2004). Virus se održava na živim i neživim delovima biljke, ali živi delovi sadrže veći broj infektivnih čestica. Problem održavanja TMV u zemljištu se najefikasnije rešava plodoredom.

(iv) Drugi usevi, naročito paprika, paradajz, plavi patlidžan - Osim što ih treba izbegavati kao preduseve, ovim biljkama ne treba ni rukovati pre rada na duvanu. Plodovi ovih biljaka, takođe, sadrže infektivne čestice TMV, pa ih ne treba dirati rukama pre rada na duvanu. Treba imati na umu da jedna zaražena biljka paradajza ima dovoljan potencijal da se zaraze sve biljke duvana koje rastu u nekom regionu (Shew and Lucas, 1991).

(v) Korovi - TMV ima širok krug domaćina, među kojima su i brojni korovi. U usevu i neposrednoj okolini treba uništavati korovske biljke koje su domaćini

virusa (*Chenopodium* spp., *Melandrium album*, *Plantago lanceolata*, *Digitalis lanata* i dr.) (Šutić, 1995). Uništavanje korovskih biljaka pomaže smanjenju virusnog inokuluma i čuva osetljive kultivare duvana od infekcije. Preporuka je da se ovi korovi stalno uništavaju čupanjem iz korena.

Sekundarno širenje virusa

Većina mozaičnih biljaka duvana u poljima sa visokim intenzitetom zaraze, zaraženo je sekundarnim širenjem TMV. Sekundarno širenje podrazumeva širenje virusa unutar samog useva duvana. Određen broj primarno zaraženih biljaka predstavlja inokulum za dalje sekundarno širenje virusa u polju.

Najbolje rešenje za redukciju sekundarnog širenja je uklanjanje primarno zaraženih biljaka duvana iz polja. Faktori koji utiču na efikasnost uklanjanja tih biljaka su brojni, ali ipak su dva najvažnija i njih treba razmatrati. Prvi faktor je vreme pojave primarnih infekcija, a drugi brojnost zaraženih biljaka.

Mada se primarne infekcije mogu pojaviti u bilo koje vreme u toku vegetacije, najkritičnije vreme je na samom početku vegetacije, posebno u toku rasađivanja. Biljke zaražene u toj fazi, od bilo kojeg izvora inokuluma, pokazaće mozaične simptome za dve do četiri nedelje. Opšte je prihvaćeno pravilo da je uklanjanje ovakvih biljaka opravdano ako manje od 180 biljaka/ha pokazuje simptome (Melton, 2004). Odstranjivanje biljaka treba uraditi pre međuredne obrade ili okopavanja. Rasađivanje novih biljaka na mesto izvađenih, nije preporučljivo, jer do zaraze može da dođe od korenova i žilica preostalih u zemljištu. Prema tome, uklanjanje biljaka treba obaviti što ranije, do 4. nedelje po rasađivanju. Ako su biljke starije, efekat uklanjanja je diskutabilan.

Najštetnija forma oboljenja je potamnjenje mozaika (kao da list sagori) koja se javlja kad su zaražene biljke pod stresom (najčešće nedostatak vode). Zbog toga treba voditi računa da biljke uvek imaju na raspolaganju dovoljnu količinu vode.

Sanitarne mere

Dobro poznavanje osobina, izvora inokuluma i načina širenja virusa obezbeđuje razumevanje i pravilnu primenu preventivnih sanitarnih mera. Ove mere su jedini način da se spreči unošenje i širenje virusa u usev duvana, odnosno mogu u znatnoj meri da smanje broj zaraženih biljaka i na taj način ublaže štete u polju. Sanitarne mere treba primenjivati ne samo u toku nege rasada, nego i pri izvođenju agrotehničkih mera u usevu duvana. Ruke i oruđe u toku rada (rasađivanje, zalamanje cvasti, zakidanje zaperaka, berba i druge agrotehničke mere) treba što češće dezinfikovati, kako bi se sprečilo širenje virusa. Prilikom odstranjivanja zaraženih biljaka u polju, obavezno odstraniti i susedne biljke. Pored svih istaknutih sanitarnih mera kojih se treba pridržavati, treba istaći da je neophodna mera zabrane pušenja prilikom rukovanja rasadom.

Plodored

U lokalitetima gde je mozaik duvana, prouzrokovan virusom mozaika duvana, česta pojava, rotacija useva omogućava održavanje gubitaka na minimumu. U

slučajevima kad mozaik duvana predstavlja hroničan problem, treba pažljivo razmotriti pitanje plodoreda i birati preduseve koji nisu osetljivi na ovaj virus (npr. pšenicu, kukuruz, krmno bilje). Pre svega, treba izbegavati plodored sa biljnim vrstama iz familije *Solanaceae* (paprika, paradajz, plavi patlidžan). Plodored treba da bude trogodišnji. Proizvođači duvana, koji nisu u mogućnosti da primenjuju trogodišnji plodored, mogu da smanjuju količinu inokuluma u zemljištu temeljnim uništavanjem zaostalih stabljika i korenova posle završene vegetacije.

Otporni kultivari

Komercijalno dostupni kultivari duvana otporni na TMV uglavnom su niskog prinosa i kvaliteta, mada su u poslednje vreme dostupni i otporni kultivari veoma dobrih agronomskih karakteristika. U svakom slučaju, otporni kultivari su od velike koristi u slučaju kada se praktikuje monokultura. Otporni kultivari mogu da se gaje na problematičnim lokalitetima da bi se prekinuo ciklus održavanja virusa u zemljištu. Otporne kultivare treba, takođe, koristiti u lokalitetima gde je TMV problem i gde gubici od mozaika duvana prevazilaze eventualnu negativnu razliku prihoda otpornih u poređenju sa osetljivim kultivarima (Melton, 2004).

Hipersenzibilna reakcija uslovljena N genom je bila prva strategija u razvijanju otpornosti prema TMV-u. Neki varijeteti duvana odgovaraju na infekciju TMV-om pojavom nekrotičnih lokalnih pega, odnosno lokalizacijom virusa na mestu infekcije tako da nema sistemičnog širenja virusa. U nekoliko *Nicotiana* vrsta ovakva reakcija je pod kontrolom jednog dominantnog N gena, koji je pronađen u *N. glutinosa* (Holmes, 1938). Ovaj gen je Holmes inkorporirao u *N. tabacum* cv. "Samsun NN" preko sintetičkog amfidiploida (*N. glutinosa* $n=24 \times N. tabacum$ $n=12$). Kasnije, gen je inkorporiran u *N. tabacum* cv. "Burley NN" (Vallean, 1952) i *N. tabacum* cv. "Xanthi nc" (Takahashi, 1956; loc. cit. Matthews, 1992).

Ovaj vid otpornosti pokazao se kao dugotrajan (Piccirillo and Piro, 1996; Nielsen, 1997), ali je primenljiv samo za Berlej tip duvana, jer u drugim tipovima duvana otpornost je povezan sa lošijim kvalitetom lišća (Aycock and McKee, 1995). Sa Virdžinija duvanom se intenzivno radi na prevazilaženju ovog problema (Nielsen and Kennedy, 1994).

Biološka kontrola

Biološke mere kontrole zasnivaju se na zaštitnim reakcijama biljke i ispoljavaju se prilikom nastajanja virusnih zaraza ili posle tretiranja biljaka proteinima izolovanim iz biljaka ili nekim hemijskim jedinjenjima.

Utvrđeno je da unakrsna zaštita (premunicija) blagim ili oslabljenim sojem TMV-a može da spreči pojavu i dalji razvoj kasnije infekcije virulentnim sojem TMV-a (Todoroki and Chiba, 1995; loc. cit. CAB International, 2000).

U nekim slučajevima sistemična stečena otpornost (SAR), prouzrokovana prethodnom infekcijom patogenom ili primenom salicilne kiseline pokazala se efikasnom protiv TMV-a (Ward et al., 1991). I u ovom slučaju biljke dobijaju otpornost nakon hipersenzibilne reakcije.

Izolovani su proteini nekih biljaka, kao što su *Phytolacca* sp., *Amaranthus viridis* i *Chenopodium murale*, koji *in vitro* i *in vivo* inaktiviraju TMV tako što inhibiraju aktivnost ribozoma (Watanabe et al. 1997, Kwon et al., 1997; loc. cit. Cab International, 2000).

Kao biološka mera postoji i mogućnost korišćenja satelitnog virusa mozaika duvana (Sat-TMV). Valverde et al. (1991) su Sat-TMV pronašli u prirodno zaraženim biljkama *N. glauca* i prisustvo ove sat-TMV je izazvao redukciju virusne replikacije.

Utvrđeno je da polisaharid hitozan modifikuje odgovor biljke na infekciju TMV-om, ali primena je još uvek na eksperimentalnoj fazi (Posieszny, 1995; loc. cit. Cab International, 2000).

Najnoviji pristup kontroli virusnih infekcija zasniva se na imunološkom odgovoru biljke. Tako je ostvarena redukcija simptoma koje TMV izaziva na biljkama duvana posredstvom antitela na TMV iz miša koji je imuniziran ovim virusom (Voss et al., 1995).

Hemijska kontrola

Mnoga hemijska i fizička sredstva mogu da *in vitro* brzo inaktiviraju TMV, ali se ne mogu primeniti u zaštiti useva u polju. Još nisu pronađena jedinjenja koja bi uspešno otklonila virus iz ćelije, a da ne deluju fitotoksično.

Novi pravci u razvijanju strategija kontrole virusa mozaika duvana

Poslednjih godina genetičko inženjerstvo se intenzivno koristi za dobijanje otpornih transgenih biljaka duvana prema virusima roda *Tobamovirus*. Transgene biljke predstavljaju perspektivnu molekularnu strategiju za zaštitu biljaka duvana od virusnih oboljenja.

Prva generacija transgenih biljaka duvana otpornih na TMV su bile biljke sa transgenom za ekspresiju proteinskog omotača virusa (coat-protein mediated resistance) koji sprečava replikaciju virusa (Powell-Abel et al., 1986; Reimann-Philipp and Beachy, 1993). Bin-Lu et al. (1998) su utvrdili da mutirani gen za protein omotača, takođe, ometa virusne čestice, obezbeđujući otpornost na TMV. Otpornost biljaka dobijena prvom generacijom genetički modifikovanih biljaka duvana ekspresijom gena za proteinski omotač se, međutim, pokazala efikasnom samo pri niskoj koncentraciji virusa u biljci i vodila je samo odlaganju intenzivnije pojave simptoma.

Zbog toga su, u cilju dobijanja što efikasnije otpornosti, stvorene transgene biljke ugrađivanjem drugih transgena u biljku duvana. Transformisanje duvana unošenjem gena u "antisense" orijentaciji omogućava inhibiciju ekspresije gena za 126-183 kDa proteine virusne polimeraze (Nelson et al., 1993). Transgene biljke duvana sa ekspresijom gena za TMV polimerazu sa dodatnom insertacijom u gen za 183 kDa protein su pokazale visoku rezistentnost prema TMV-u i drugim virusima roda *Tobamovirus* (Donson et al., 1993). Transformacija duvana genom koji kodira defektne mutante transportnih proteina (proteini za kretanje virusa od ćelije do ćelije) TMV-a, odlaže pojavu simptoma i redukuje sistemsku infekciju gornjih listova (Cooper et al., 1995).

Još uvek postoje neke dileme od kojih zavisi da li će uvođenje transgenih biljaka voditi praktičnoj i opštoj kontroli virusnih oboljenja. Pored toga treba napomenuti da otpornost prema određenom virusu/soju virusa najčešće privremenog karaktera, jer zbog velike varijabilnosti virusa i stalne pojave novih virulentnih sojeva, pre ili kasnije dolazi do smanjene efikasnosti otpornosti.

ZAKLJUČAK

Iako je kontrola virusa duvana i oboljenja koja izazivaju veoma složena, ipak postoji niz načina da zaštita duvana od virusa bude efikasna. Uspešno sprovođenje mera kontrole podrazumeva dobro razumevanje biologije i epidemiologije virusa. Čitav niz potrebnih preventivnih mera vezan je, pre svega, za načine primarnog i sekundarnog širenja virusa. Zbog toga je neophodno poznavanje osnovnih karakteristika virusa, izvora inokuluma i načina širenja virusa u prirodi.

Idealan način kontrolisanja mozaičnog oboljenja duvana, koje prouzrokuje virus mozaika duvana, je korišćenje otpornih kultivara. Osim toga, precizno sprovođenje sanitarnih mera neophodno je radi sprečavanja primarnog širenja virusa, odnosno unošenja virusa u usev u polju i spečavanja sekundarnog širenja virusa, ako su naponi da se spreči unošenje virusa u usev neuspešni. U slučajevima gde je mozaik duvana česta pojava, treba pažljivo razmotriti i mogućnost plodoređa. Novija istraživanja ukazuju na mogućnost korišćenja bioloških mera i transgenih biljaka otpornih na virus mozaika duvana.

Kada se sagleda obim problema koji virusi duvana prouzrokuju, jasno je da je neophodan integralni i kontinuirani program zaštite duvana. To je jedino izvodljivo kada se uključe svi dostupni, a brojni i raznoliki elementi kontrolnih mera.

LITERATURA

- Aycock, M. K. Jr., McKee, C.G. (1995): Registration of MD40 tobacco. *Crop Science*, 35: 1207.
- Berenji, J., Sikora, V. (2002): Stanje i perspektive u proizvodnji, obradi i preradi duvana u Jugoslaviji. *Biljni lekar* 30(5): 368-375.
- Berenji, J., Atlagić, J., Škorić, D., Kovačev, L., Miladinović, J., Marinković, R., Marjanović-Jeromela, A., Sikora, V. (2003): Genetički resursi industrijskog bilja. *Bilten Jugoslovenske Inženjerske Akademije Beograd* 1: 17-20.
- Bin, Lu., Taraporewala, F. F., Stubbs, G., Culver, J.N. (1998): Intersubunit interactions allowing a carboxylate mutant coat protein to inhibit tobamovirus disassembly. *Virology*, 1: 13-19.
- CAB International (2000): *Crop Protection Compendium*. Wallingford, UK: CAB INTERNATIONAL.
- Cooper, B., Lapidot, M., Heick, J. A., Dodds, J. A., Beachy, R. N. (1995): A defective movement protein of TMV in transgenic plants confers resistance to multiple viruses whereas the functional analog increases susceptibility. *Virology*, 206: 307-313.

- Donson, J., Kearney, C. M., Turpen, T. H., Khan, I. A., Kurath, G., Turpen, A. M., Jones, G. E., Dawson, W. O., Lewandowski, D. J. (1993): Broad resistance to tobamoviruses is mediated by a modified tobacco mosaic virus replicase transgene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 6(5): 635-642.
- Gao, Z. L., Qian, Y. M., Wang, Z. G. (1994): Evaluation for losses caused by the mosaic virus diseases in tobacco. *Acta Phytopythologica Sinica*, 21(3):261-264.
- Holmes, F. O. (1938): Inheritance of resistance to tobacco mosaic disease in tobacco. *Phytopathology*, 28: 553-561.
- Jasnić, S., Bagi, F., Berenji, J., Jelinčić, K., Mumović, J. (2000): Rasprostranjenost viroza duvana u Vojvodini. *Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, Novi Sad, 34: 67-76.
- Matthews, R. E. F. (1992): *Fundamentals of plants virology*. Avademic Press, Inc. San Diego.
- Melton, T. A. (2004): Control of tobacco mosaic virus on flue-cured tobacco. <http://www.ces.ncsu.edu/depts/pp/notes/oldnotes/tb1.-htm>
- Mickovski, J. (1965): Prilog poznavanja viroza duvana u SR Makedoniji. *Doktorska disertacija*, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Mickovski, J. (1969): Tomato spotted wilt virus na duvanu u Jugoslaviji (*Lycopersicum virus 3-Smith*). *Zaštita bilja*, 105: 203-214.
- Nelson, A., Roth, D. A., Johnson, J. D. (1993): Tobacco mosaic virus infection of transgenic *Nicotiana tabacum* plants is inhibited by antisense constructs directed at the 5' region of viral RNA. *Gene*, 127(2): 227-232.
- Nesmith, W. (2004): Consideration for disease control in tobacco transplant production systems-2000 crop. <http://www.uky.edu/Agriculture/kpn/kyblu04/relate/rtd0002.htm>
- Nielsen, M. T., Kennedy, B. S. (1994): Registration of KY 907 burley tobacco. *Crop Science*, 34: 1410.
- Patel, K. A., Patel, B.N. (1995): Effect of tobacco mosaic virus and root-knot nematode infection on chemical constituents of bidi tobacco. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, 25: 228-230.
- Piccirillo, P., Diana, G. (1991): Prevenire la diffusione del virus del mosaico del tabacco (TMV) su tabacco burley in Campania. *Informatore Agrario*, 24: 76-78.
- Powell Abel, P., Nelson, R. S., De, B., Hoffman, N., Rogers, S. G., Fraley, R. T., Bichy, R. (1986): Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus protein gene. *Science* 232: 738-743.
- Reimann-Philipp, U., Beachy, R. N. (1993): The mechanism(s) of coat protein-mediated resistance against tobacco mosaic virus. *Seminars in Virology*, 4(6): 349-356.
- Shew, H. D., Lucas, G. B. (1991): *Compendium of Tobacco Diseases*. APS Press.
- Šutić, D. (1995): *Viroze biljaka*. Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd.
- Uzunoski, M. (1987): *Proizvodnja duvana*. Fond duvana i duvanskih preradevina. Beograd.
- Valverde, R. A., Heick, J. A., Dodds, J. A. (1991): Interactions between satellite tobacco mosaic virus, helper tobamoviruses, and their hosts. *Phytopathology*, 81(1): 99-104.

- Voss, A., Niersbach, M., Hain, .R, Hirsch, H. J., Liao, Y. C., Kreuzaler, F., Fischer, R. (1995): Reduced virus infectivity in *N. tabacum* secreting a TMV-specific full-size antibody. *Molecular Breeding*, 1: 39-50.
- Ward, E. R., Uknes, S. J., Williams, S. C., Dincher, S. S., Wiederhold, D. L., Alexander, D. C., Ahl-Goy, P., Mettraux, J. P., Ryals, J. A. (1991): Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell*, 3(10): 1085-1094.

GENERAL PRINCIPLES OF TOBACCO VIRUS DISEASES MENAGEMENT WITH SPECIAL REFERENCE TO TOBACCO MOSAIC VIRUS

Krstić, B.¹, Vico, I.¹, Berenji, J.², Dukić, N.¹, Bulajić, A.¹

¹Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia and Montenegro

²Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Serbia and Montenegro

SUMMARY

Tobacco can be infected with a large number of viruses and some of them are of great economic importance. Since the control of virus diseases is very complicated it makes the significance of tobacco viruses even greater. Although there are no direct chemical measures against viruses and there are no possibilities to cure diseased plants, it is still possible to control the diseases efficiently. In this respect good knowledge of biology and epidemiology of viruses is essential. There is a whole set of measures, mostly preventive, in connection with the primary and secondary means of virus spread. That is why it is important to know basic virus characteristics, inoculum sources and the ways of transmission of viruses in nature described in this paper. Even though the choice of control strategy depends on the specific virus, there are some general principles shown in this article.

The paper specially focuses on tobacco mosaic virus as the most important virus disease of tobacco in our environment. All sanitary measures which have to be strictly conducted in transplant and crop production have been specified. Significance of the use of resistant cultivars and efficient crop rotation were stressed. The possibilities of biological control measures as well as development of molecular strategies which result in transgenic tobacco plants resistant to tobacco mosaic virus, have also been demonstrated.

KEY WORDS: tobacco, tobacco virus diseases, tobacco mosaic virus, control measures