

Marin CUKROV¹, Darija LEMIĆ², Igor PASKOVIĆ¹

¹Institut za poljoprivredu i turizam, Zavod za poljoprivredu i prehranu, Poreč

²Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju, Zagreb

dlemic@agr.hr

KUKCI VEKTORI BILJNIH BOLESTI

SAŽETAK

Kukci iz reda Hemiptera i Thysanoptera vektori su brojnih patogenih virusa, bakterija, gljivica, fitoplazmi te spiroplazmi. Karakterizira ih brza reprodukcija te širok spektar biljaka domaćina na kojima čine direktne štete hranjenjem ili indirektno prijenosom patogenih organizama. Današnja istraživanja kukaca vektora biljnih bolesti usmjerena su na razumijevanje mehanizama kojima različiti patogeni utječu na vektore zbog unapređenja vlastitog prijenosa na prigodna domaćina, ali i na praćenje pojava novih vektora te identifikaciju uzročnika biljnih bolesti koje prenose. Lisne uši (Aphididae), štitasti moljci (Aleyroidae) i tripsi (Thripidae) vektori su mnogobrojnih biljnih virusa. Cikade vektori virusa pripadaju podporodicama Agallinae i Deltocephalinae dok su mnogobrojne ostale vrste unutar porodice Cicadellidae, Aphrophoridae i Cercopidae prijenosnici brojnih fitoplazmi i bakterija, uključujući i karantenske patogene poput bakterije *Xylella fastidiosa*. Istraživanja kukaca vektora uključuju proučavanja opsežnih interakcija unutar patosustava, istraživanja genskih predispozicija vektora za prijenos specifičnog patogena, sinergijske odnose virusa i endosimbotskih bakterija u tijelu vektora, procjenjuju dinamične učinke patogena na biljke domaćine tijekom razvoja bolesti te molekularne mehanizme kojima patogeni direktno utječu na ponašanje i navike vektora. U ovom radu prikazane su biološke predispozicije različitih vektora za prijenos patogena, istaknuti su odnosi i mehanizmi utjecaja patogena na vektore te načini njihova prijenosa.

Ključne riječi: Aphididae, Aleyroidae, Cicadellidae, Thripidae, načini prijenosa, manipulacija vektorima

UVOD

Kukci vektori biljnih bolesti odgovorni su za prijenos brojnih patogenih bakterija, gljivica, virusa, fitoplazmi te spiroplazmi. Vektori su sveprisutni u antropogenim i prirodnim ekosustavima u ulozi posrednika širenja uzročnika biljnih bolesti s negativnim ekonomskim posljedicama na poljoprivredu. Rasprostranjenost i prijenos navedenih patogena općenito ovisi o karakteristikama i svojstvima najmanje triju organizama: patogena, kukca vektora i biljke domaćina (Eigenbrode i sur., 2017.). Uspješnost prijenosa

patogena ovisi o dinamici populacije vektora, njihovoj rasprostranjenosti, hranidbenim navikama, preferenciji prema različitim biljkama te zdravstvenom statusu biljaka domaćina, kao i abiotskim uvjetima (Eigenbrode i sur., 2017.). Većina kukaca vektora pripada redu Hemiptera koji uključuje lisne uši (Aphididae), štitaste moljce (Aleyrodidae) i lisne buhe (Psyllidae) te cikade (Cicadellidae), ali i redu Thysanoptera kojima pripadaju tripsi (Thripidae). Poznato je da kukci iz porodice Aphididae prenose više od 150 različitih biljnih virusa, uključujući virus pjegavosti i venuća rajčice (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), virus mozaika duhana (*Tobacco mosaic virus*, TMV), virus crne prstenaste pjegavosti kupusa (*Turnip mosaic virus*, TUMV00), virus nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje (*Prunus necrotic ringspot virus*, PNRSV), virus mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus*, CMV), virus žućenja i kržljivosti luka (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV) te brojne druge (Bragard i sur., 2013.). Štitasti moljci odgovorni su za prijenos uzročnika bolesti žutog mozaika kod najmanje 20 različitih biljnih vrsta, kao i virusa kovrčavosti lista rajčice, krumpira, duhana i pamuka. Cikade (Cicadellidae) prenose više od 80 različitih uzročnika biljnih bolesti, uključujući one uzrokovane virusima, bakterijama, mikoplazmama i spiroplazmama. Primjeri uključuju Pirsovu bolest vinove loze, stolbur krumpira, crno drvo vinove loze, crvenilo kukuruza i kržljivost borovnice (Plavec, 2019.). Posljednjih se 20 godina prošlog stoljeća u istraživanju kukaca vektora biljnih bolesti događa svojevrsan obrat te su istraživanja sve manje usredotočena na opću biologiju vektora i načine prijenosa, a sve više usmjerena na razumijevanje mehanizama kojima različiti patogeni utječu na vektor zbog unapređenja vlastitog prijenosa na prigodnog domaćina (Gray i sur., 2014.). Štoviše, današnjim se istraživanjima pokušava razumjeti metaboličke promjene unutar vektora nakon doticaja s patogenom, kao i metaboličke te anatomske predispozicije vektora koje su nužne za uspješan prijenos patogena. Današnja istraživanja upućuju i na čitav niz kompleksnih interakcija između patogena, vektora i biljke domaćina, kao i na indirektnu te direktnu utjecaje patogena na kukce vektore (Heck, 2018.). Sve je više dokaza koji ukazuju i na slučajeve manipulacije vektorom od strane patogena, osobito virusa (Gray i sur., 2014.; Perilla-Henao i Casteel, 2016.; Eigenbrode i sur., 2017.). Ipak, velika varijabilnost utjecaja patogena na njihove vektore zahtijeva da se sindrome manipulacije vektorima promatra cjelovito i unutar patosustava, odnosno unutar kompleksa: biljka domaćin-patogen-vektor. Stoga je nedostavno opisivati karakteristike kukaca vektora odvojeno, kao zasebnu cjelinu neovisnu o koevoluirajućim bakterijama s kojima su u endosimbiontskom odnosu, patogena koji prenose ili biljke domaćina, zato što utječu na ponašanje vektora. Ovaj rad pruža objedinjen uvid u opće morfološke karakteristike značajnih porodica kukaca vektora biljnih bolesti, specifične predispozicije vektora za prijenos različitih patogena te mehanizme utjecaja patogena na kukca vektora.

TIPOVI PRIJENOSA BILJNIH VIRUSA – INTERAKCIJE I UTJECAJI NA LISNE UŠI – VEKTORE VIRUSA

Lisne uši (Aphididae) karakterizira visok stupanj polimorfizma pri različitim okolišnim uvjetima (Mukhopadhyay, 2010.). Visok vektorski kapacitet omogućen im je kombinacijom brojnih bioloških i morfoloških karakteristika poput strukture usnog ustroja, načina ishrane, biološkog ciklusa, izmjene generacija s krilima ili bez njih te stupnjem reprodukcije (Mukhopadhyay, 2010.). Individualne vrste, poput zelene breskvine uši (*Myzus persicae*, Sulzer, 1776), mogu biti prijenosnici više od 100 biljnih virusa. Usni ustroj kukaca ove porodice prikladan je za usvajanje i inokulaciju virusa. Sastoji se uglavnom od dva para hitiniziranih bodlja osnaženih površinskim uzdužnim grebenima i žljebovima, konkavne donje usne koja pokriva i zatvara oluk, dva kanala gornje usne te gornje i donje vilice. Dva para bodlja oblikuju jedan kompaktan svežanj koji silazi niz žlijeb donje usne i formira prodoran organ s dvije uzdužne priljubljene cjevčice (Mukhopadhyay, 2010.). Kroz užu cjevčicu kukac ubrizgava pljuvačku u biljku domaćina, a kroz širu siše hranu. Unutar glave smješteni su organi koji reguliraju protok pljuvačke i hrane. Sposobnost partenogenetskog razmnožavanja omogućuje brzo povećanje populacije i daljnje preživljavanje. Za lisne uši nije neobično da unutar populacije imaju i anholociklične i holociklične jedinke, što omogućuje populacijama lisnih ušiju da iskoriste prednosti okolišnih uvjeta koje favoriziraju anholociklične jedinke (Mukhopadhyay, 2010.). Ako se uvjeti promijene, holociklične jedinke osiguravaju preživljavanje populacije. Ovisno o vrsti, odrasle jedinke žive 19 do 35 dana, a odrasle ženke razvijaju nimfe za 10 do 25 dana. U optimalnim uvjetima nimfe se mogu presvući do tri puta, a samo razdoblje razvoja traje 5 do 6 dana. Brzina reprodukcije te sposobnost prijenosa više od 150 biljnih virusa čini porodicu Aphididae kukcima visokog vektorskog kapaciteta. Prilikom slijetanja na domaćina, lisne uši isprva prodiru u parenhimsko tkivo, testiraju prikladnost biljke za nastavak ishrane prilikom koje maksilarnom bodljom, uz



potporu pljuvačke prodiru u floem (Ng i Perry, 2004.). Takav tip ishrane kukaca ključan je za prijenos biljnih virusa i za njihovo kruženje unutar biljke (Gray i sur., 2014.).

Slika 1. Više razvojnih stadija *M. persicae*, uključujući i odrasle jedinke s krilima i bez njih (snimila Whitney Cranshaw, izvor: www.forestryimages.org).

Općenito, prijenos virusa kukcima vektorima ovisi o tipu usvojena virusa, odnosno o njihovoj interakciji s vektorom (Froissart i sur., 2002.; Gray i sur., 2014.). **Cirkulativni** i **necirkulativni** virusi razlikuju se po trajnosti vezivanja i mjestu zadržavanja virusa te kretanju unutar organizma (Dietzgen i sur., 2016.). Necirkulativni virusi isključivo su tranzitni, odnosno ne prelaze stanične membrane niti ulaze u hemolimfu vektora, već se zadržavaju na usnom aparatu kukaca te prednjem crijevu (stomodeum), pri čemu se radi o isključivo mehaničkom prijenosu. Prema Ng i Perry (2004.) prijenos necirkulativnih virusa odvija se u trima glavnim koracima:

- (i) usvajanje virusa od zaražena izvora
- (ii) stabilno zadržavanje usvojenih virusa na potrebnim mjestima unutar vektora te
- (iii) ispuštanje vezanih ili zadržanih virusa kao i njihova alokacija na mjestu infekcije.

Lisne uši većinom prenose viruse necirkulativnog tipa (Ng i Perry, 2004.), no mogu biti vektori i cirkulativnih virusa. Virus necirkulativnog tipa razlikuju se prema vremenu trajanja virulentnosti vektora nakon ishrane zaraženom biljkom kao **neperzistentni** i **semiperzistentni**. Neperzistentne viruse odlikuju dvije različite molekularne strategije kojima reguliraju vlastite interakcije s vektorima, kao i uspješnost prijenosa na biljku domaćina (Pirone i Blanc, 1996.). Prva je bazirana na direktnoj interakciji proteina kapside i vektora, a druga na korištenju određenih proteina kodiranih od virusa pomagača. Primjerice, Govier i Kassanis (1974.) prvi su zabilježili slučaj prijenosa C-virusa krumpira (*Potato virus C*, PVC) lisnim ušima, pri čemu je uočeno da je infekcija tim virusom moguća jedino ako su biljke prethodno bile zaražene drugim, Y-virusom krumpira (*Potato virus Y*, PVY). Poslije je dokazano da komponenta koja omogućuje zarazu s PVC-om nije sam virus PVY, već protein virusa pomagača koji je uključen u dvije različite interakcije; jednu s kapsidom C-virusa, a drugu s kutikulom unutar usnog aparata vektora (Thornbury i Pirone, 1983.). Navedene strategije utječu na sposobnost zadržavanja usvojenog virusa na usnom aparatu vektora, ali i na njegovo ispuštanje u biljku domaćina. Prema Moreno i sur. (2005.) otegotna su okolnost u ovom tipu prijenosa potencijalne mutacije kapsidnih proteina virusa pomagača gdje zbog promjene samo jedne aminokiseline virus može biti usvojen kukcem vektorom potpuno druge vrste. To svjedoči o specifičnosti virusnog prepoznavanja vektora pri necirkulativnom tipu prijenosa dominantnih biljnih virusa.

Drugi je način necirkulativnog prijenosa **semiperzistentan** prijenos prilikom kojega se stjecanje virusa od vektora odvija, slično kao i prilikom neperzistentnoga, unutar nekoliko minuta, no učinkovitost prijenosa povećava se produženim hranjenjem (Palacios i sur., 2002.). Nadalje, još je jedna odlika semiperzistentnog prijenosa – duže vrijeme zadržavanja virusa na usnom aparatu vektora u trajanju od nekoliko sati do nekoliko dana. Određeni

semiperzistentni virusi također mogu biti prenošeni pomoću kapside virusa pomagača. Budući da se takvi proteini mogu steći naknadno, prisutnost proteina kapside određenog virusa može pomoći u prenošenju drugog virusa. Takav fenomen zabilježen je kod brojnih porodica virusa i uvelike utječe na njihovu epidemiologiju i prijenos (Froissart i sur., 2002.).

Cirkulativni virusi klasificiraju se kao cirkulativni **propagativni** ili **nepropagativni**, ovisno o tome umnažaju li se unutar kukca ili ne. Usvajanje cirkulativnih virusa moguće je isključivo dugotrajnom ishranom vektora, u trajanju od nekoliko sati do nekoliko dana. Specifičnost tako dugog razdoblja usvajanja proizlazi iz činjenice da su cirkulativni tipovi virusa većinom prisutni u floemu zaražene biljke (Ng i Perry, 2004.). Cirkulativni, nepropagativni virusi, primjerice poput virusa žute patuljavosti ječma (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV, tablica 1) ostaju u tijelu lisnih ušiju tjednima, čak i nakon presvlačenja, čineći ih dugotrajno virulentnima (Gray i Gildow, 2003.) te ih se stoga smatra **perzistentnima**. Nakon usvajanja iz zaraženih stanica floema virusi prelaze kroz prednje i srednje crijevo do stražnjega, gdje preko epitelnih stanica prodru u hemolimfu vektora. Zatim cirkuliraju hemolimfom do pomoćnih žlijezda slinovnica nakon čega se inokuliraju u biljku sekrecijom pljuvačke vektora. Odlika je cirkulativnih, nepropagativnih virusa visoka specifičnost prema vektoru koji ih prenosi, jer uspješan prijenos ovisi o kompatibilnosti virusa i metabolizma vektora. Cirkulativni propagativni virusi slični su nepropagativnima po načinu vektorskog usvajanja, kao i cirkulaciji unutar tijela lisnih ušiju. Primarna je razlika u tome što nakon infekcije propagativnim virusom povezanost virusa i vektora ostaje trajna do kraja životnog ciklusa kukca, a sam se virus prenosi na potomstvo (Ng i Perry, 2004.).

Tablica 1. Primjeri virusa prenošenih lisnim ušima i načini njihova prijenosa
Table 1. Examples of viruses transmitted by aphids and their transmission characteristics

Virus	Lisna uš vektor	Način prijenosa
1. Virus mozaika cvjetače <i>Cauliflower mosaic virus</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i> (L.); <i>Myzus persicae</i> (Sulzer)	Semiperzistentan
2. Virus nekrotične žutice salate <i>Lettuce necrotic yellows virus</i>	<i>Hyperamyzus lactucae</i> (L.)	Perzistentan, cirkulativan
3. Virus mozaika krastavca <i>Cucumber mosaic virus</i>	<i>Myzus persicae</i> (Sulzer); <i>Aphis gossypii</i> (Glover)	Neperzistentan
4. Y-virus krumpira <i>Potato virus Y</i>	<i>Myzus persicae</i> (L.); <i>Aphis fabae</i> (Scopoli)	Neperzistentan

5. Virus uvijenosti lišća krumpira <i>Potato leaf roll virus</i>	<i>Myzus persicae</i> (L.); <i>Macrosiphum euphorbae</i> (Thomas)	Perzistentan, cirkulativan, nepropagativan
6. Virus žute patuljivosti ječma <i>Barley yellow dwarf virus</i>	<i>Ropalosiphum maidis</i> (Fitch)	Perzistentan, cirkulativan

Važnost kompatibilnosti virusa i lisne uši vektora

Usvajanje cirkulativnih virusa od vektora ne mora nužno rezultirati prijenosom istog do biljke domaćina, štoviše, zbog fizičkih barijera unutar tijela vektora, cirkulacija virusa može biti i opstruirana. Prvu prepreku u akumulaciji virusa unutar hemocela čini barijera stražnjeg crijeva. U nekim slučajevima čak i prelazak barijere i prisutnost virusa unutar hemocela ne znači da će oni biti uspješno preneseni na biljku domaćina. Nemogućnost prodora virusa kroz membrane u tijelu vektora čini virus neprenosivim i dokazuje potrebu za njegovom visokom specijaliziranosti za uspješnu interakciju s vektorom. Tamada i Harrison (1981.) to potvrđuju ishranom dvaju vektora (*Macrosiphum euphorbiae*, Thomas, 1878 i *Myzus persicae*, Sulzer, 1776) s biljkom zaraženom virusom uvijenosti lišća krumpira (*Potato leaf roll virus*, PLRV). U hemocelu oba vektora zabilježena je prisutnost PLRV-a, no kukci su se razlikovali po učinkovitosti prijenosa upravo zbog nemogućnosti da PLRV proдре izvan hemocela *Macrosiphum euphorbiae*.

Utjecaj virusa na preferenciju ishrane vektora biljkama različita zdravstvena statusa

Biljni virusi mogu modificirati ponašanje lisnih ušiju vektora direktno ili indirektno manipulacijom zaraženih biljaka domaćina te tako pojačati učinkovitost i intenzitet vlastitog prijenosa (Blanc i Michalakakis, 2016.). Direktna manipulacija te promjena ponašanja i hranidbenih navika očituje se kod jedinaka lisnih ušiju zaraženih nekim od prethodno spomenutih virusa. Infekcija lisnih ušiju određenim virusima može promijeniti preferenciju kukca za ishranu nezaraženim biljkama prema zaraženima. Istovremeno, u zaraženim biljkama neki virusi iniciraju biokemijske i fiziološke promjene koje pojačavaju preferenciju vektora prema zaraženim biljkama (Mauck i sur., 2014.). Zaražene biljke ispuštaju volatilne spojeve koji ih čine privlačnijim lisnim ušima za ishranu, stvarajući vektorima privid domaćina superiornije kvalitete u usporedbi s nezaraženim biljkama (Bosque-Perez i Eigenbrode, 2011.). Primjer je takve interakcije neperzistentni virus mozaika krastavca (CMV), prenošen lisnim ušima, koji unutar biljke domaćina remeti signalni put jasmonične kiseline i imunosti odgovor biljke dovodeći tako do pojačane ishrane lisnih ušiju zaraženim biljkama (Dietzgen i sur., 2016.).

PREDISPOZICIONIRANOST ŠTITASTIH MOLJACA ZA PRIJENOS BILJNIH VIRUSA

Polifagni štitaški moljci ekonomski su značajni štetnici na povrtnim i cvjetnim kulturama. Karakterizira ih brz rast populacija pri pogodnim uvjetima, sedam segmentiranih ticala, dva jednostavna oka (ocele) i jedan par složenih očiju. Dva para opnenastih krila, kao i tijelo, pokriveni su bijelim voštanim prahom, stražnje su im noge podešene za skakanje, a usni ustroj prilagođen je za bodenje i sisanje naličja listova, na kojima žive svi razvojni stadiji. Bijeli prah potječe od voštanih izlučevina koje odrasli kukac izlučuje nakon izlaska iz „puparija”. Glavni su predstavnici ove porodice staklenički štitaški moljac (*Trialeurodes vaporariorum*, Westwood, 1956), duhanov štitaški moljac (*Bemisia tabaci*, Gennadius, 1889) te štitaški moljac agruma (*Dialeurodes citri*, Ashmead, 1885). Jedinke se teško morfološki razlikuju prije stadija „puparija”, odnosno posljednjeg razvojnog stadija ličinke. Puparij *B. tabaci* odlikuje značajna morfološka varijabilnost koja ovisi o okolišnim uvjetima, ali i o biljci domaćinu (Mukhopadhyay, 2010.). Uglavnom se razmnožavaju spolno, no partenogeneza je prisutna kod nekolicine vrsta, kao i kod glavnih predstavnika ove porodice. Nespolnim se razmnožavanjem iz neoplođenih jaja razvijaju isključivo mužjaci. Odrasle ženke poliježu 50 do 300 jaja na naličju listova, ovisno o uvjetima i domaćinu. Ličinke prvog razvojnog stadija jedini su pokretni stadij, a ličinke drugog, trećeg i četvrtog nepokretne su zbog atrofiranih nogu. Odrasli štitaški moljac izlazi kroz leđnu stranu „puparija” ostavljajući za sobom na naličju lista egzuzij – prazan, srebrnast egzoskelet (Šimala i sur., 2016.). Istovremena prisutnost svih razvojnih stadija te 10 do 15 generacija koje se poklapaju čine ove kukce izrazito biološki dinamičnima. Ubadanjem u naličje listova te sisanjem biljnih sokova iz floema štitaški moljci čine direktne štete koje se najčešće očituju pojavom klorotične pjegavosti, gubitkom turgora i žućenjem. Prodiranje bodljom zahtijeva relativno veliku mehaničku silu koja proizlazi iz promjene pozicije glave prilikom ishrane (Freeman i sur., 2001.). Tijekom ishrane, štitaški moljci čine i neizravne štete izlučivanjem medne rose, povoljne za razvoj gljivice čađavice. Velik broj generacija pogoduje razvoju otpornosti ovih štetnika na insekticide, a kapacitet za prijenos virusa žutog mozaika čini ovu porodicu ekonomski značajnim štetnikom.



Slika 2. *T. vaporariorum* –
hranjenje (snimila M. Mandušić,
izvor: Žanić i sur., 2019.).

Infektivnost duhanova štitastog moljca

Duhanov štitasti moljac vektor je 111 od ukupno 114 poznatih virusa koje prenose kukci iz porodice Aleyrodidae (Jones, 2003). Za razliku od lisnih ušiju koje prenose većinom neperzistentne tipove virusa, štitasti moljci prenose tek nekolicinu. *Bemisia tabaci* zajednički je vektor većine semiperzistentnih floemskih virusa. Također, *B. tabaci* isključivi je vektor perzistentnih virusa poput virusa žućenja i kovrčavosti lista rajčice (*Tomato yellow leafcurl virus*, TYLCV) te ga, nakon usvajanja, prenosi tijekom cijelog života, a *T. vaporariorum* može ih usvojiti, ali ne i prenositi (Jiang i sur., 2000.). Prijenos TYLCV-a iz srednjeg crijeva u hemolimfu odvija se u prosjeku 30 minuta nakon početnog usvajanja kroz usni aparat, a DNK TYLCV-a ostane prisutan i u mednoj rosi *B. tabaci* (Ghanim i sur., 2001.). Begomovirusi poput spomenutog TYLCV-a, iako perzistentni, ne utječu konstantno na performanse i navike vektora niti ih kontinuirano privlače manipulacijom biljke domaćina (Eigenbrode, 2017.). Ipak, utječu na vektora koji preferira zaražene biljke u odnosu na nezaražene (Feres i sur., 2016.). Brojni virusi uvijanja i žućenja lista raznih povrtnih kultura prenosivi su isključivo vektorom *B. tabaci*, a *T. vaporariorum* je, pak, vektor tek nekolicine virusa, poput: *Tomato chlorosis virus* (ToCV), *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) te nekolicine virusa uzročnika žućenja lisne vaskulature, poput *Potato yellow vein virus* (PYDV). O kapacitetu prijenosa biljnih virusa od strane štitastih moljaca i lisnih ušiju najviše svjedoči podatak da oni zajedno prenose preko 46 % svih dosad opisanih biljnih virusa (Gilbertson i sur., 2015.).

CIKADE – PRIJENOSNICI VIRUSA, BAKTERIJA I FITOPLAZMI

Polimorfne cikade, dužine tijela 3 do 4 mm, kratkih krila te bodljom s kojom se hrane sokom staničja ksilema, floema ili parenhimskog tkiva pripadnici su porodice Cicadellidae. Cikade su po mnogočemu morfološki i biološki različite od lisnih ušiju no dijele sličnosti usnog ustroja, prilagođenoga za probadanje i sisanje (Mukhopadhyay, 2010.). Podložnost suhim i hladnim uvjetima umanjuje njihov reprodukcijski potencijal, međutim pri umjerenoj temperaturi (20 – 28 °C) te visokoj relativnoj vlažnosti zraka, brzina reprodukcije raste. Porodici Cicadellidae pripada 60 potporodica od kojih je kod samo dvije poznato da prenose biljne viruse. Cikade potporodice Agallinae hrane se isključivo floemskim i parenhimskim staničjem dikotiledonskih domaćina, a pripadnici potporodice Deltocephalinae hrane se ksilemom monokotiledonskih biljaka i prenose više od 70 % biljnih virusa kojima su vektori cikade (Mukhopadhyay, 2010.). Uz viruse prenose i brojne patogene iz vaskularnog tkiva bilja, poput fitoplazmi, spiroplazmi i bakterija.

Tablica 2. Patogeni prenošeni cikadama i načini njihova prijenosa
Table 2. Pathogens transmitted by leafhoppers and their transmission characteristics

Patogen	Cikada - vektor	Način prijenosa
1. Virus crtičavosti kukuruza <i>Maize streak virus</i>	<i>Cicadulina mbila</i> (Naude); <i>C. ghauri</i> (Ghauri); <i>C. arachidis</i> (China)	Perzistentan, cirkulativan, nepropagativan
2. Stolbur fitoplazma <i>Candidatus phytoplasma solani</i>	<i>Hyalesthes obsoletus</i> (Signoret); <i>Reptalus panzeri</i> (Löw) <i>Philaneus spumarius</i> (L.); <i>Graphocephala</i>	Cirkulativan
3. <i>Xylella fastidiosa</i>	<i>atropunctata</i> (Signoret); <i>Homalodisca vitripennis</i> (Germar)	Necirkulativan
4. Virus mozaične kržljivosti kukuruza <i>Maize dwarf mosaic virus</i>	<i>Graminella nigrifrons</i> (Forbes)	Semiperzistentan
5. Virus žute kržljivosti krumpira <i>Potato yellow dwarf virus</i>	<i>Agallia constricta</i> (van Duzee)	Perzistentan, cirkulativan, propagativan

Infektivnost cicada

Prema Mukhopadhyay (2010.) cikade prenose perzistentne viruse, no zasad je poznato da prenose i tri semiperzistentna virusa, pri čemu su ženke aktivniji prijenosnici od mužjaka. Distribucija ovih virusa unutar tijela cikada još uvijek je nerazjašnjena, no poznato je da se gube prilikom presvlačenja. Poznat je prijenos brojnih perzistentnih nepropagativnih i propagativnih virusa, no njihovo usvajanje i učinkovitost prijenosa variraju između različitih vrsta cikada. Primjerice *Cicadulina mbila*, *C. ghauri* i *C. arachidis* mogu biti vektori istog virusa crtičavosti kukuruza (*Maize streak virus* – MSV), no njihova međusobna minimalna razdoblja usvajanja, minimalna razdoblja inokulacije te učinkovitost prijenosa značajno variraju (Mukhopadhyay, 2010.). Cikade su također prijenosnici fitoplazmi, uzročnika mnogobrojnih biljnih bolesti, poput crnog drva (Bois noir) - žutice vinove loze, stolbura krumpira ili crvenila kukuruza za koje je poznato da ih uzrokuje stolbur fitoplazma (*Candidatus phytoplasma solani*, CPs). Fitoplazme su fitopatogene bakterije bez stanične stijenke koje se umnažaju u floemu biljaka i stanicama kukaca, a budući da su obligatni unutarstanični paraziti nije ih moguće prenijeti mehaničkom inokulacijom, već isključivo kukcima vektorima koji se hrane floemom ili zaraženim sadnim materijalom (Plavec, 2019.). O biologiji i životnom ciklusu vektora polifagnih cikada, poput *Hyalesthes obsoletus* (Signoret, 1865) i *Reptalus panzeri* (Löw,

1883) ovisi i intenzitet prijenosa CPs-a, kao i o prisutnosti korovnih biljaka slaka (*Convolvulus arvensis* L.) i koprive (*Urtica dioica* L.) koji su njihovi primarni domaćini (Cvrković i sur., 2014.). Brojne populacije *R. panzeri* ukazuju na prelazak te cikade na kukuruz kao novog domaćina, a pretpostavlja se da je to posljedica specifične kombinacije hranjivih tvari posebno privlačnih vektoru nastalih zbog rotacije usjeva (Jović i sur., 2009.). Međutim, poznato je i da usvajanje fitoplazmi kod određenih cikada vektora može proširiti njihov spektar pogodnih domaćina (Purcell, 1988.), što bi sugeriralo određeni manipulativni učinak fitoplazme na vektora.

U posljednje vrijeme pridaje se poseban istraživački interes cikadama vektorima karantenske fitopatogene bakterije *Xylella fastidiosa* koja u zaraženim biljkama kolonizira provodne snopove (ksilem). Do sada je utvrđen veći broj vrsta iz porodica Cicadellidae, Aphrophoridae i Cercopidae koje prenose *X. fastidiosa* sa zaraženih na nezaražene biljke. U Europi je potvrđena vektorska uloga *Philaneus spumarius* (Linnaeus, 1758) dok se *Cicadella viridis* (Linnaeus, 1758) navodi kao potencijalni vektor. *Ph. spumarius* polifagna je vrsta, dosad zabilježena na više od 500 biljnih vrsta, a preferira biljke iz porodice Fabaceae. Imago *Ph. spumarius* izrazito je polimorfan, u početku je svijetlozelene boje dok se starenjem mijenja u prošaranu, tamnosmeđu. Ličinke luče zaštitne sluzaste sekrete koji podsjećaju na pjenu u kojoj ostaju do pojave odraslih jedinaka. Njihov razvoj, ovisno o vremenskim prilikama, traje 5 do 8 tjedana te se u početku hrane prizemnim dijelom biljaka, poslije se sele na lišće te pod osnovu cvijeta. *Ph. spumarius* direktnom ishranom ne nanosi velike štete, no kao vektor bakterije *X. fastidiosa* ozbiljna je prijetnja uzgoju vinove loze, maslina te brojnih drugih drvenastih voćnih kultura. Direktna utjecaj patogenih bakterija na kukce vektore može potpuno izmijeniti preferenciju vektora prema biljkama različitog zdravstvenog statusa (Ingwell i sur., 2012.). Primjerice, cikade vektori bakterije *X. fastidiosa* prestaju preferirati biljke vinove loze prethodno zaražene istom bakterijom. Odnosno, infektivne se cikade usmjeravaju prema nezaraženim biljkama (Daugherty i sur., 2011.). Perzistentnost bakterija koje se prenose vektorima ovisi o specijaliziranosti prema biljnim tkivima koja koloniziraju. *Xylella fastidiosa* jedina je poznata bakterija koja kolonizira ksilem te je u semiperzistentnom odnosu sa svojim vektorima (Perilla-Henao i Casteel, 2016.). Moguće je da upravo semiperzistentan odnos s vektorom omogućuje bakteriji *X. fastidiosa* da koristi širok spektar kukaca i biljaka domaćina (Perilla-Henao i Casteel, 2016.). Suprotno *X. fastidiosa*, sve poznate floemske bakterije ostvaruju perzistentan odnos sa svojim vektorima. Sve patogene bakterije koriste svoje vektore kao alternativne domaćine te se stoga smatraju propagativnima. Reprodukcijska bakterija može se odviti intercelularno (između staničja domaćina) te intracelularno (unutar stanica domaćina). Primjerice, *X. fastidiosa* reproducira se intercelularno unutar vektora te je necirkulativna, dok se većina drugih,

floemskih bakterija reproducira intracelularno cirkulativnim, propagativnim putem (Perilla-Henao i Casteel, 2016.). Ovisno o potrebi, *X. fastidiosa* proizvodi različite toksine, izvanstanične polisaharide, adhezive i hemoglutinine zbog utjecanja na vektor poticanjem presvlačenja i virulentnog ponašanja (Nascimento i sur., 2016.). Korištenjem međustaničnih signalnih senzora i difuznih signalnih faktora (DSF) ova bakterija raspoznaje kada je i koji produkt potrebno proizvoditi zbog utjecaja na vektor i pojačanje vlastitog prijenosa (Perilla-Henao i Casteel, 2016.).



Slika 3. Odrasla jedinka *Ph. spumarius*, vektora karantenske bakterije *Xylella fastidiosa* (Izvor: Cheryl Moorehead, www.bugwood.org).

Slika 4. Rubne i vršne nekroze na lišću masline zaražene bakterijom *Xylella fastidiosa* (snimio M. Bjeliš, izvor: www.savjetodavna.hr).



SPECIFIČNOST TRIPSA U PRIJENOSU PERZISTENTIH VIRUSA

Tripsi prijenosnici biljnih virusa pripadaju porodici Thripidae te su većinom vektori virusa koje odlikuje perzistentan odnos s vektorom. Glavni su predstavnici *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895.) i *Thrips tabaci* (Lindemann, 1889.). Osim male veličine (1 do 2 mm), glavna je morfološka odlika ovih štetnika nedostatak desne gornje

vilice, a lijeva im je izdužena i šiljasta. Potpuno razvijena krila uska su im i membranasta, a usni ustroj prilagođen za bodenje i sisanje. Polifagni su štetnici koji se hrane sadržajem subepidermalnog staničja biljaka domaćina s različitih dijelova biljke (Mound, 1996.). Odrasle jedinke *Thrips tabaci* žive oko 20 dana s nekoliko generacija godišnje. Većina vrsta tripsa odlaže jaja u biljna tkiva te se nakon 2 do 3 dana, ovisno o temperaturi biljke, izlegu. Životni ciklus od jaja do odraslog stadija traje 15 do 30 dana, a sastoji se od dva stadija ličinaka, dva stadija puparija i odraslog stadija. Karakterizira ih usvajanje virusa tijekom stadija nezrele ličinke. Odrasle jedinke koje se razvijaju iz zaraženih ličinaka i same su zarazne, međutim nezaražene jedinke ne mogu usvojiti viruse hranjenjem zaraženom biljkom (Mukhapahdhyay, 2010.). Mužjaci su učinkovitiji vektori virusa od ženka, a daljnjim razvojem ličinaka do zrelosti smanjuje se mogućnost usvajanja virusa. *Frankliniella occidentalis* ekonomski je značajan štetnik zbog sposobnosti prijenosa Tomato spotted wilt virus (TSWV). Infektivni put ovog virusa započinje ulaskom preko apikalne membrane i vezanjem u srednje crijevo, što omogućuju glikoproteini koji prepoznaju proteine lokalizirane unutar srednjeg crijeva tripsa i na njih se vežu (Bandla i sur., 1998.). Stupanj umnažanja virusa u srednjem crijevu kao i brzina prelaska u pljuvačne žlijezde tripsa određuju učinkovitost prijenosa tog virusa (Nagata i sur., 2002.). Specifičnost barijera unutar tijela tripsa te prisutnost odgovarajućih proteina na kojima se glikoproteini virusa vežu, razlozi su prijenosa ovog virusa isključivo specijaliziranim vektorom.

ZAKLJUČAK

Budući da patogeni utječu na ponašanje vektora, nemoguće je opisivati odlike kukaca vektora kao zasebnu cjelinu, odvojenu od koevoluirajućih endosimbiontskih ili patogenih bakterija, virusa, fitoplazmi ili spiroplazmi. Među patogenima je prisutna izražena specifičnost prema kukcu koji ih prenosi. Anatomske i metaboličke predispozicije vektora odrednice su kompatibilnosti za prijenos različitih patogena. Mehanizmi prijenosa patogena mogu biti značajno različiti, sa sličnošću ili bez sličnosti među genotipovima, strategijama umnažanja ili reprodukcije. Ponašanje vektora podložno je promjeni pod indirektnim utjecajem patogena posredstvom kemijskih promjena kod zaražene biljke domaćina ili pod direktnim utjecajem i aktivnosti patogena unutar metabolizma vektora. Patogeni različitih strategija prijenosa odražavaju i različite obrasce utjecaja na ponašanje i učinkovitost vektora. Proučavanjem pozadinskih mehanizama utjecaja patogena na kukce u budućnosti će biti moguće razviti nove strategije suzbijanja populacija kukaca vektora te ograničavanja prijenosa patogena. Ipak, važno je naglasiti da je naše razumijevanje kompleksnih interakcija između kukca, patogena i biljke još uvijek nepotpuno.

INSECT VECTORS OF PLANT DISEASES**SUMMARY**

Insects from the Hemiptera and Thysanoptera order are vectors of numerous pathogenic viruses, bacteria, fungi, phytoplasmas and spiroplasmas. They are characterized by fast reproduction and a broad plant-host spectre which they damage either directly by feeding or indirectly through transmittance of pathogenic organisms. Modern-day research of insect vectors is focused on investigating the mechanisms underlying the pathogen's influence over its vector. It also aims to discover the molecular and metabolic components in plants, pathogens and their vectors which facilitate pathogen transmission and disease spread. Aphids (Aphididae), whiteflies (Aleyroidae) and thrips (Thripidae) are most important vectors of numerous plant viruses. Leafhoppers belonging only to Agallinae and Deltocephalinae subfamilies transmit viruses whereas numerous species within Cicadellidae, Aphrophoridae and Cercopidae family, transmit phytoplasmas, bacteria as well as quarantine pathogens such as the bacteria *Xylella fastidiosa*. All pathogens transmitted by insect vectors use complex strategies to enhance effectiveness of their transmission and spread. Most pathogens show high specificity towards their insect vectors since certain anatomical and genetic predispositions must be appeased in order to achieve successful transmission. Pathogens also devised intriguing ways to manipulate vector behaviour and change its feeding and reproductive habits. In this review, we present biological predispositions of different vector-insects for pathogen transmission, highlight mechanisms in plant-vector-pathogen interactions and point out distinct ways of pathogen transmission.

Key words: Aphididae, Aleyroidae, Cicadellidae, Thripidae, pathogen transmission, insect manipulation

Zahvala

Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom „Bilinogojstvom do sekundarnih biljnih metabolita: primjena mineralnih hraniva i elicitora za povećanje koncentracije fenola u listu masline“ (UIP-2017-05-8464). Rad doktoranda Marina Cukrova sufinanciran je iz „Projekta razvoja karijera mladih istraživača – izobrazba novih doktora znanosti“ Hrvatske zaklade za znanost (DOK-2020-01-3872).

LITERATURA

Bandla, M. D., Campbell, L. R., Ullman, D. E., Sherwood, J. L. (1998.). Interaction of tomato spotted wilt tospovirus (TSWV) glycoproteins with a thrips mid-gut protein, a potential cellular receptor for TSWV. *Phytopathology*, 88, 98-104

Blanc, S., Michalakakis, Y. (2016.). Manipulation of hosts and vectors by plant viruses and impact of the environment. *Current opinion in insect science*, 16, 36–43

Bosque-Perez, N. A., Eigenbrode, S. D. (2011.). The influence of virus-induced changes in plants on aphid vectors: insights from luteovirus pathosystems. *Virus research*, 159, 201–205

Bragard, C., Caciagli, P., Lemaire, O., Lopez-Moya, J. J., MacFarlane, S., Peters, D., Susi, P., Torrance, L. (2013.). Status and prospects of plant virus control through interference with vector transmission. *Annual review of phytopathology*, 51, 177–201.

Cvrković, T., Jović, J., Mitrović, M., Krstić, O., Toševski, I. (2014.). Experimental and molecular evidence of *Reptalus panzeri* as a natural vector of bois noir. *Plant pathology*, 63, 42–53

Daugherty, M. P., Rashed, A., Almeida, R. P. P., Perring, T. M. (2011.). Vector preference for hosts differing in infection status: sharpshooter movement and *Xylella fastidiosa* transmission. *Ecological entomology*, 36, 654–662.

Dietzgen, R. G., Mann, K. S., Johnson, K. N. (2016.). Plant virus-insect vector interactions: current and potential future research directions. *Viruses*, 8, 303.

Eigenbrode, S. D., Bosque-Perez, N. A., Davis, T. S. (2017.). Insect-borne plant pathogens and their vectors: ecology, evolution and complex interactions. *Annual review of entomology* 63, 169-191.

Fereres, A., Penaflor, M., Favaro, C., Azevedo, K., Landi, C. (2016.). Tomato infection by whitefly transmitted circulative and non-circulative viruses induce contrasting changes in plant volatiles and vector behaviour. *Viruses*, 8, 225–240.

Freeman, T. P., Buckner, J. S., Nelson, D. R., Chu, C., Henneberry, T. J. (2001.). The process of stylet penetration by the silver leaf whitefly, *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) into host leaf tissue. *Annals of the entomological society of America*, 94(5), 761-768.

Froissart, R., Michalakis, Y., Blanc, S. (2002.). Helper component transcomplementation in the vector transmission of plant viruses. *Phytopathology*, 92, 576–579.

Ghanim M., Morin S., Czosnek H. (2001.). Rate of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) Translocation in the circulative transmission pathway of its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytopathology*, 91, 188–196.

Gilbertson, R. L., Batuman, O., Webster, C. G., Adkins, S. (2015.). Role of the insect supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. *Annual review in virology*, 2, 67–93.

Govier, D. A., i Kassanis, B. (1974.). A virus induced component of plant sap needed when aphids acquire potato virus Y from purified preparations. *Virology*, 61, 420-426.

Gray, S., Cilia, M., Ghanim, M. (2014.). Circulative, „nonpropagative” virus transmission: an orchestra of virus-, insect-, and plant-derived instruments. *Advances in virus research*, 89, 141-199.

Gray, S., Gildow, F. E. (2003.). Luteovirus-aphid interactions. *Annual review of phytopathology*, 41, 539-566.

Heck, M. (2018.). Insect transmission of plant pathogens: a systems biology perspective. *Perspective host-microbe biology*, 3 (2), 1-5.

Ingwell, L. L., Eigenbrode, S. D., Bosque-Perez, N. A. (2012.). Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. *Scientific report*, 2, 578.

Jiang, Y. X., De Blas, C., Barrios, L., Fereres, A. (2000.). Correlation between whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) feeding behaviour and transmission of tomato yellow leaf curl virus. *Annals of the entomological society of America*, 93, 573-579.

Jones, D. R. (2003.). Plant viruses transmitted by whiteflies. *European journal of plant pathology*, 109, 195-219.

Jović, J., Cvrković T., Mitrović, M., Krnjajić, S., Petrović, A., Redinbaugh, M.G.,

Pratt, R.C., Hogenhout, S.A., Toševski, I. (2009.). Stolbur phytoplasma transmission to maize by *Reptalus panzeri* and the disease cycle of maize redness in Serbia. *Phytopathology*, 99 (9), 1053-1061.

Mauck, K. E., De Moraes, C. M., Mescher, M. C. (2014.). Biochemical and physiological mechanisms underlying effects of Cucumber mosaic virus on host-plant traits that mediate transmission by aphid vectors. *Plant, cell & environment*, 37, 1427–1439.

Moreno, A., Hebrard, E., Uzest, M., Blanc, S., Fereres, A. (2005.). A single amino acid position in the helper component of cauliflower mosaic virus can change the spectrum of transmitting vector species. *Journal of virology*, 79, 21.

Mound, L. (1996.). The thysanopteran vector species of tospoviruses. *Acta Horticulturae*, 431, 298-309.

Mukhopadhyay, S. (2010.). *Plant virus, vector epidemiology and management*. ISBN: 978-1-57808-674-0 Science Publishers, Enfield, SAD.

Nagata, T., Inoue-Nagataka, A. K., van Lent, J., Goldbach, R., Peters, D. (2002.). Factors determining vector competence and specificity for transmission of Tomato spotted wilt virus. *Journal of general virology*, 83, 663-671.

Nascimento, R., Gouran, H., Chakraborty, S., Gillespie, H. W., Almeida-Souza, H. O., Tu, A. (2016.). The type II secreted lipase/esterase LesA is a key virulence factor required for *Xylella fastidiosa* pathogenesis in grapevines. *Scientific report*, 6, 18598.

Ng, J. C. K., Perry, K. L. (2004.). Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular plant pathology*, (5), 505-511.

Palacios, I., Drucker, M., Blanc, S., Leite, S., Moreno, A., Fereres, A. (2002.). Cauliflower mosaic virus is preferentially acquired from the phloem by its aphid vectors. *Journal of general virology*, 83, 3163–3171.

Pirone, P. T., Perry, K. L. (2002.). Aphids: non-persistent transmission. *Advances in botanical research*, 36, 1-19.

Pirone, T., Blanc, S. (1996.). Helper-dependent vector transmission of plant viruses. *Annual review of phytopathology*, 34, 227-247.

Plavec, J. (2019.). Nalazi i epidemiološki značaj *Candidatus* phytoplasma solani (stolbur fitoplazma) te mogućnost njezina širenja na druge gospodarske kulture u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*, 19 (6), 631-637.

Perilla-Henao, L. M., Casteel, C. L. (2016.). Vector-borne bacterial plant pathogens: Interactions with hemipteran insects and plants. *Frontiers in plant science*, 7, 1-15.

Purcell, A. (1988.). Increased survival of *Dalbulus maidis*, a specialist on maize, on non-host plants infected with mollicute plant pathogens. *Entomologia experimentalis et applicata*, 46, 187–196.

Šimala, M., Pintar, M., Masten Milek, T., Markotić, V. (2016.). Prvi nalaz štitastog moljca *Parabemisia myricae* (Kuwana 1927) (Hemiptera: Aleyrodidae) u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*, 16(3), 307-317.

Tamada, T., Harrison, B.D. (1981.). Quantitative studies on the uptake and retention of potato leafroll virus by aphids in laboratory and field conditions. *Annals of applied biology*, 98, 261-276.

Thornbury, D. W., Pirone, T. P. (1983.). Helper components of two potyviruses are serologically distinct. *Virology*, 125, 487-490.

Žanić, K., Mandušić, M., Gotlin-Čuljak, T., Dumičić, G. (2019.). Staklenički moljac ne zaobilazi ni tikvenjače. *Glasilo biljne zaštite* 19 (3), 415-422.

Pregledni rad