



Prisustvo i rasprostranjenost virusa paprike u Srbiji

Dragana Petrović · Aleksandra Bulajić · Ivana Stanković ·
Maja Ignjatov · Milka Vujaković · Branka Krstić

primljeno / received: 16.04.2010. prihvaćeno / accepted: 24.05.2010.
© 2010 IFVC

Izvod: Virusne bolesti paprike mogu ugroziti normalan razvoj biljaka i time značajno umanjiti prinos i kvalitet plodova. U svetu je opisano više od 45 virusa infektivnih za papriku, među kojima su ekonomski najznačajniji virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), virus mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV), virus mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*, AMV), virus bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) i virus crtičastog mozaika krompira (*Potato virus Y*, PVY). Prisustvo i rasprostranjenost virusnih zaraza paprike u Srbiji ispitivani su tokom 2009. u različitim lokalitetima proizvodnje rasada, kao i useva paprike gajene u zaštićenom prostoru i na otvorenom polju. Sakupljeni uzorci lišća sa simptomima testirani su DAS-ELISA metodom na prisustvo: PVY, AMV, CMV, TSWV, TMV i virusa mozaika krompira (*Potato virus X*, PVX). Dobijeni rezultati ispitivanja su ukazali na prisustvo četiri virusa: PVY, CMV, TSWV i AMV, koji su identifikovani u pojedinačnim ili mešanim infekcijama. U testiranim uzorcima paprike iz rasada najzastupljeniji je bio CMV (18,18%), dok je u uzorcima prikupljenim iz plastenika i polja najčešći bio PVY (32,56% i 51,21%). Prisustvo TSWV dokazano je samo na biljkama paprike gajenim u zaštićenom prostoru. Prisustvo PVX i TMV nije ustanovljeno ni u jednom ispitivanom uzorku paprike. Utvrđena značajna rasprostranjenost i zastupljenost PVY i CMV u proizvodnji paprike u Srbiji ukazuje na potrebu detaljne karakterizacije ova dva virusa na biološkom i molekularnom nivou, kao i sprovođenje odgovarajućih mera kontrole.

Gljučne reči: DAS-ELISA test, paprika, virus bronzavosti paradajza, virus crtičastog mozaika krompira, virus mozaika krastavca, virus mozaika lucerke

Uvod

Paprika (*Capsicum annuum* L.) ima veliki privredni značaj u Srbiji, ubraja se u grupu najznačajnijih povrtarskih useva i gaji se na oko 20.000 ha (Gvozdenović i sar. 2008), kako u zaštićenom prostoru tako i na otvorenom polju. Sa ekonomskog stanovišta, proizvodnja, prerada i međunarodna razmena, prvenstveno suve i sveže, ali i industrijske začinske paprike, slatke i ljute, čini ovu kulturu jednim od najznačajnijih useva povrća i 2004. ukupno je izvezeno proizvoda u vrednosti preko 1 miliona USD (izvor SIEPA 2005).

Brojne biljne bolesti mogu da smanje ili ugroze uspešnu proizvodnju ometajući normalan razvoj biljke i umanjujući prinos i kvalitet plodova. Biljni virusi prouzrokuju značajne štete na paprici, tako da gubici često dostižu 90% (Krstić & Bulajić 2008).

Zbog značajnih šteta koje često prouzrokuju, viroze paprike su predmet proučavanja mnogih autora u svetu (Marchoux et al. 1991, Arli-Sokmen et al. 2005, Choi et al. 2005, Ozaslan et al. 2006). Utvrđeno je da više od 45 različitih virusa može da zarazi papriku, ali se smatra da je među njima svega nekoliko ekonomski značajno (Green & Kim 1990). Neki virusi su široko rasprostranjeni, kao što su virus mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV), virus mozaika duvana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), virus crtičastog mozaika krompira (*Potato virus Y*, PVY) i virus mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus*, AMV), dok su drugi još uvek vezani samo za određena geografska područja (*Begomovirusi*) (Krstić & Bulajić 2008). Međutim, situacija se vremenom menja, a najbolji primer za to je virus bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), koji se ranije češće javljao u subtropskim i tropskim regionima, a danas je opšte rasprostranjen

D. Petrović (✉) · M. Ignjatov · M. Vujaković
Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija
e-mail: dragana.petrovic@ifvens.ns.ac.rs

A. Bulajić · I. Stanković · B. Krstić
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, Institut za fitomedicina, Nemanjina 6, 11080 Beograd - Zemun, Srbija

Ovo istraživanje je deo projekta broj 20077: *Stvaranje i korišćenje sorata i hibrida povrća za otvoreno polje* (2008-2011), finansiranog od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj, Republike Srbije / This research results from the project 20077: *Development and utilization of vegetable varieties and hybrids for field production*, financed by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia

u svetu, a kod nas je takođe detektovan na brojnim domaćinima, uključujući i papriku (Krstić & Bulajić 2007).

Virusi na paprici nisu dovoljno proučeni iako se kod nas javljaju svake godine, a pojedinih godina mogu da izazovu epidemije. U Srbiji su prva proučavanja virusa paprike bila vezana za TMV (Panjan & Prpić 1955), CMV i AMV (Šutić 1959, Delević 1963). Kasnijim ispitivanjima utvrđeno je i prisustvo sledećih virusa: TSWV, PVY, virusa blagog šarenila paprike (*Pepper mild mottle virus*, PMMoV), virusa šarenila paprike (*Pepper mottle virus*, PepMV) i virusa šarenila nerava paprike (*Pepper vein mottle virus*, PVMV) (Mijatović 1986, Mijatović i sar. 1999, Mijatović i sar. 2002, Mijatović i sar. 2007). Poslednja tri virusa se javljaju sporadično, dok su ostali navedeni virusi ekonomski značajni (Mijatović i sar. 2007, Krstić & Bulajić 2008). Istraživanja sprovedena 2007. na devet lokaliteta gajenja paprike u Srbiji potvrdila su prisustvo virusa iz dve osnovne grupacije: karantinski (TSWV) i ekonomski štetni (CMV, AMV i TMV) (Tomić i sar. 2007). Pojava TMV izaziva smanjenje prinosa paprike i do 80% (Mijatović i sar. 2007), dok je u slučaju pojave virusnih zaraza prouzrokovanih sa PVY i CMV utvrđeno smanjenje prinosa do 50% (Mnari-Hattab et al. 1999).

S obzirom da virusi svake godine smanjuju prinos i kvalitet paprike u Srbiji, a pojedinih se godina javljaju u epidemijskim razmerama, praćenje prisustva, učestalosti i rasprostranjenosti pojedinih virusa značajno je za izbor i sprovođenje adekvatnih mera kontrole u proizvodnji paprike.

Materijal i metod rada

Sakupljanje uzoraka paprike

U cilju utvrđivanja prisustva, rasprostranjenosti i učestalosti virusa paprike u Srbiji tokom 2009. pregledano je 15 različitih lokaliteta rasadničke proizvodnje paprike (Tab. 1), 15 plasteničke proizvodnje (Tab. 2) i 16 lokaliteta proizvodnje paprike na otvorenom polju (Tab. 3). Prilikom pregleda sakupljeno je ukupno 457 uzoraka paprike različitih sorti, sa simptomima koji su ukazivali na virusnu zarazu. Od ukupnog broja prikuljenih uzoraka, 121 uzorak je poreklom iz rasada paprike, 129 iz plasteničke proizvodnje, a 207 uzoraka je iz proizvodnje paprike u polju. Svaki uzorak se sastojao od više listova sa simptomima sa jedne biljke. Prilikom pregleda i sakupljanja uzoraka paprike, registrovan je tip i vrsta simptoma za dalju analizu povezanosti ispoljenih simptoma sa vrstom virusa koji je dokazan primenom seroloških metoda.

Direktna imunoenzimska metoda na ploči (DAS-ELISA)

Prikupljeni uzorci paprike sa simptomima koji su ukazivali na virusne zaraze testirani su DAS-ELISA metodom (Clark & Adams 1977) primenom komercijalnih poliklonalnih antiseruma specifičnih za detekciju šest najznačajnijih virusa paprike: AMV, PVY, CMV, TSWV, TMV i PVX prema uputstvu proizvođača (Loewe Biochemica GmbH, Nemačka). Uzorci su pripremani homogenizacijom biljnog materijala u ekstrakcionom puferu u razređenju 1:20. Specifična poliklonalna antitela i poliklonalna antitela konjugovana sa akalnom fosfatazom korišćena su u razređenju 1:200 u odgovarajućem puferu. Jedan čas po davanju supstrata p-nitrofenil fosfata (1 mg ml⁻¹), reakcija je očitavana merenjem apsorpcije na 405 nm. Pozitivnom reakcijom ocenjujane su vrednosti ekstinkcije koje su dva i više puta veće od vrednosti ekstinkcije negativnih kontrola.

Rezultati i diskusija

Simptomi u polju

Pregledom proizvodnje rasada i useva paprike u različitim lokalitetima gajenja u zaštićenom prostoru i u polju, utvrđena je pojava niza simptoma koji su upućivali na virusnu zarazu i koji su varirali u zavisnosti od biljke domaćina, vremena ostvarene infekcije i vrste virusa.

Simptomi na biljkama u rasadu bili su slabo izraženi, usled čega obolele biljke nisu mogle sa sigurnošću biti razlikovane od zdravih. Ipak, tokom ovih istraživanja, na određenom broju biljaka uočeni su simptomi u vidu blagog mozaika i hloroze lišća, nekrotičnih lezija kao i različite deformacije liske.

Pregledom useva paprike i u zaštićenom prostoru i na otvorenom polju zabeležena je pojava biljaka koje su često zaostajale u porastu i usled skraćivanja internodija poprimale žbunast izgled. Osim promena opšteg izgleda biljaka simptomi su se manifestovali i u vidu hromatskih i morfoloških promena na listovima i plodovima. Lišće obolelih biljaka bilo je sitnije, slabo naborano, često sa različitim tipovima mozaika, od blagog do jako izraženog, sa mozaičnim šarama žućkaste boje i hlorotičnim površinama koje kasnije zahvataju ceo list. Hlorotične promene često su bile praćene pojavom izumiranja tkiva, uglavnom u vidu nekroze nerava lista i nekrotičnih pega na stablu. Na plodovima, koji su bili krhli, deformisani i sa nekrozom površinskog tkiva, često su bile prisutne i linearne beličaste

ili žučkaste pruge i prošaravanja. Simptomi uočeni tokom ovih istraživanja u saglasnosti su sa ranije opisanim simptomima na paprici u našoj zemlji (Krstić & Bulajić 2008, Mijatović i sar. 2007, Tomić i sar. 2007). Ipak, simptomi na inficiranim biljkama često mogu ličiti na one prouzrokovane gljivama ili bakterijama, oštećenjima od herbicida, zagađenja vazduha ili mineralnih nedostataka, tako da dijagnostika viroza u usevu paprike ne može da se obavlja samo na osnovu simptoma (Ozaslan et al. 2006).

Serološka detekcija virusa

Ispitivanjima 121 uzorka sa različitih lokaliteta proizvodnje rasada paprike ustanovljeno je prisustvo tri virusa CMV, PVY i AMV, koji se prenose vašima na neperzistentan način u 23,97%

uzoraka, dok u 76,03% testiranih uzoraka nije utvrđeno prisustvo nijednog od ispitivanih virusa. Visok procenat biljaka u kojima nije dokazano prisustvo virusa, uprkos ustanovljenim simptomima, ukazali su na mogućnost zaraze rasada virusima koji nisu bili uključeni u istraživanja ili su simptomi posledica nekih drugih faktora. Najzastupljeniji virus CMV bio je detektovan u 18,18% testiranih uzoraka, zatim sledi PVY (3,31%), dok je prisustvo AMV utvrđeno samo kod izuzetno malog broja uzoraka (2,48%) (Tab. 1). Svi detektovani virusi bili su zastupljeni isključivo u pojedinačnoj zarazi. Prisustvo TSWV, PVX i TMV nije ustanovljeno ni u jednom od ispitivanih uzoraka. Rezultati testiranja paprike u rasadu takođe ukazuju na nizak procenat, ili odsustvo, virusa koji se prenose semenom paprike, kakvi su TMV i AMV.

Tabela 1. Prisustvo i procentualna zastupljenost virusa paprike u rasadničkoj proizvodnji
Table 1. Presence and percentage of incidence of pepper viruses in transplant production

Lokaliteti Localities	PVY	CMV	AMV	Uzorci bez prisustva testiranih virusa
				The samples without tested viruses
Bačka Palanka	0/6* 0%	2/6 33,33%	0/6 0%	4/6 66,67%
Obrovac	0/7 0%	1/7 14,29%	0/7 0%	6/7 85,71%
Veternik	2/6 33,33%	0/6 0%	0/6 0%	4/6 66,67%
Kruševac I	0/7 0%	0/7 0%	0/7 0%	7/7 100%
Kruševac II	0/7 0%	0/7 0%	0/7 0%	7/7 100%
Srbobran	0/5 0%	0/5 0%	2/5 40,00%	3/5 60,00%
Kula	1/4 25,00%	1/4 25,00%	0/4 0%	2/4 50,00%
Ruma	0/10 0%	1/10 10,00%	1/10 10,00%	8/10 80,00%
Đurđevo	0/10 0%	2/10 20,00%	0/10 0%	8/10 80%
Žabalj	0/8 0%	1/8 12,50%	0/8 0%	7/8 87,50%
Pivnice	0/14 0%	3/14 21,43%	0/14 0%	11/14 78,57%
Gospodinci	0/8 0%	1/8 12,50	0/8 0%	7/8 87,50%
Rimski Šančevi	0/13 0%	0/13 0%	0/13 0%	13/13 100%
Aleksinac	0/13 0%	10/13 76,92%	0/13 0%	3/13 23,08%
Šabac	1/3 33,33%	0/3 0%	0/3 0%	2/3 66,67%
UKUPNO Total	4/121 3,31%	22/121 18,18%	3/121 2,48%	92/121 76,03%

* Broj zaraženih biljaka / broj testiranih biljaka

* number of infected plants / number of tested plants

Ispitivanjem 129 uzoraka paprike sakupljenih na 15 različitih lokaliteta proizvodnje paprike u zaštićenom prostoru ustanovljeno je prisustvo virusa u 86,82% uzoraka. Detektovana su četiri virusa: PVY, CMV, AMV i TSWV, od kojih se prva tri prenose vašima na neperzistentan način, a TSWV tripsima. Prisustvo navedenih virusa detektovano je sa relativno ujednačenom učestalošću. Najzastupljeniji virus, u pojedinačnim ili mešanim zarazama, bio je PVY (32,56%), zatim CMV (31,01%) i TSWV (23,26%), dok je AMV detektovan u nešto manjem broju uzoraka (17,05%) (Tab. 2). Kod najvećeg broja uzoraka utvrđena je pojedinačna zaraza sa TSWV (23,26%). Kod 17,05% testiranih uzoraka detektovana je pojedinačna zaraza sa PVY ili CMV, a kod 12,40% pojedinačna zaraza sa AMV. Mešana zaraza sa PVY i CMV je detektovana u 12,40% uzoraka, dok je zaraza sa PVY i AMV, kao i CMV i AMV detektovana u malom broju testiranih uzoraka, u 3,10% odnosno 1,55%. Kod 13,18% uzoraka nije utvrđeno prisustvo nijednog od ispitivanih virusa, mada su simptomi bili tipični za virusne zaraze, što može ukazivati na prisustvo drugih virusa koji nisu uključeni u ispitivanja. Prisustvo TMV i PVX nije dokazano ni u jednom testiranom uzorku.

U usevima paprike gajenim na otvorenom polju, od ukupno testiranih 207 uzoraka sa simptomima (Tab. 3), ustanovljeno je prisustvo virusa u 83,09% uzoraka, i to dominantno prisustvo PVY (51,21%) u pojedinačnim i mešanim zarazama, za kojim slede CMV (37,20%) i AMV (21,74%). U pogledu pojedinačnih zaraza, najzastupljenije su bile zaraze sa PVY (26,57%), a zatim pojedinačne zaraze sa CMV ili AMV (15,46%). U pogledu mešanih zaraza, detektovane su zaraze sa dva ili tri virusa. Najčešće je detektovana mešana zaraza sa dva virusa i to PVY i CMV (19,32%), dok su ostale mešane zaraze dokazane u relativno malom broju uzoraka, PVY i AMV (3,86%), CMV i AMV (0,97%), a samo u tri od 207 uzoraka (1,45%) mešana zaraza sa sva tri detektovana virusa. Kod 16,91% testiranih uzoraka nije utvrđeno prisustvo ispitivanih virusa, što je ukazalo na potrebu ispitivanja prisustva šireg kruga virusa infektivnih za papriku u budućim pregledima useva paprike u Srbiji. Prisustvo TMV, TSWV i PVX nije utvrđeno ni u jednom testiranom uzorku sa otvorenog polja.

Ispitivanjem prisustva i rasprostranjenosti virusa u usevu paprike u našoj zemlji utvrđeno je prisustvo četiri virusa: PVY, CMV, AMV i TSWV. Najčešće detektovan virus je PVY,

kako u usevu paprike gajene u zaštićenom prostoru tako i na otvorenom polju, dok je zaraza rasada bila značajno niža, sa dominantnim prisustvom CMV. Ovako dominantno prisustvo PVY u 2009. značajno se razlikuje u odnosu na 1999. kada je PVY bio treći po zastupljenosti (Mijatović i sar. 1999) i 2007. kada njegovo prisustvo nije ustanovljeno (Tomić i sar. 2007). Uporedna analiza zastupljenosti CMV u različitim godinama pokazuje njegovu stalnu visoku zastupljenost. U istraživanjima sprovedenim u ovom radu bio je drugi po zastupljenosti, dok je 1999. (Mijatović i sar. 1999) i 2007. (Tomić i sar. 2007) bio dominantan u usevu paprike. Ovako značajna zastupljenost CMV dokazana je i u drugim područjima gajenja paprike u svetu (Conti & Masenga 1977, Gaborjanyia et al. 1998, Sepulveda et al. 2005). Iako je AMV stalno prisutan u usevu paprike (Mijatović i sar. 1999, Tomić i sar. 2007), tokom 2009. dokazan je u manjem broju testiranih uzoraka. Značajno prisustvo TSWV (23,26%) na paprici gajenoj u zaštićenom prostoru nije neobično, imajući u vidu epidemiologiju ovog virusa. TSWV ima širok krug domaćina među povrćem i korovima, a efikasno se širi tripsima (Krstić & Bulajić 2007), za očekivati je da TSWV bude u daljoj ekspanziji na paprici, naročito u zaštićenom prostoru. U ispitivanim uzorcima paprike gajene i u zaštićenom prostoru i na otvorenom polju nije utvrđeno prisustvo TMV, mada su Mijatović i sar. (1999) kao i Tomić i sar. (2007) ustanovili da je ovaj virus prisutan i pojedinih godina veoma značajan na paprici. Analiza dobijenih rezultata ukazuje na tendenciju smanjenja značaja zaraze paprike sa TMV, verovatno usled dobrog zdravstvenog stanja semena ili dobro sprovedenih higijenskih mera u proizvodnom procesu gajenja paprike.

Lista virusa infektivnih za papriku stalno se proširuje, ne samo zbog pojave novih virusa, već i zbog nastanka novih patotipova/sojeva u okviru populacije pojedinih virusa. Pojava i rasprostranjenost većine vrsta virusa zavise od brojnih faktora, kao što su region i lokacija gajenja, vegetaciona sezona, genotip paprike i drugih. Proučavajući prisustvo virusa paprike u Italiji, Conti & Masenga (1977) su utvrdili dominantno prisustvo CMV u 80,2% biljaka paprike gajene na otvorenom prostoru, dok je u zaštićenom prostoru najzastupljeniji bio TMV sa 84%. Osim ovih virusa utvrđeno je prisustvo i PVY, AMV, PVX, *Broad bean wilt virus*, (BBWV) i *Tobacco rattle virus*, (TRV). Prema istraživanjima autora Gaborjanyia et al. (1998) najzastupljeniji virusi paprike u Mađarskoj su TMV, CMV, PVY, i TSWV, čije

Tabela 2. Prisustvo i procentualna zastupljenost virusa paprike u pojedinačnim i mešanim infekcijama u plasteničkoj proizvodnji
 Table 2. Presence and percentage of incidence of pepper viruses in single and mixed infections in greenhouse production

Lokalitet Locality	Pojedinačna zaraza Single infection				Mešana zaraza Mixed infection				Ukupna zaraza Total infection			
	TSVt	AMV	CMV	SV	SV+ AMV	CMV+ AMV	Bez testiranih virusa No tested viruses	TSVt	AMV	CMV	SV	Ukupna zaraza Total infection
Lukino Selo	10/10*	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Srbobran	0/10	0/10	0/10	8/10	0/10	0/10	2/10	0/10	0/10	0/10	0/10	8/10
Velika Plana	0/10	0/10	0/10	0/10	4/10	4/10	2/10	0/10	4/10	4/10	4/10	8/10
Trstenik	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Smederevo	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5
Kikinda	0/10	0/10	4/10	0/10	0/10	4/10	2/10	0/10	0/10	8/10	4/10	4/10
Đurđevo	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Selenča	0/15	4/15	0/15	5/15	0/15	0/15	6/15	0/15	0/15	0/15	4/15	5/15
Aleksinac	0/10	0/10	7/10	1/10	0/10	2/10	0/10	0/10	0/10	9/10	3/10	33,33%
Sivac	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5
Sombor	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Čačak	0/6	0/6	4/6	1/6	0/6	1/6	0/6	0/6	0/6	5/6	2/6	2/6
Pivnice	0/10	5/10	0/10	0/10	0/10	0/10	5/10	0/10	5/10	0/10	0/10	0/10
Žabalj	0/8	2/8	2/8	2/8	0/8	2/8	0/8	0/8	4/8	4/8	2/8	2/8
Veternik	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	5/5	5/5	5/5
Ukupno Total	30/129	16/129	22/129	22/129	4/129	16/129	17/129	30/129	22/129	40/129	42/129	42/129
	23,26%	12,40%	17,05%	17,05%	3,10%	12,40%	13,18%	23,26%	17,05%	31,01%	32,56%	32,56%

* broj zaraženih biljaka / broj testiranih biljaka

* number of infected plants / number of tested plants

Tabela 3. Prisustvo i procentualna zastupljenost virusa paprike u pojedinačnim i mešanim infekcijama u proizvodnji na otvorenom polju
 Table 3. Presence and percentage of incidence of pepper viruses in single and mixed infections in open field production

Lokalitet Locality	Pojedinačna zaraza Single infection			Mešana zaraza Mixed infection						Ukupna zaraza Total infection				
	AMV	CMV	PVY	PVY+	AMV+	CMV+	PVY+	AMV+	CMV+	PVY+	Bez testiranih virusa No tested viruses	AMV	CMV	PVY
Selenča	5/10*	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	5/10	5/10	0/10	0/10
	50,00%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	50,00%	50,00%	0%	0%
Velika Plana	3/15	7/15	0/15	0/15	2/15	2/15	0/15	0/15	0/15	0/15	3/15	5/15	9/15	0/15
	20,00%	46,67%	0%	0%	13,33%	13,33%	0%	0%	0%	0%	20,00%	33,33%	60,00%	0%
Horgoš I	6/10	0/10	2/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	2/10	6/10	0/10	2/10
	60,00%	0%	20,00%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	20,00%	60,00%	0%	20,00%
Ravno Selo	5/15	0/15	3/15	2/15	0/15	0/15	2/15	0/15	0/15	1/15	2/15	8/15	3/15	8/15
	33,33%	0%	20,00%	13,33%	0%	0%	13,33%	0%	0%	6,67%	0%	53,33%	20,00%	53,33%
Horgoš II	0/5	1/5	0/5	0/5	3/5	3/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	1/5	5/5	4/5
	0%	20,00%	0%	0%	60,00%	60,00%	0%	0%	0%	20,00%	0%	20,00%	100%	80,00%
Čonoplja	0/9	0/9	8/9	0/9	1/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	1/9	9/9
	0%	0%	88,89%	0%	11,1%	11,1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	11,1%	100%
Čačak	0/15	4/15	0/15	0/15	6/15	6/15	0/15	0/15	0/15	0/15	5/15	0/15	10/15	6/15
	0%	26,67%	0%	0%	40,00%	40,00%	0%	0%	0%	33,33%	33,33%	0%	66,67%	40,00%
Đurdexo	0/15	4/15	4/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	8/15	8/15
	0%	26,67%	26,67%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	20,00%	0%	53,33%	53,33%
Trstenik	0/10	4/10	4/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	2/10	0/10	4/10	4/10
	0%	40,00%	40,00%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	20,00%	0%	40,00%	40,00%
Bačka Palanka	3/15	0/15	8/15	2/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	2/15	5/15	0/15	10/15
	20,00%	0%	53,33%	13,33%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	13,33%	33,33%	0%	66,66%
Senta	5/20	3/20	7/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	5/20	5/20	3/20	7/20
	25,00%	15,00%	35,00%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	25,00%	25,00%	15,00%	35,00%
Kraljevo	0/15	0/15	8/15	0/15	4/15	4/15	0/15	0/15	0/15	0/15	3/15	0/15	4/15	12/15
	0%	0%	53,33%	0%	26,67%	26,67%	0%	0%	0%	0%	20,00%	0%	26,67%	80,00%
Smederevo	0/15	7/15	2/15	0/15	6/15	6/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	13/15	8/15
	0%	46,67%	13,33%	0%	40,00%	40,00%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	86,67%	53,33%
Indija	0/15	0/15	5/15	4/15	4/15	4/15	0/15	0/15	0/15	0/15	2/15	4/15	4/15	13/15
	0%	0%	33,33%	26,67%	26,67%	26,67%	0%	0%	0%	0%	13,33%	26,67%	26,67%	86,67%
Aleksinac	5/14	2/14	2/14	0/14	4/14	4/14	0/14	0/14	0/14	0/14	1/14	5/14	6/14	6/14
	35,71%	14,29%	14,29%	0%	28,57%	28,57%	0%	0%	0%	0%	7,14%	35,71%	42,86%	42,86%
Veternik	0/9	0/9	2/9	0/9	6/9	6/9	0/9	0/9	0/9	1/9	0/9	1/9	7/9	9/9
	0%	0%	22,22%	0%	6,67%	6,67%	0%	0%	0%	11,11%	0%	11,11%	77,78%	100%
Ukupno	32/207	32/207	55/207	8/207	40/207	40/207	2/207	2/207	2/207	3/207	35/207	45/207	77/207	106/207
Total	15,46%	15,46%	26,57%	3,86%	19,32%	19,32%	0,97%	0,97%	0,97%	1,45%	16,91%	21,74%	37,20%	51,21%

* broj zaraženih biljaka / broj testiranih biljaka

* number of infected plants / number of tested plants

se infekcije kreću i do 100%. Prema podacima Kovačevskog (1977) (cit. prema Mijatović i sar. 1999) u Bugarskoj je inficiranost paprike sa CMV iznosila 80% do 90%, a u nešto manjem procentu su identifikovani TMV, TVY i TSWV. Sepulveda et al. (2005) su konstatovali da je oko 30% paprike u severnom Čileu inficirano sa dva ili više virusa od 7 utvrđenih: CMV, TSWV, AMV, PVY, *Impatiens Necrotic Spot Virus* (INSV), *Tomato mosaic virus* (ToMV) i TMV. Tokom istraživanja koja su sprovedena 1998. i 1999. u Turskoj, determinisano je šest virusa: AMV, CMV, PVY, ToMV, TMV i TSWV od kojih su TMV i PVY detektovani u 15,4% uzoraka u najzastupljenijoj mešanoj infekciji (Arlı-Sokmen et al. 2005).

Simptomi u polju i njihova povezanost sa detektovanim virusima

Iako je poznato da virusi paprike mogu da izazivaju veoma različite tipove simptoma u zavisnosti od starosti biljke, uslova spoljašnje sredine (naročito temperature), kao i u zavisnosti od soja virusa, ustanovljeno je postojanje izvesne veze između tipa simptoma i detektovanog virusa. Prisustvo PVY utvrđeno je u uzorcima paprike sa raznolikim simptomima, a najčešće u vidu hlorotičnog prosvetljavanja nerava, hlorotičnog prošaravanja listova sa ili bez deformacije mladih listova (Sl. 1), često praćeno

nekrozom listova, mozaikom u vidu hlorotičnih prstenova i sitnih tamno zelenih površina. Većina biljaka u kojima je dokazano prisustvo PVY bile su krhke i često žbunastog izgleda, što je upućivalo na rane zaraze u toku vegetacije. Simptomi koje izaziva PVY, uočeni u toku ovih istraživanja, u saglasnosti su sa navodima iz literature (Mijatović i sar. 2002). Verovatno nijedan drugi biljni patogen ne izaziva takav niz simptoma kao TSWV, a neke biljke ili sorte u usevu mogu biti zaražene i bez ispoljavanja simptoma (Kucharek et al. 2000). U ovim istraživanjima prisustvo TSWV ustanovljeno je u uzorcima paprike sa simptomima blagog do izraženog mozaika (Sl. 2). Na nekim biljkama pored mozaika primećena je i hloroza nerava. Krstić i sar. (2008) navode da se infekcija ovim virusom odlikuje simptomima žutila lišća i čitavih biljaka, mozaika sa koncentričnim prstenastim pegama ili hlorotičnim linijskim mozaikom na starijem lišću, sa čestom pojavom bronzane boje lišća. Slične simptome tipa mozaične prstenaste pegavosti i nekrotične prstenaste pegavosti navodi Rusevski (2001).

Prisustvo CMV utvrđeno je u uzorcima paprike sa izraženim simptomima mozaika i hlorotičnog prošaravanja. Karakteristično za biljke zaražene ovim virusom, uz navedene simptome, je i deformacija ili blaga klobučavost listova (Sl. 3). Krstić & Vico (2004) navode hlorotični mozaik kao početni simptom koji ovaj virus izaziva, dok se u kasnijim



Slika 1. PVY: Hlorotično prošaravanje, mozaik i prosvetljavanje nerava

Figure 1. PVY: Chlorotic mottling, mosaic and veinbanding



Slika 2. TSWV: Blagi mozaik na listovima
Figure 2. TSWV: Mild mosaic on the leaves



Slika 3. CMV: Mozaično prošaranje, deformacije i klobučavost listova
Figure 3. CMV: Mosaic mottling, malformation leaves that curl downward



Slika 4. AMV: Hlorotično prošaravanje i beličaste površine na listu
Figure 4. AMV: Chlorotic mottling and whitish patches on the leaves

fazama javljaju hlorotične pege nepravilnog oblika. Čest tip simptoma takođe je nekroza, do koje dolazi u kasnijim fazama razvoja mozaičnih šara i pega. Hlorotične lokalne lezije i sistemski mozaik takođe su karakteristični simptomi koje izaziva CMV (Ozaslan et al. 2006).

Na paprici zaraženoj virusom AMV najčešći simptomi su hlorotično beličaste pege različitog oblika i veličine koje se vremenom spajaju, tako da u nekim slučajevima zahvataju i čitave liske (Sl. 4). Nešto drugačiji, ali vrlo slični, simptomi su raste bele do žute tačkice koje mogu prekriti celu lisku. Simptomi na listovima paprike zaražene sa AMV uočeni tokom ovih istraživanja bili su slični simptomima koje navode Mijatović i sar. (2007).

Mešane zaraze sa dva ili više virusa najčešće su menjale tip kao i intezitet ispoljavanja simptoma usled sinergističkog delovanja. Izuzetak su biljke u kojima je konstatovana mešana zaraza sa PVY i AMV, koje su pokazivale simptome tipa hlorotičnog prošaravanja i šarenila listova najčešće praćene prisustvom žutih površina koje se često javljaju i pri pojedinačnim zarazama sa AMV. Mešana zaraza sa PVY i CMV odlikuje se kompleksnijom slikom simptoma, zbog čega simptomi gube dijagnostički značaj. Najčešći simptomi koji su se javljali na biljkama su hlorotično prošaravanje liske uz blagu ili

jaču deformaciju, žuto-zeleni mozaik, šarenilo listova, a na nekim biljkama javljale su se i sitne tamno zelene površine na liski uz blago kovrdžanje, dok je mešana infekcija AMV i CMV utvrđena kod biljka sa simptomima svetlo zelenih površina i deformacije listova. Mešana zaraza sa PVY, AMV i CMV uglavnom se ispoljavala simptomima hlorotičnog prošaravanja, deformacija i žuto-belih površina.

Kako su na paprici u našoj zemlji prisutna najmanje četiri virusa, u pojedinačnim i mešanim zarazama, uočeni simptomi i njihova veza sa virusom prouzročivačem imaju samo preliminarni dijagnostički značaj. Mada je u slučaju pojedinačnih zaraza paprike dijagnostički značaj uočenih simptoma veći, ipak postavljanje dijagnoze samo na osnovu simptomatologije nije moguće. Simptomi, koliko god bili izraženi i karakteristični, ipak samo ukazuju na postojanje zaraze određenim virusom, a pouzdana dijagnoza može se postaviti samo posle odgovarajućih laboratorijskih analiza.

Zaključci

Sprovedena ispitivanja prisustva virusa u značajnim proizvodnim područjima u Srbiji tokom 2009. pokazala su da od četiri detektovana virusa: PVY, CMV, TSWV i AMV, najzastupljeniji virusi paprike su PVY i CMV, kako u rasadu tako i u proizvodnji paprike u zaštićenom prostoru i polju, dok je AMV zastupljen u nešto manjem procentu. Prisustvo TSWV otkriveno je samo na paprici gajenoj u zaštićenom prostoru. Dobijeni rezultati ukazuju na značajno prisustvo virusa koji se prenose vašima na neperzistentan način u proizvodnji rasada paprike, komercijalnoj proizvodnji paprike u zaštićenom prostoru i na otvorenom polju, i na prisustvo TSWV u proizvodnji paprike u zaštićenom prostoru koji se prenosi tripsima. Zbog toga je neophodno uključiti odgovarajuće integralne mere kontrole virusnih zaraza u proizvodnji paprike, koje obuhvataju i kontrolu vektora detektovanih virusa, biljnih vaši i tripsa, pored primene drugih preventivnih i sanitarnih mera.

Literatura

- Arlı-Sokmen M, Mennan H, Sevik M A, Ecevit O (2005): Occurrence of viruses in field-grown pepper crops and some of their reservoir weed hosts in Samsun, Turkey. *Phytopar.* 33: 347-358
- Clark M F and Adams A N (1977): Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen.Virol.* 34: 475-483
- Choi S G, Kim H J, Lee H D, Kim S J, Ryu H K (2005): Occurrence and distribution of viruses infecting pepper in Korea. *J. Plant Pathol.* 21: 258-261
- Conti M, Masenga V (1977): Identification and prevalence of pepper viruses in northwest Italy. *Phitopath. Z.* 90: 212-222

- Delević B (1963): Viroze paprika u SR Srbiji. *Zaštita bilja* 74: 347-437
- Gaborjanyi R, Horvath J, Kovacs J, Kazinczi G (1998): Role of viruses in pepper decline in Hungary. Xth Eucarpia meeting on Capsicum and Eggplant, Avignon, France, 129-132
- Green S K, Kim J S (1990): Characteristics and control of viruses infecting peppers. Technical Bulletin No. 18. Asian Vegetable Research and Development Center, 1-60
- Gvozdenović Đ, Bugarski D, Gvozdanović-Varga J, Vasić M, Čevrenski J, Takač A i Jovičić D (2008): Doprinosi naprednjenju povrtarske proizvodnje za 70 godina rada Instituta za ratarstvo i povrtarstvo. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* 45: 113-129
- Krstić B, Bulajić A (2007): Karantinski virusi povrća i ukrasnih biljaka u zaštićenom prostoru. Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet i Ministarstvo poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva, Beograd
- Krstić B, Bulajić A (2008): Ekonomski značajni i karantinski virusi paprike u Srbiji. *Zbornik radova IX Savetovanja "Savremena proizvodnja povrća"*, Novi Sad, 24-28
- Krstić B, Bulajić A, Đekić I, Berenji J (2008): Virus bronzavosti paradajza –jedan od najdestruktivnijih biljnih virusa. *Pesticidi i fitomedicina* 23: 153-166
- Krstić B, Vico I (2004): Pregled dosadašnjih saznanja o virusu mozaika krastavca. *Biljni lekar* 32: 459-467
- Kucharek T, Brown L, Johnson F, Funderburk J (2000): *Tomato Spotted Wilt Virus* of Agronomic, Vegetable, and Ornamental Crops, Plant Pathology Fact Sheet
- Marchoux G, Gebre-Selassie K, Villeveuille M (1991): Detection of tomato spotted wilt virus and transmission by *Frankliniella occidentalis* in France. *Plant Pathol.* 40: 347-351
- Mijatović M (1986): Reakcija nekih sorata paprika prema virusu mozaika duvana. *Magistarska teza*. Poljoprivredni fakultet, Beograd
- Mijatović M, Obradović A, Ivanović M, Stevanović D (1999): Rasprostranjenost i intenzitet pojave nekih virusa parazita paprika u Srbiji. *Zaštita bilja* 50: 151-159
- Mijatović M, Ivanović M, Obradović A, Zečević B (2002): *Potato Virus Y (PVY) on Pepper in Serbia*. Proc. 2nd Balkan Symposium on Vegetable and Potatoes. *Acta Horti.* 579: 545-549
- Mijatović M, Obradović A, Ivanović M (2007): *Zaštita povrća*. AgroMivas, Smederevska Palanka
- Mnari-Hattab M, Ezzaier K, Gebre-Selassie K, Marchoux G and Gognalon P (1999): Surveys of viruses affecting pepper (*Capsicum annuum* L.) in Tunisia. Proceedings of the 7th International plant virus epidemiology symposium on Plant virus epidemiology: Current status and future prospects, Almeria, Spain, 143-144
- Ozaslan M, Bas B, Aytakin T, Sigirci Z (2006): Identification of Pepper viruses by Das-Elisa Assays in Gaziantep-Turkey. *J. Plant Pathol.* 5: 11-14
- Panjan M, Prpić Z (1955): O jednoj varijanti mozaika duhana izoliranog iz paprike. *Arhiv za poljoprivredne nauke* 19: 3-9
- Rusevski R (2001): Virus bronzavosti paradajza-patogen paprike u Makedoniji. *Doktorska disertacija*. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun
- Sepulveda P, Larrain P, Quiroz C, Rebufel P, Grana F (2005): Identification and incidence of pepper viruses in north central Chile and its association with vectors. *Agric. Tecnica* 65: 235-245
- SIEPA (2005): *Vegetable industry in Serbia*. Serbia Investment and Export Promotion Agency (SIEPA), Belgrade
- Šutić D (1959): Die Rolle des Paprikasamens bei der Virusübertragung-Phytopath. *Z.* 36: 84-93
- Tomić Đ, Jeremić S, Simić A, Petković N, Đekić I, Bulajić A, Krstić B (2007): Status viroza paprika u Srbiji. XIII Simpozijum sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, 107-108

Presence and Distribution of Pepper Viruses in Serbia

Dragana Petrović¹ · Aleksandra Bulajić² · Ivana Stanković² ·
Maja Ignjatov¹ · Milka Vujaković¹ · Branka Krstić²

¹Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Serbia

²Institute of Phytomedicine, Department of Phytopathology,

University of Belgrade - Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, 11080 Belgrade

Summary: Pepper is a very popular and profitable crop in Serbia and its production is growing rapidly as well as the importance of diseases caused by viruses. Virus infections interfere with development of pepper plants, reducing yield and fruit quality. More than 45 viruses have been isolated from pepper so far, and in our country the following are considered economically very important: *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) and *Potato virus Y* (PVY). During 2009, an investigation was conducted regarding the presence and distribution of pepper viruses in Serbia, which included a survey of different localities of transplant production, and both greenhouse and open field pepper crops. Collected samples were tested utilizing a double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) with polyclonal antisera specific for the detection of economically important pepper viruses: PVY, AMV, CMV, TSWV, TMV and *Potato virus X* (PVX). In the collected samples, presence of the four viruses (PVY, CMV, TSWV and AMV) was confirmed in single and mixed infections. In tested transplant samples, the most frequently detected virus was CMV (18.18%), while PVY was the most frequent in samples collected in greenhouse and open field pepper crops (32.56% and 51.21% respectively). The presence of TSWV was detected only in greenhouse-grown pepper crops, while the presence of PVX and TMV was not detected during this investigation. The obtained results indicated that PVY and CMV were widely distributed and the most frequent viruses in pepper crops in Serbia. Future investigation should include their detailed biological and molecular characterization, as well as the implementation of appropriate control measures in pepper productions.

Key words: *Alfalfa mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus*, DAS-ELISA test, pepper, *Potato virus Y*, *Tomato spotted wilt virus*