

Prisustvo i rasprostranjenost ekonomski značajnih virusa krompira u Crnoj Gori

Jelena Zindović

Univerzitet Crne Gore, Biotehnički fakultet, Mihajla Lalića 1, 81000 Podgorica, Crna Gora (jelenazindovic@yahoo.com)

*Primljen: 2. aprila 2011.
Prihvaćen: 11. maja 2011.*

REZIME

U periodu od 2002. do 2004. godine obavljena su ispitivanja u cilju inventarizacije virusa krompira na 12 različitih lokaliteta i kod 9 različitih sorti krompira u Crnoj Gori. Istraživanja su obuhvatila sakupljanje uzoraka u usevima semenskog krompira i testiranje na prisustvo šest ekonomski značajnih virusa krompira: virus uvijenosti lišća krompira (*Potato leaf roll virus*, PLRV), virus crtičastog mozaika krompira ili Y virus krompira (*Potato virus Y*, PVY), virus mozaika krompira ili X virus krompira (*Potato virus X*, PVX), S virus krompira (*Potato virus S*, PVS), A virus krompira (*Potato virus A*, PVA) i M virus krompira (*Potato virus M*, PVM). Primenom imunoenzimske metode na ploči (DAS-ELISA) i korišćenjem komercijalnih antiseruma za šest virusa krompira, utvrđeno je dominantno prisustvo PVY tokom sve tri godine ispitivanja. Drugi po zastupljenosti bio je PVS, zatim PVA, PLRV, PVM i PVX. U testiranim uzorcima detektovano je prisustvo i pojedinačnih i mešovutih infekcija, pri čemu je udeo pojedinačnih, među kojima PVY zaraza, u ukupnom broju testiranih uzoraka bio dominantan. Takođe, utvrđeno je da je PVY bio najrašireniji virus u periodu od 2002. do 2004. godine, kao i da je broj ispitivanih virusa varirao po lokalitetima i sortama.

Dalja istraživanja odnosila su se na detaljnu karakterizaciju PVY kao najzastupljenijeg i istovremeno ekonomski najznačajnijeg virusa krompira. U cilju serološke karakterizacije PVY korišćena je DAS-ELISA metoda i monoklonalna antitela specifična za detekciju tri grupe sojeva ovog virusa i tom prilikom utvrđeno je prisustvo nekrotičnih (PVY^N/PVY^{NTN}) sojeva i običnog (PVY^O) soja. Nekrotični sojevi su bili prevalentni u 2002. i 2004. godini, dok je u 2003. godini veću zastupljenost u populaciji PVY imao obični soj. Crtičasti soj (PVY^C) nije dokazan ni u jednom ispitivanom uzorku tokom tri godine istraživanja.

Ključne reči: Krompir; virusi krompira; PVY^N/PVY^{NTN}, PVY^O; PVY^C; DAS-ELISA

UVOD

Krompir se u Crnoj Gori gaji na površini od oko 10000 ha, od čega na semensku proizvodnju otpada oko 120 ha, sa prosečnim godišnjim prinosom oko 12 t/ha (Statistički godišnjak CG, 2009), što je mnogo ispod evropskog proseka od oko 20 t/ha (Arends i Kus, 1999).

Štete u pogledu smanjenja prinosa i kvaliteta krompira prouzrokuju različite bolesti, štetočine i korovi. Prema Agrios-u (1997), ukupni prosečni gubici u svetu iznose 32,3%, pri čemu gubici prouzrokovani bolestima imaju najveći udeo (21,8%). Jedan od glavnih razloga ovakvih gubitaka je, po mišljenju mnogih autora (Hooker, 1987; Agrios, 1997; Milošević, 2009), korišćenje virusima zaraženog sadnog materijala.

Virusi su najznačajniji patogeni agensi koji su ozbiljna prepreka uspešnoj proizvodnji krompira. Njihov značaj se naročito ističe u programu sertifikacije semenskog krompira, gde kao najznačajniji činioci utiču i određuju njegov kvalitet. Osim što prouzrokuju destruktivna oboljenja i značajno smanjuju prinos krompira, viroze krompira utiču i na kvalitet krtola i njihov hemijski sastav (sadržaj suve materije i skroba) (Milošević i Stoiljković, 1998).

Prema podacima Mendoz-a i Sawyer-a (loc. cit Horvath i sar., 2004), krompir je domaćin oko 266 različitih prouzrokovala bolesti i štetočina, od kojih su 50 različite vrste virusa. U Evropi su opisane oko 22 vrste, od kojih je desetak ekonomski štetno (Hooker, 1987; Milošević, 1998). Programom sertifikacije semenskog krompira, šest virusa krompira izdvojeno je kao ekonomski značajno: virus uvijenosti lišća krompira (*Potato leafroll virus*, PLRV), virus crtičastog mozaika krompira ili Y virus krompira (*Potato virus Y*, PVY), virus mozaika krompira ili X virus krompira (*Potato virus X*, PVX), S virus krompira (*Potato virus S*, PVS), A virus krompira (*Potato virus A*, PVA) i M virus krompira (*Potato virus M*, PVM). Najznačajnija i najdestruktivnija oboljenja krompira izazivaju PLRV i PVY (De Bokx i Van der Want, 1987; Hooker, 1982; Šutić, 1995).

Do sada je u svetu opisan veći broj različitih sojeva PVY (Gray i sar., 2010). Obični soj PVY (PVY^O) na biljkama krompira prouzrokuje simptome nekroze, hlorotičnog šarenila, dok sekundarno zaražene biljke zaostaju u porastu, imaju kovrdžavo i naborano lišće. Na biljkama duvana ovaj soj prouzrokuje simptome hlorotičnog šarenila. Zaraze krompira crtičastim sojem (PVY^C) manifestuju se pojavom nekrotičnih pega i crtica, naboranosti i kovrdžavosti listova, dok nekrotični sojevi (PVY^N, PVY^{N^{TN}} i PVY^{N^{Wi}}) prouzrokuju na krompiru blaže simptome u odnosu na PVY^O i PVY^C.

Zaraze nekrotičnim sojevima, kod većine sorata krompira, prouzrokuju blago do srednje jako hlorotično šarenilo, dok na biljkama duvana prouzrokuju pojavu nekroza (Šutić, 1995; Milošević, 1998; Singh i sar., 2008).

Rasprostranjenost ovih sojeva je različita. Obični soj je široko rasprostranjen u svetu, nekrotični sojevi su prisutni u Evropi, Rusiji, Južnoj Americi, severozapadnom delu SAD, u nekim regionima Afrike, Japanu, dok je crtičasti soj otkriven u Australiji, Indiji i nekim regionima Evrope (Ohshima i sar., 2000; Crosslin i sar., 2002).

U cilju identifikacije i klasifikacije PVY izolata u genetičke sojeve, razvijene su i u primeni su različite laboratorijske metode. Primenom seroloških testova i monoklonalnih antitela moguće je odrediti pripadnost izolata nekoj od tri glavne grupe sojeva. Međutim, karakterizaciju nekrotičnih sojeva moguće je obaviti samo kombinovanom primenom bioloških, seroloških i/ili molekularnih testova. Pojava molekularnih tehnika i filogenetskih analiza omogućila je definisanje novih sojeva na osnovu razlika u nukleotidnim sekvencama različitih izolata PVY, kao i postojanje rekombinantnih izolata PVY (Singh i sar., 2008; Gray i sar., 2010).

Visok procenat virusnih zaraza koji je ugrozio proizvodnju semenskog krompira u mnogim zemljama u svetu (Fletcher, 1989; Chrazanowska, 1991; Singh, 1992; Mih i sar., 1995; Abou-Blanco-Ugroiti, 1998a, 1998b; Kerlan i sar., 1999; Kazusato i sar., 2000; Jawdah i sar., 2001; Crosslin i sar., 2002) i okruženju (Milošević, 1986, 1989, 1992; Šutić, 1995; Gavran-Starović, 1999; Starović i sar., 2001), kao i promene u populaciji PVY, ekonomski najznačajnijeg virusa krompira, usled njegovog epidemijškog širenja poslednjih decenija (LeRomancer i sar., 1994; Van der Heuvel i sar., 1994; Singh i sar. 2008; Gray i sar., 2010), ukazale su na neophodnost ispitivanja etiologije virusnih oboljenja krompira i u Crnoj Gori.

MATERIJAL I METODE

Sakupljanje uzoraka krompira

Zdravstveni pregledi semenskog krompira, u periodu od 2002. do 2004. godine, obuhvatili su pregled useva na 12 različitih lokaliteta u opštinama Bijelo Polje, Berane, Kolašin, Pljevlja i Plužine (Tabela 1), pri čemu su sakupljena 1352 uzorka lišća krompira za dalju analizu. Uzorci su pripadali nekoj od 9 različitih sorti krompira: Adora, Agria, Arnova, Arinda, Atlantic, Cleopatra, Desireé, Kennebec i Resy. Na uzorkovanim biljkama konstatovani su simptomi koji su upućivali na prisustvo virusnih zaraza, kao i određeni broj asimptomatičnih biljaka.

Tokom 2002. godine sakupljena su 564 uzorka sa tri različita lokaliteta u Crnoj Gori: Štitari (Berane), Vrućlja (Pljevlja) i Pišće (Plužine). Biljke su pripadale različitim sortama krompira: Agria, Desireé, Kennebec i Resy.

U 2003. godini u usevima semenskog krompira sakupljena su 192 uzorka na tri različita lokaliteta u opštini Kolašin: Lipovo, Rovačko Trebaljevo i Moračko Trebaljevo. Uzorci su pripadali sortama Agria, Arnova i Arinda.

U 2004. godini, zdravstvenim pregledima semenskog krompira u lokalitetima Gubavač (Bijelo Polje), Adrovići (Pljevlja), Bakovići, Drijanak (Kolašin), Lješnica (Berane) i Muratovica (Plužine), sakupljeno je 596 uzoraka pregledom useva sorti: Adora, Atlantic, Cleopatra, Desireé i Kennebec.

Direktna imunoenzimska metoda na ploči (DAS-ELISA)

Serološke analize sakupljenih uzoraka lišća krompira obuhvatile su primenu imunoenzimske metode na ploči (DAS-ELISA) uz korišćenje poliklonalnih antitela specifičnih za detekciju PLRV, PVX, PVS, PVA i PVM i serumskog monoklonalnog koktela za detekciju PVY (Bioreba AG, Switzerland), po protokolu koji su opisali Clark i Adams (1977). Specifična poliklonalna antitela i poliklonalna antitela konjugovana sa alkalnom fosfatizom korišćena su u razređenju 1:1000 u odgovarajućem puferu. Pozitivne i negativne kontrole obezbedene su od firme Bioreba AG (Switzerland).

Na osnovu seroloških analiza 1352 uzorka utvrđena je prisutnost i rasprostranjenost virusa krompira u Crnoj Gori, u periodu od 2002. do 2004. godine, po lokalitetima i sortama. Dalja istraživanja obuhvatila su serološku karakterizaciju virusa koji je bio najzastupljeniji i u tom cilju odabrano 127 uzoraka u kojima je dokazano prisustvo PVY, a koji su pripadali različitim lokalitetima i sortama krompira.



Slika 1. Simptomi mozaika

U cilju identifikacije različitih sojeva PVY (PVY^N/PVY^{NTN}, PVY^O i PVY^C), primenjen je DAS-ELISA test uz korišćenje komercijalnih monoklonalnih antitela specifičnih za detekciju nekrotičnih sojeva (PVY^N/PVY^{NTN}), PVY^C soja, kombinacija antitela za detekciju PVY^C i PVY^O soja (PVY^{O+C}), kao i antitela konjugovana sa alkalnom fosfatizom (Sasa, Scotland, UK). Specifična monoklonalna antitela i monoklonalna antitela konjugovana sa alkalnom fosfatizom korišćena su u različitim razređenjima u odgovarajućem puferu: 1:2000 za PVY^C soj i 1:4000 za PVY^N soj i PVY^{O+C} kombinaciju sojeva. Pozitivne kontrole za različite sojeve PVY obezbedene su od firme Sasa (Scotland, UK), dok je kao negativna kontrola korišćeno zdravo lišće test biljaka *Nicotiana tabacum* var. Samsun.

Svi uzorci su za serološko testiranje pripremljeni homogenizacijom biljnog materijala u ekstrakcijskom puferu, u odnosu 1:10. Svaki od uzoraka, kao i pozitivna i negativna kontrola, pipetirani su u po dva susedna bunarčića na pločici. Rezultati su očitavani spektrofotometrijski (Microplate Reader 680 – Biorad), merenjem apsorpcije pri talasnoj dužini od 405 nm. Pozitivnim su smatrani oni uzorci čija je vrednost apsorpcije bila dva ili više puta veća od vrednosti apsorpcije negativne kontrole.

REZULTATI

Simptomi na biljkama u polju

Prilikom vizuelnih pregleda biljaka u polju konstatovani su različiti simptomi: blagi do jaki mozaik (Slika 1), hlorotično šarenilo (Slika 2), uvijenost lišća (Slika 3), delimična ili potpuna nekroza nerava, nekroza lišća (Slika 4), nekroza stabla, naboranost lišća, „palma“ izgled biljke, itd.



Slika 2. Simptomi hlorotičnog šarenila



Slika 3. Simptomi uvijivosti lišća



Slika 4. Simptomi nekroze lišća

Serološka detekcija

Na osnovu seroloških analiza 1352 uzorka, sakupljena u periodu od 2002. do 2004. godine, utvrđeno je dominantno prisustvo PVY. U 2002. godini od ukupnog broja testiranih biljaka (564), 164 su bile zaražene PVY (29,08%). Procenat biljaka zaraženih PLRV i PVA iznosio je 1,77%, PVS 1,42%, PVX 0,35%, dok zaraze PVM nisu konstatovane (Tabela 1).

Tabela 1. Zastupljenost virusa krompira u pojedinačnim infekcijama tokom 2002, 2003. i 2004. godine u usevima semenskog krompira u Crnoj Gori

Godina	Lokalitet	Sorta	Procenat zaraze (broj zaraženih / broj testiranih biljaka)					
			PLRV	PVY	PVX	PVS	PVA	PVM
2002.	Berane (Štitari)	Kennebec	2,13% (2/94)	91,49% (86/94)	0% (0/94)	6,38% (6/94)	0% (0/94)	0% (0/94)
	Berane (Štitari)	Desiree	4,26% (4/94)	10,64% (10/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)
	Vrulja (Pljevlja)	Resy	0% (0/282)	22,34% (63/282)	0% (0/282)	0% (0/282)	0,71% (2/282)	0% (0/282)
	Plužine	Agria	4,26% (4/94)	5,32% (5/94)	2,13% (2/94)	2,13% (2/94)	8,51% (8/94)	0% (0/94)
ukupno u 2002.			1,77% (10/564)	29,08% (164/564)	0,35% (2/564)	1,42% (8/564)	1,77% (10/564)	0% (0/564)
2003.	Kolašin (Lipovo)	Arnova	0% (0/12)	41,67% (5/12)	0% (0/12)	0% (0/12)	0% (0/12)	0% (0/12)
	Kolašin (Lipovo)	Arinda	0% (0/9)	77,78% (7/9)	0% (0/9)	0% (0/9)	11,11% (1/9)	0% (0/9)
	Kolašin (Rovačko Trebaljevo)	Agria	10,84% (9/83)	21,69% (18/83)	0% (0/83)	2,41% (2/83)	20,48% (17/83)	2,41% (2/83)
	Kolašin (Moračko Trebaljevo)	Agria	2,27% (2/88)	13,64% (12/88)	0% (0/88)	0% (0/88)	12,55% (11/88)	0% (0/88)
ukupno u 2003.			5,73% (11/192)	21,88% (42/192)	0% (0/192)	1,04% (2/192)	15,1% (29/192)	1,04% (2/192)
2004.	Bijelo Polje (Gubavač)	Cleopatra	0% (0/92)	17,39% (16/92)	0% (0/92)	0% (0/92)	1,09% (1/92)	0% (0/92)
	Pljevlja (Adrovići)	Desiree	1,00% (1/100)	33,00% (33/100)	5,00% (5/100)	0% (0/100)	2,00% (2/100)	0% (0/100)
	Kolašin (Bakovići)	Kennebec	11,11% (1/9)	11,11% (1/9)	0% (0/9)	33,33% (3/9)	0% (0/9)	0% (0/9)
	Kolašin (Bakovići)	Adora	2,17% (1/46)	26,09% (12/46)	0% (0/46)	0% (0/46)	0% (0/46)	0% (0/46)
	Kolašin (Drijenak)	Kennebec	15,12% (13/86)	10,47% (9/86)	0% (0/86)	79,10% (68/86)	2,33% (2/86)	0% (0/86)
	Berane (Lješnica)	Cleopatra	0% (0/82)	13,41% (11/82)	0% (0/82)	0% (0/82)	2,44% (2/82)	1,22% (1/82)
	Berane (Lješnica)	Kennebec	0% (0/94)	14,89% (14/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)
	Plužine (Muratovica)	Atlantic	0% (0/87)	17,24% (15/87)	0% (0/87)	5,75% (5/87)	4,60% (4/87)	6,90% (6/87)
ukupno u 2004.			2,68% (16/596)	18,62% (111/596)	0,84% (5/596)	12,75% (76/596)	1,84% (11/596)	1,17% (7/596)
ukupno 2002–2004.			2,74% (37/1352)	23,45% (317/1352)	0,52% (7/1352)	6,36% (86/1352)	3,70% (50/1352)	0,67% (9/1352)

Serološke analize u 2003. godini su pokazale najveću zastupljenost PVY (21,88%). Drugi po zastupljenosti bio je PVA sa učestalošću od 15,1%, zatim PLRV 5,73%, PVS i PVM 1,04%, dok zaraze PVX nisu utvrđene.

Zastupljenost PVY u 2004. godini bila je znatno manja u odnosu na 2002. i 2003. godinu i iznosila je 18,62%, dok je procenat PVS zaraza u 2004. godini bio znatno veći u odnosu na prethodne dve godine i iznosio je 12,75%. Treći po zastupljenosti bio je PLRV 2,68%, zatim PVA 1,84%, PVM 1,17% i PVX 0,84%.

Ukupne prosečne zaraze PVY, virusom koji je bio najzastupljeniji u periodu od 2002. do 2004. godine, iznosile su 23,45%, zatim PVS 6,36%, PVA 3,70%, PLRV 2,74%, PVM 0,67% i PVX 0,52%.

Na osnovu seroloških analiza uzoraka lišća krompira, u periodu od 2002. do 2004. godine, utvrđeno je da je u usevima krompira za proizvodnju semena najrašireniji bio PVY. Naime, PVY je bio prevalentan virus u najvećem broju lokaliteta koji su bili predmet trogodišnjeg istraživanja. Od ukupno 12 lokaliteta, prevalentnost PVY je dokazana u 10 lokaliteta. Tokom 2002. godine, dominantno prisustvo PVY (51,08% i 22,34%) dokazano je u dva lokaliteta (Štitari i Vrulja), dok je u lokalitetu Plužine najučestaliji bio PVA (8,51%). U 2003. godini, PVY je bio prevalentan virus (57,14%, 21,69% i 13,64%) u sva 3 ispitivana lokaliteta (Lipovo, Rovačko Trebaljevo i Moračko Trebaljevo), dok je tokom 2004. godini prevalentnost (17,39%, 33,0%, 23,64%, 14,20% i 17,24%) ovog virusa potvrđena u 5 (Gubavač, Adrovići, Bakovići, Lješnica i Muratovica) od ukupno 6 ispitivanih lokaliteta. Samo u lokalitetu Drijenak, u 2004. godini, dokazano je dominantno prisustvo PVS (79,10%).

Trogodišnja ispitivanja ukazala su i na prisustvo različitog broja virusa na različitim lokalitetima. Prisustvo svih 6 ispitivanih virusa nije dokazano ni u jednom ispitivanom lokalitetu. U lokalitetima Plužine i Rovačko Trebaljevo konstatovano je prisustvo 5 virusa krompira, i to u lokalitetu Plužine PLRV, PVY, PVX, PVS i PVA, a u lokalitetu Rovačko Trebaljevo PLRV, PVY, PVS, PVA i PVM. Prisustvo 4 virusa krompira dokazano je u lokalitetima Adrovići (PLRV, PVY, PVX i PVA), Drijenak (PLRV, PVY, PVS i PVA) i Muratovica (PVY, PVS, PVA i PVM), prisustvo 3 virusa krompira u lokalitetima Bakovići i Štitari (PLRV, PVY i PVS), Moračko Trebaljevo (PLRV, PVY i PVA) i Lješnica (PVY, PVA i PVM), dok je prisustvo 2 virusa konstatovano u lokalitetima Vrulja (PVY i PVS), Gubavač i Lipovo (PVY i PVA).

Tokom perioda 2002-2004, od ukupno 12 lokaliteta koji su odabrani za ovo istraživanje, najveće prosečne zaraze konstatovane su u lokalitetima Lipovo (57,14%) i Štitari (51,06%) i to Y virusom krompira.

U toku 2002. godine procenat zaraza PVY po lokalitetima veoma se razlikovao. Najveći procenat zaraza konstatovan je u lokalitetu Štitari (Berane) (91,49%), a najniži u lokalitetu Muratovica (Plužine) (5,32%). Procenat zaraza ostalim virusima po lokalitetima nije značajno varirao i kretao se između 0-4,26% kod PLRV, 0-6,38% kod PVS, 0-8,51% za PVA i 0-2,13% za PVX.

U 2003. godini, PVY je bio prisutan u najvećem (77,78%) i najnižem procentu (4,64%) u lokalitetu Lipovo, u dva različita useva. Procenat biljaka zaraženih PVA kretao se u rasponu 0-20,48%, PLRV 0-10,84%, PVS i PVM 0-2,41%.

U 2004. godini zabeleženo je manje variranje procenta zaraza prouzrokovanih PVY po lokalitetima, od 10,47% u lokalitetu Drijenak do 33,0% u lokalitetu Adrovići. Značajna variranja zaraženosti useva u različitim lokalitetima konstatovana su za PVS 0-79,10% (Drijenak). Prosečan nivo PLRV zaraza po lokalitetima kretao se između 0-15,12%, PVM zaraza 0-6,90%, PVX zaraza 0-5,0% i PVA zaraza 0-4,60%.

Evidentna je bila nejednaka zastupljenost virusa po sortama krompira. Najveći procenat zaraza tokom 2002. godine konstatovan je kod sorte Kennebec (91,49%), a 2003. godine kod sorte Arnova (41,67%) i to Y virusom krompira. Tokom 2004. godine najveći nivo zaraza dokazan je kod sorte Kennebec (79,1%) i to S virusom krompira. PVA i PLRV su u najvećem broju uzoraka dokazani kod sorte Agria (13,58% i 5,65%), PVX kod sorte Desiree (2,58%), dok je PVM bio najzastupljeniji kod sorte Atlantic (6,9%).

Takođe, kod različitih sorti krompira dokazan je različit broj virusa. Prisustvo svih 6 ispitivanih virusa dokazano je samo kod sorte Agria. Kod sorti Kennebec i Atlantic konstatovano je prisustvo 4 virusa krompira, i to: PLRV, PVY, PVS i PVA kod sorte Kennebec, i, PVY, PVS, PVA i PVM kod sorte Atlantic, dok su kod sorte Cleopatra konstatovana tri virusa krompira (PVY, PVA i PVM). Prisustvo dva virusa krompira utvrđeno je kod sorti Desiree (PLRV i PVY), Resy (PVY i PVA), Arinda (PVY i PVA) i Adora (PLRV i PVY). Kod sorte Arnova konstatovano je samo prisustvo PVY. Utvrđeno je da su različite sorte krompira najčešće bile zaražene PVY, a procenat zaraze se kretao od 5,32% kod sorte Agria do 77,78% kod sorte Arinda.

U testiranim uzorcima detektovano je prisustvo pojedinačnih i mešovitih infekcija. Udeo pojedinačnih u ukupnim zarazama bio je dominantan i iznosio je 88,74%, a mešovitih 11,26%. Kod određenog broja biljaka ustanovljene su mešane infekcije dva ili više virusa. Mešane infekcije su konstatovane u svim ispitivanim godinama.

Trogodišnja ispitivanja ukazala su na dominantnost PVY+PVA zaraza (2,0%) u mešanim zarazama. PVY+PVA infekcije bile su najzastupljenije 2003. godine (10,94%), dok se u 2002. (1,06%) i 2004. godini (1,67%) najveći broj ovih zaraza odnosio na PVY+PVS zaraze. Od drugih mešovitih zaraza konstatovane su PVY+PLRV, PVY+PLRV+PVS i PVY+PVA+PVM (Tabela 2).

Tabela 2. Prisustvo i zastupljenost mešanih zaraza tokom 2002, 2003. i 2004. godine

Godina	Lokalitet	Sorta	Procenat mešanih zaraza (broj zaraženih / broj testiranih biljaka)				
			PVY+PLRV	PVY+PVS	PVY+PVA	PVY+PLRV+PVS	PVY+PVA+PVM
2002.	Berane (Štitari)	Kennebec	3,19% (3/94)	6,38% (6/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)
	Berane (Štitari)	Desirec	1,06% (1/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)
	Pljevlja (Vrulja)	Resy	0% (0/282)	0% (0/282)	0,71% (2/282)	0% (0/282)	0% (0/282)
	Plužine	Agria	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)
ukupno u 2002.			0,71% (4/564)	1,06% (6/564)	0,35% (2/564)	0% (0/564)	0% (0/564)
2003.	Kolašin (Lipovo)	Arnova	0% (0/12)	0% (0/12)	0% (0/12)	0% (0/12)	0% (0/12)
	Kolašin (Lipovo)	Arinda	0% (0/9)	0% (0/9)	11,11% (1/9)	0% (0/9)	0% (0/9)
	Kolašin (Rovačko Trebaljevo)	Agria	8,43% (7/83)	0% (0/83)	18,07% (15/83)	0% (0/83)	0% (0/83)
	Kolašin (Moračko Trebaljevo)	Agria	1,14% (1/88)	0% (0/88)	5,68% (5/88)	0% (0/88)	0% (0/88)
ukupno u 2003.			4,16% (8/192)	0% (0/192)	10,94% (21/192)	0% (0/192)	0% (0/192)
2004.	Bijelo Polje (Gubavač)	Cleopatra	0% (0/92)	0% (0/92)	0% (0/92)	0% (0/92)	0% (0/92)
	Pljevlja (Adrovići)	Desirec	0% (0/100)	0% (0/100)	0% (0/100)	0% (0/100)	0% (0/100)
	Kolašin (Bakovići)	Kennebec	0% (0/9)	11,11% (1/9)	0% (0/9)	0% (0/9)	0% (0/9)
	Kolašin (Bakovići)	Adora	0% (0/46)	0% (0/46)	0% (0/46)	0% (0/46)	0% (0/46)
	Kolašin (Drijenak)	Kennebec	0% (0/86)	9,3% (8/86)	1,16% (1/86)	1,16% (1/86)	0% (0/86)
	Berane (Lješnica)	Cleopatra	0% (0/82)	0% (0/82)	2,44% (2/82)	0% (0/82)	0% (0/82)
	Berane (Lješnica)	Kennebec	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)	0% (0/94)
	Plužine (Muratovica)	Atlantic	0% (0/87)	1,15% (1/87)	2,29% (2/87)	0% (0/87)	0% (0/87)
ukupno u 2004.			0% (0/596)	1,67% (10/596)	0,84% (5/596)	0,17% (1/596)	0,17% (1/596)
ukupno 2002–2004.			0,89% (12/1352)	1,18% (16/1352)	2,0% (27/1352)	0,07% (1/1352)	0,07% (1/1352)

Primenom seroloških analiza za 6 ekonomski značajnih virusa krompira ustanovljeno je da je ekonomski najznačajniji virus krompira i najrasprostranjeniji.

U cilju determinacije sojeva PVY na serološkom nivou, odabran je određen broj uzoraka u kojima je u

prethodnim analizama dokazano prisustvo PVY. Kod ukupno 127 biljaka, koje su bile zaražene PVY, dokazano je prisustvo ili običnog (PVY^O) ili nekog od nekrotičnih sojeva (PVY^N/PVY^{NTN}). Prisustvo crtičastog soja (PVY^C) nije utvrđeno ni u jednom ispitivanom uzorku (Tabela 3).

Tabela 3. Prisustvo i zastupljenost grupa sojeva PVY u pojedinačnim i mešanim infekcijama u 2002, 2003. i 2004. godini

Godina	Lokalitet	Sorta	Procenat pojedinačnih zaraza (broj zaraženih / broj testiranih biljaka)			Mešane zaraze
			PVY ^N /PVY ^{NTN}	PVY ^{O+C}	PVY ^C	PVY ^N /PVY ^{NTN+} PVY ^O
2002.	Berane (Štitari)	Kennebec	–	–	–	–
	Berane (Štitari)	Desiree	100% (1/1)	0% (0/1)	0% (0/1)	0% (0/1)
	Pljevlja (Vrulja)	Resy	100% (5/5)	0% (0/5)	0% (0/5)	0% (0/5)
	Plužine	Agria	100% (1/1)	0% (0/1)	0% (0/1)	0% (0/1)
ukupno u 2002.			100% (7/7)	0% (0/7)	0% (0/7)	0% (0/7)
2003.	Kolašin (Lipovo)	Arnova	100% (5/5)	0% (0/5)	0% (0/5)	0% (0/5)
	Kolašin (Lipovo)	Arinda	100% (7/7)	71,43% (5/7)	0% (0/7)	71,43% (5/7)
	Kolašin (Rovačko Trebaljevo)	Agria	61,11% (11/18)	100% (18/18)	0% (0/18)	61,11% (11/18)
	Kolašin (Moračko Trebaljevo)	Agria	83,33% (5/6)	100% (6/6)	0% (0/6)	83,33% (5/6)
ukupno u 2003.			77,78% (28/36)	80,55% (29/36)	0% (0/36)	58,33% (21/36)
2004.	Bijelo Polje (Gubavač)	Cleopatra	80,0% (8/10)	30,0% (3/10)	0% (0/10)	20,0% (2/10)
	Pljevlja (Adrovići)	Desiree	96,77% (30/31)	12,9% (4/31)	0% (0/31)	6,45% (2/31)
	Kolašin (Bakovići)	Kennebec	100% (1/1)	0% (0/1)	0% (0/1)	0% (0/1)
	Kolašin (Bakovići)	Adora	100% (11/11)	0% (0/11)	0% (0/11)	0% (0/11)
	Kolašin (Drijenak)	Kennebec	100% (8/8)	0% (0/8)	0% (0/8)	0% (0/8)
	Berane (Lješnica)	Cleopatra	20,0% (1/5)	80,0% (4/5)	0% (0/5)	0% (0/5)
	Berane (Lješnica)	Kennebec	100% (8/8)	0% (0/8)	0% (0/8)	0% (0/8)
	Plužine (Muratovica)	Atlantic	10,0% (1/10)	90,0% (9/10)	0% (0/10)	0% (0/10)
ukupno u 2004.			80,95% (68/84)	23,81% (20/84)	0% (0/84)	4,76% (4/84)
ukupno 2002–2004.			81,1% (103/127)	38,58% (49/127)	0% (0/127)	19,69% (25/127)

Tokom 2002. godine konstatovane su 100% zaraze nekrotičnim sojevima PVY, dok zaraze običnim sojem nisu dokazane ni u jednom ispitivanom uzorku. Prosečna zastupljenost nekrotičnih sojeva u 2003. godini iznosila je 77,78%, PVY^O soja 80,55%, dok su kod 58,33% biljaka konstatovane mešane zaraze nekrotičnim i običnim sojem (PVY^N/PVY^{NTN+} PVY^O).

Za razliku od 2003. godine kada je utvrđeno dominantno prisustvo PVY^O, u 2004. godini PVY^N/PVY^{NTN} sojevi su bili zastupljeniji (80,95%) u populaciji virusa. Običnim sojem PVY bilo je zaraženo 23,81% biljaka, a mešane infekcije običnog i nekrotičnih sojeva utvrđene su kod 4,76% biljaka.

Istraživanja su pokazala da su, u periodu od 2002. do 2004. godine, nekrotični sojevi bili rašireniji od

običnog soja. Dominatno prisustvo nekrotičnih sojeva PVY dokazano je u 9 ispitivanih lokaliteta, dok je obični soj bio prevalentan u samo 2 lokaliteta. Utvrđeno je da su na lokalitetu Lješnica (Berani) zaraze nekrotičnim sojevima bile dominantne kod sorte Kennebec, dok je na istom lokalitetu, ali kod sorte Cleopatra, bio dominantan obični soj.

Obični soj i nekrotični sojevi PVY ispoljili su različitu zastupljenost kod različitih sorti krompira. Kod sorti Kennebec, Resy, Arnova i Adora ustanovljene su 100% zaraze nekrotičnim sojevima, dok prisustvo PVY^O soja nije utvrđeno ni kod jedne testirane biljke ove 4 sorte. Takođe, nekrotični sojevi su bili dominantniji u populaciji PVY kod sorti Desiree, Cleopatra i Arinda, dok je obični soj bio zastupljeniji kod sorti Agria i Atlantic.

DISKUSIJA

Krompir je biljka koju parazitira veliki broj patogenih organizama. Među prouzročivačima bolesti, prvo mesto po značaju zauzimaju virusi (De Bokx i Van der Want, 1987; Blanco-Ugroit i sar., 1998; Nie i Singh, 2001; Glais i sar., 2002a). Do sada je na krompiru opisano 50-ak različitih vrsta virusa (Horvath i sar., 2004).

Veliki procenat zaraza useva semenskog krompira virusima i nedostatak podataka o njihovom značaju na području Crne Gore, kao i epidemijsko širenje virusa krompira u susjednim regionima, ukazali su na potrebu utvrđivanja etiologije virusnih oboljenja. Simptomi koji su konstatovani u periodu od 2002. do 2004. godine na zaraženim biljkama u vidu promena u opštem izgledu biljke, simptoma mozaika, nekroze nerava, lista ili stabla, uvijeknosti listova, „palma“ izgleda biljke, utvrđeni su i od strane drugih autora koji su se bavili proučavanjem virusa krompira (De Bokx i Huttinga, 1981; Harrison, 1984; Hooker, 1986; Le Romancer i sar., 1994; Shukla i sar., 1994; Brunt, 1996; Ellis i sar., 1997; Dallwitz i sar., 2004).

U detekciji virusa krompira ELISA test je prvi put primenjen 1977. godine (Singh i Somerville, 1992). Nakon toga, ova metoda je našla široku primenu u rutinskoj dijagnostici virusa krompira, naučnoistraživačkom radu, kontroli i proizvodnji zdravstveno ispravnog semenskog krompira (Deltour i sar., 1987; Blanco-Ugroiti i sar., 1998).

Rezultati seroloških analiza na prisustvo 6 virusa krompira pokazuju da su u 2002. godini u usevima detektovani PLRV, PVY, PVS, PVX i PVA, dok PVM nije konstatovan. U 2003. godini identifikovani su svi testirani virusi osim PVX, dok su analize 2004. godine ukazale na prisustvo svih šest ispitivanih virusa.

Najveću prosečnu zastupljenost u usevima semenskog krompira u trogodišnjem periodu, nakon PVY imao je PVS, zatim PVA, PLRV, PVM i PVX, što je delimično u saglasnosti sa istraživanjima koja su sprovedena u okruženju. Po rezultatima koje su saopštili Bofl i Buturac (1988), najzastupljeniji virusi na području Gorskog Kotara, kod stranih sorata krompira, bili su PLRV i PVY, a kod domaćih PVS i PVY. Istraživanja Rankovića i sar. (1985, 1986) ukazala su na najveću zastupljenost PVS i PLRV, a istraživanje koje je sproveo Milošević (1989) na području zapadne Srbije pokazuje da su najrasprostranjeniji virusi PVY i PLRV. Kasnija istraživanja Miloševića (1996) potvrdila su da PVY ima najveći intenzitet širenja, a znatno slabiji PLRV.

U dvogodišnjem istraživanju koje su sproveli Baldauf i sar. (2006), a koje se odnosilo na utvrđivanje prisustva i rasprostranjenosti šest ekonomski značajnih virusa krompira u Severnoj Americi, utvrđeno je dominantno prisustvo PVY i PVS. Takođe, dominantno prisustvo PVY

konstatovano je u brojnim usevima krompira u mnogim regionima u svetu (De Bokx i Huttinga, 1981; Ohshima i sar., 2000; Crosslin i sar., 2002).

Istraživanja sprovedena u ovom radu ukazala su na nejednaku zastupljenost virusa po sortama i lokalitetima. Najveći procenat PVY zaraza konstatovan je kod sorti Arinda i Kennebec. PVS je bio najzastupljeniji virus kod sorte Kennebec, PVA i PLRV kod sorte Agria, PVX kod sorte Desiree, dok je PVM bio najzastupljeniji kod sorte Atlantic. U istraživanjima koja su sproveli Ranković i sar. (1986), utvrđeno je da je najučestaliji virus kod sorti Desiree i Kennebec bio PLRV, dok PVY nije dokazan ni kod jedne ispitivane sorte.

U testiranim uzorcima detektovano je prisustvo pojedinačnih i mešovityh infekcija, pri čemu je udeo pojedinačnih u ukupnim zarazama bio dominantan. Najveći broj mešovityh infekcija u 2002. i 2004. godini odnosio se na zaraze virusima PVY+PVS, a u 2004. godini na zaraze PVY+PVA. Baldauf i sar. (2006) su u svojim istraživanjima tokom 2002. i 2003. godine konstatovali visok udeo mešanih u ukupnim zarazama (83%) semenskog krompira u Severnoj Americi, pri čemu se najveći broj ovih zaraza odnosio na PVY+PVS zaraze. Mešovite infekcije mogu nekad prouzrokovati zaraze koje nisu vizuelno uočljive, što predstavlja problem prilikom vizuelnog ocenjivanja useva semenskog krompira u toku vegetacije (Pourrahim i sar., 2007).

Testiranja na serološkom nivou dala su i rezultate o prisutnosti i zastupljenosti različitih grupa sojeva PVY. Od perioda kad je ovaj virus prvi put opisan, tridesetih godina prošlog veka, potvrđeno je postojanje većeg broja sojeva (PVY^N, PVY^{NTN}, PVY^{N-wi}, PVY^O i PVY^C), kao i rekombinantnih izolata (Besczner i sar., 1984; Jones, 1990; Chrzanowska, 1991; Le Romancer i sar., 1994; Blanco-Ugroiti i sar., 1998b; Glais i sar., 2002b; Singh i sar., 2008; Gray i sar., 2010).

Zbog izražene varijabilnosti članova *Potyvirus* roda, među kojima i PVY (Revers i sar., 1996), sprovedena su istraživanja u cilju utvrđivanja učestalosti i rasprostranjenosti pojedinih sojeva ovog virusa. Tokom trogodišnjih istraživanja konstatovano je prisustvo jednog od nekrotičnih (PVY^N/PVY^{NTN}) sojeva i običnog soja (PVY^O), dok crtičasti soj nije detektovan ni u jednom ispitivanom uzorku. Ovo je u skladu sa istraživanjima koja su sprovedena u mnogim drugim zemljama, u kojima je ustanovljeno prisustvo PVY^N/PVY^{NTN} i PVY^O i odsustvo PVY^C soja (Hataya i sar., 1994; Ellis i sar., 1997; Blanco-Ugroiti i sar., 1998; Kazusato i sar., 2000).

U 2002. i 2004. godini ustanovljeno je dominantno prisustvo nekrotičnih sojeva (PVY^N/PVY^{NTN}), dok je učešće običnog soja u populaciji PVY bilo prevalentno u

2003. godini. Prema literaturnim podacima, obični soj je široko rasprostranjen u svetu, dok su nekrotični sojevi prevalentni u Evropi i Južnoj Americi (Ellis i sar., 1997). Ipak, prema podacima Weidemann-a (1988), nekrotični sojevi predstavljaju značajan problem u Holandiji i severnoj Nemačkoj, a manji problem u Čehoslovačkoj, Velikoj Britaniji i Francuskoj. Za razliku od 2003. godine, u 2004. godini PVY^N/PVY^{NTN} je bio dominantniji u ukupnim PVY zarazama, što je u skladu sa istraživanjima sprovedenim u okruženju, gde je u populaciji PVY dokazano dominantno prisustvo nekrotičnog soja (Milošević, 1992). Na osnovu istraživanja sprovedenih u ovom radu utvrđeno je postojanje mešovite infekcije nekrotičnih i običnog soja, što je saopšteno i od strane drugih naučnika (Weidemann, 1988; Walsh i sar., 2001; Boonham i sar., 2002).

Kombinovanje bioloških, seroloških i molekularnih metoda je od velikog značaja u karakterizaciji sojeva PVY (Boonham i sar., 2002; Gray i sar., 2010). Naime, biološka i serološka testiranja u detekciji različitih sojeva PVY imaju ograničen uspeh. Prema Boonham-u i sar. (2002), biotest bi mogao dati pogrešne rezultate kod mešovite infekcije, jer simptomi koje prouzrokuje jedan virus (soj) mogu biti dominantniji i maskirati pojavu simptoma koje prouzrokuje drugi virus (soj). Primena DAS-ELISA testa i monoklonalnih antitela obezbeđuje determinaciju izolata PVY samo do nivoa tri osnovne grupe sojeva (nekrotični sojevi, obični i crtičasti soj) (Gray i sar., 2010). Zabeleženo je da primena DAS-ELISA metode može dati i lažne pozitivne rezultate (Boonham i sar., 2002). Zbog toga se primena odgovarajućih molekularnih metoda, uz biološke i serološke testove, ističe kao neophodna u cilju precizne karakterizacije sojeva PVY (Boonham i sar., 2002; Nie i Singh, 2002; Gray i sar., 2010).

Na osnovu sprovedenih istraživanja može se zaključiti da je u usevima semenskog krompira u Crnoj Gori prisutno svih šest ispitivanih ekonomski značajnih virusa, kao i da se njihova učestalost po godinama i lokalitetima menjala. Rezultati seroloških analiza ukazali su na prisustvo dve grupe sojeva PVY, ali i na neophodnost njihovog daljeg potvrđivanja na molekularnom nivou u cilju detaljne karakterizacije, utvrđivanja strukture populacije, varijabilnosti virusa i boljeg poznavanja epidemiologije patogena, što je osnova primene odgovarajućih mera kontrole.

ZAHVALNICA

Rad je nastao kao rezultat aktivnosti na projektu „Prilog proučavanju ekonomski značajnih virusa krompira u Crnoj Gori“, Ministarstva prosvjete i nauke Crne Gore i deo je magistarskog rada autora. Autor se zahvaljuje prof. dr Branki Krstić na stalnom mentorskom radu i pomoći, kao i korisnim sugestijama prilikom pisanja ovog rada.

LITERATURA

- Abou-Jawdah, Y., Sobh, H. and Saad, A.:** Incidence of potato virus diseases and their significance for a seed certification program in Lebanon. *Phytopathologia Mediterranea*, 40: 113-118, 2001.
- Agrios, N.G.:** Plant Pathology. Academic press, USA, 1997.
- Arends, P. and Kus, M.:** Nasveti za pridelovanje krompirja v Sloveniji. Tiskarna Kara d.o.o, Križe, 1999.
- Besczner, I., Horvath, J., Romhanayi, J. and Forster, H.:** Studies on the etiology of tuber necrotic ringspot disease in potato. *Potato Research*, 27: 339-352, 1984.
- Blanco-Ugroit, B., Sanchez, F., Perez de San Roman, C., Dopazo, J. and Ponz, F.:** Potato virus Y group C isolates are a homogeneous pathotype but two different genetic strain. *Journal of General Virology*, 79: 2037-2042, 1998a.
- Blanco-Ugroiti, B., Tribodet, M., Leclere, S., Ponz, F., Perez de San Roman, C., Legorburu, F. J. and Kerlan, C.:** Characterization of potyvirus Y (PVY) isolates from seed potato batches situation NTN, Wilga and Z isolates. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 811-819, 1998b.
- Bofl, M. i Buturac, I.:** Frekvencija virusa krumpira u Gorskom Kotaru. *Zaštita bilja*, 7: 253-261, 1988.
- Boonham, N., Walsh, K., Preston, S., North, J., Smith, P. and Barker, J.:** The detection of tuber necrotic isolates of potato virus Y, and the accurate discrimination of PVY^O, PVY^N and PVY^C strains using RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 102: 103-112, 2002.
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. and Zurcher, E.J.:** Plant viruses online. Descriptions of ICTVdb, 1996. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/57010056.htm>
- Chrazanowska, M.:** New isolates of the necrotic strain of PVY (PVY^N) found recently in Poland. *Potato Research*, 34: 179-182, 1991.
- Clark, M.F. and Adams, A.N.:** Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immuno-sorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483, 1977.
- Crosslin, J.M., Hamm, P.B., Eastwell, K.C., Thornton, R.E., Brown, C.R., Corsini, D., Shiel, P.J. and Berger, P.H.:** First report of the necrotic strain PVY (PVY^N) on potatoes in the northwestern United States. *Plant Disease*, 86: 1177, 2002.
- Dallwitz, M.J., Paine, T. and Zurcher, E.:** Potato virus S. Descriptions of ICTVdb, 2004. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/514010025.htm>
- De Bokx, J.A. and Huttinga, H.:** Potato virus Y. CMI/AAB Descriptions of plant viruses N° 242 (N° 37 revised), 1981.

- De Bokx, J.A. and Van der Want, J.P.H.:** Viruses of potatoes and seed potato production. Pudoc, Wageningen, 1987.
- Deltour, A., Guillou, M. and Kerlan, C.:** Trends in France for the use of the ELISA method in routine seed-potato testings and problems of cross reactions between potato viruses A and Y. OEPP/EPP Bulletin, 17: 69-72, 1987.
- Ellis, P., Stace-Smith, R. and De Villiers, G.:** Identification and geographic distribution of serotypes of PVY. Plant Disease, 81: 481-484, 1997.
- Fletcher, J.D.:** Potato virus Y^N – host range and incidence in seed potato crops in New Zealand. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 17: 259-263, 1989.
- Gavran-Starović, M.:** Osetljivost nekih modifikacija enzimskog imunoadsorpcijskog testa (ELISA) u dokazivanju Y virusa krompira. Zaštita bilja, 50(2): 95-104, 1999.
- Glais, L., Kerlan, C., Tribodet, M., Marie-Jeanne Tordo, V., Robaglia, C. and Astier-Manificier, S.:** Molecular characterization of potato virus Y^N isolates by PCR-RFLP. European Journal of Plant Pathology, 102: 655-662, 2002a.
- Glais, L., Tribodet, M. and Kerlan, C.:** Genomic variability in *Potato potyvirus Y* (PVY): evidence that PVY^{NW} and PVY^{NTN} variants are single to multiple recombinants between PVY^O and PVY^N isolates. Archives of Virology, 147: 363-378, 2002b.
- Gray, S., De Boer, S., Lorenzan, J., Karasev, A., Whitworth, J., Nolte P., Singh, R., Boucher, A. and Xu, H.:** Potato virus Y. An evolving concern for potato crops in the United States and Canada. Plant Disease, 94: 1384-1396, 2010.
- Harrison, B.D.:** Potato leafroll virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses, N° 291 (N° 36 revised), 1984.
- Hataya, T., Inoue, A.K., Ohshima, K. and Shikata, E.:** Characterization and strain identification of PVY isolate non-reactive with monoclonal antibodies specific to the ordinary and necrotic strains. Intervirology, 37: 12-19, 1994.
- Hooker, W.J.:** Compendium of Potato Diseases. American Phytopathological Society, Minnesota – USA, 1987.
- Horvath, J., Kazinczi, G. and Takacs, A.P.:** Sources of resistance against viruses in Solanum genus. Razprave IV, Razreda SAZU, XLV-1: 63-74, 2004.
- Jones, R.A.C.:** Strain group specific hypersensitive reactions to infection with Potyviruses in potato cultivars. Annals of Applied Biology, 117: 93-105, 1990.
- Kazusato, O., Kazaya, S., Hiraishi, C., Nakagawa, A., Matsuo, K., Ogawa, T., Shikata, E. and Sako, N.:** Potato tuber necrotic ringspot disease occurring in Japan: Its association with Potato virus Y necrotic strain. Plant Disease, 84: 1109-1115, 2000.
- Kerlan, C., Tribodet, M., Glais, L. and Guillet, M.:** Variability of potato virus Y in potato crops in France. Journal of Phytopathology, 147: 643-651, 1999.
- LeRomancer, M., Kerlan, C. and Nedellec, M.:** Biological characterization of various geographical isolates of PVY including superficial necrosis on potato tubers. Plant Pathology, 43: 138-144, 1994.
- Mib, A.M., Atiri, G.I. and Rossel, H.W.:** Strain-typing of PVY isolates from potato in Nigeria by infectivity tests and ELISA. African Crop Science Journal, 3: 99-104, 1995.
- Milošević, D.:** Prilog istraživanja infektivne (virozne) prirode nitavosti klica krompira. Zaštita bilja, 178: 355-361, 1986.
- Milošević, D.:** Rasprostranjenost nekih virusa krompira na području Zapadne Srbije. Zaštita bilja, 189: 367-374, 1989.
- Milošević, D.:** Occurrence of the necrotic strain of potato virus Y (PVY) in some localities in Serbia. Zaštita bilja, 201: 197-202, 1992.
- Milošević, D.:** Bolesti krompira sa osnovama semenarstva. Izdavačka kuća „Draganić“ i Institut za istraživanja u poljoprivredi „Srbija“, 1998, 1-273.
- Milošević, D. and Stoiljković, B.:** Effects of disease ratings caused by some important viruses on some quality and other traits of tubers and potato plants. Arhiv za poljoprivredne nauke, 57: 81-86, 1998.
- Nie, X. and Singh, R.P.:** A novel usage of random primers for multiplex RT-PCR detection of virus and viroid in aphids, leaves and tubers. Journal of Virological Methods, 91: 37-49, 2001.
- Nie, X. and Singh, R.P.:** A new approach for the simultaneous differentiation of biological and geographical strains of PVY by uniplex and multiplex RT-PCR. Journal of Virological Methods, 104: 41-45, 2002.
- Ohshima, K., Sako, K., Hiraishi, C., Nakagawa, A., Matsuo, K., Ogawa, T., Shikata, E. and Sako, N.:** Potato tuber necrotic ringspot disease occurring in Japan: Its association with potato virus Y necrotic strain. Plant Disease, 84: 1109-1115, 2000.
- Pourrahim, R., Farzadfar, Sh., Golnaraghi, A.R. and Aboonmanesh A.:** Incidence and distribution of important viral pathogens in some Iranian potato fields. Plant Disease, 91: 609-615, 2007.
- Ranković, M., Paunović, S. i Milošević, D.:** Primena ELISA tehnike u proizvodnji bezvirusnog semenskog krompira. Zbornik radova Zavoda za krompir, Guča, 1985, str. 73-79.
- Ranković, M., Vuksanović, S. i Domanović, M.:** Prisustvo virusa krompira u krtolama nekih domaćih i inostranih sorata krompira. Zaštita bilja, 37: 79-85, 1986.
- Shukla, D.D., Ward, C.W. and Brunt, A.A.:** The Potyviridae. CAB International, Wellingford, UK, 1994.
- Singh, R.P.:** Incidence of the tobacco venous necrotic strain of PVY (PVY^N) in Canada in 1990 and 1991 and scientific basis for eradication of the disease. Canadian Plant Disease Survey, 72: 113-119, 1992.

Singh, R.P. and Somerville T.H.: Evaluation of the enzyme-amplified Elisa for the detection of Potato virus-A, virus-M, virus-S, virus-X, virus-Y, and leafroll. *American Potato Journal*, 69: 21-30, 1992.

Singh, R.P., Valkonen, J.P.T., Gray, S.M., Boonham, N., Jones, R.A.C., Kerlan, C. and Schubert, J.: Discussion paper: The naming of *Potato virus Y* strains infecting potato. *Archives of Virology*, 153: 1-13, 2008.

Starović, M., Kuzmanović, S. i Stojanović, S.: Pouzdanost dokazivanja virusa u krtolama krompira. *Zaštita bilja*, 52: 229-239, 2001.

Statistički godišnjak CG: Statistički godišnjak 2009. Zavod za statistiku Crne Gore Monstat, 2009, str. 101.

Šutić, D.: Viroze biljaka. Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd, 1995.

Van der Heuvel, J.F.J.M., Van der Vlugt, R.A.A., Verbeec, M., De Haan, P.T. and Huttinga, H.: Characteristics of a resistance-breaking isolate of Potato virus Y causing potato tuber necrosis ringspot disease. *European Journal of Plant Pathology*, 100: 347-356, 1994.

Walsh, K., North, J., Barker, J. and Boonham, N.: Detection of different strains of potato virus Y and their mixed infections using competitive fluorescent RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 91: 167-173, 2001.

Weidemann, H.L.: Importance and control of potato virus Y^N (PVY^N) in seed potato production. *Potato Research*, 31: 85-94, 1988.

Presence and Distribution of Economically Important Potato Viruses in Montenegro

SUMMARY

The research was carried out, in the period 2002-2004 in order to determine the presence and distribution of potato viruses at 12 different locations and on 9 different potato varieties grown in Montenegro. The research included collecting of samples in seed potato crops and testing of six economically important potato viruses: *Potato leaf roll virus* (PLRV), *Potato virus Y* (PVY), *Potato virus X* (PVX), *Potato virus S* (PVS), *Potato virus A* (PVA) i *Potato virus M* (PVM). Using the direct enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) and commercial antisera specific for six potato viruses, it was found that PVY was the most frequent virus during the three-year research period. The second frequent virus was PVS, followed by PVA, PLRV, PVM and PVX. Single and mixed infections were detected, and the most prevalent were the single infections of PVY. Also, in the period 2002-2004, PVY had the highest distribution and the number of present viruses was different at different localities and on different potato varieties.

Further investigations were related to detailed characterization of the most prevalent virus (PVY), which is at the same time economically the most important one. Serological characterization of PVY was performed utilizing DAS-ELISA kit with commercial monoclonal antibodies specific for detection of the three strain groups of PVY, and the two strain groups - necrotic (PVY^N/PVY^{NTN}) and common (PVY^O), were identified. Necrotic strains were prevalent in 2002 and 2004, while in 2003 PVY^O was the most frequent strain in virus population. The presence of stipple streak strain (PVY^C) was not detected in any of the tested samples.

Keywords: Potato; Potato viruses; PVY^N/PVY^{NTN}; PVY^O; PVY^C; DAS-ELISA