

Marcin Przybyś

*Institut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach*

WIRUS MOZAIKI OGÓRKA (CMV) I WIRUS BRĄZOWEJ PLAMISTOŚCI POMIDORA (TSWV) – WYSTĘPOWANIE, BUDOWA I KLASYFIKACJA*

Słowa kluczowe: wirus, CMV, TSWV, tytoń

Wstęp

Co roku nawet 40% światowych plonów jest niszczone przez różne agrofagi. Straty ekonomiczne powodowane przez wirusy roślinne szacuje się na miliardy dolarów. Wirusy mozaiki ogórka oraz brązowej plamistości pomidora są powszechnie występującymi patogenami na świecie mogącymi zakażać ponad 1000 gatunków roślin należących do kilkudziesięciu rodzin. Walka z tymi patogenami nie jest możliwa bez wnikliwego poznania ich biologii. W poniższym artykule przedstawiono budowę, klasyfikację, sposoby transmisji wirusów oraz możliwości zapobiegania infekcjom.

Wirus mozaiki ogórka (CMV)

Wirus mozaiki ogórka (CMV, ang. *Cucumber mosaic virus*) jest odpowiedzialny za istotne straty agronomiczne w wielu uprawach na całym świecie. Wirus ma prawdopodobnie największą liczbę żywicieli wśród wirusów roślinnych i wykazuje wysoki stopień różnorodności, o czym świadczy duża liczba izolatów różniących się zarówno pod względem biologicznym, jak i molekularnym. W 1991 r. Edwanson i Christie (45) donieśli o 1241 gatunkach żywicieli w 101 rodzinach roślin, w tym jednoliściennych i dwuliściennych. Wirus mozaiki ogórka to gatunek należący do rodzaju *Cucumovirus* i rodziny *Bromoviridae*. U większości zakażonych gospodarzy, w zależności od jego genotypu i szczepu wirusa, pojawiają się objawy mozaikowe, mniej lub bardziej nasilone. U tytoniu wywołuje deformacje liści i objawy mozaiko-

*Opracowanie wykonano w ramach zadania 7.1 pt. „Opracowanie i aktualizacja Programów integrowanej ochrony roślin uprawnych w zakresie tytoniu i chmielu” z dotacji budżetowej przeznaczonej na realizację zadań MRiRW w 2022 r.

we. Bardziej zjadliwe izolaty powodują miejscowe nekrozy lub nekrozy systemiczne, a niekiedy jasnożółte przebarwienia blaszki liściowej wzdłuż nerwów przypominające kształtem liść dębu. W indukcję jasnożółtej chlorozy tytoniu zaangażowane jest satelitarne RNA (satRNA) wirusa CMV (150, 155). Satelitarne RNA posiada 22-nukleotydową sekwencję komplementarną do mRNA jednostki I chelatazy protoforfiryny tytoniu (ChII), genu niezbędnego w syntezie chlorofilu. Badania wykazały, że chloroza tytoniu rozwijała się wskutek zmniejszenia ekspresji genu ChII powodowanego wyciszaniem RNA. Ciężkie objawy zakażenia wirusem mozaiki ogórka na tytoniu powodujące systemiczną nekrozę obserwowano w Stanach Zjednoczonych w latach pięćdziesiątych XX wieku (43, 53).

Istnieje wiele izolatów CMV o zróżnicowanych właściwościach biologicznych. Tradycyjna klasyfikacja szczepów wirusa CMV opierała się na patotypach i objawach morfologicznych u różnych gatunków żywicieli (78). Na przykład sześć izolatów CMV zidentyfikowano na podstawie zaobserwowanych odmiennych objawów na roślinach żywicielskich (54). Yasuo (183) na podstawie wywoływanych objawów sklasyfikował szczepy CMV w tytoniu na pięć grup, wykorzystując 10 różnych gatunków żywicieli (101). Hollings i in. (69) zidentyfikowali izolaty CMV z Wielkiej Brytanii według roślin wskaźnikowych jako podgrupy PY/Y i II. Jednak współczesna klasyfikacja szczepów wirusa mozaiki ogórka została stworzona na podstawie serologii (71, 72), hybrydyzacji kwasów nukleinowych (122), sekwencji genów (121, 161) oraz polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (135, 50). Na podstawie sekwencji nukleotydowej nieulegającego translacji regionu 5' (UTR) genomowego RNA3 pochodzące z całego świata izolaty wirusa CMV podzielono na trzy podgrupy: IA, IB i II (138). Podobieństwa sekwencji nukleotydowej między różnymi podgrupami wynoszą: 92%–94% (IA/IB), 74%–78% (IA/II) i 73%–78% (IB/II) (137, 139). Szczepy wirusa CMV sklasyfikowane jako IA i II występują na całym świecie, podczas gdy występowanie szczepów należących do podgrupy IB jest ograniczone głównie do wschodniej Azji (136). Wysoka różnorodność genetyczna szczepów CMV ma wpływ na różnice w ich właściwościach biologicznych. Ta różnorodność umożliwiła poznanie wpływu roli genów wirusa na zjadliwość poszczególnych izolatów CMV. Ogólnie szczepy z podgrupy I są bardziej zjadliwe niż szczepy z podgrupy II. Większość szczepów z podgrupy I powoduje silne objawy, w tym mozaikę, karłowatość i nekrozy, podczas gdy większość szczepów z podgrupy II powoduje bardzo łagodne objawy lub infekcję bezobjawową. Ponadto tolerancja izolatów wirusa na wysoką temperaturę jest większa w podgrupie I niż w podgrupie II (100). Do niedawna typowanie izolatów opierało się zasadniczo na sekwencji genu kapsydu (CP, ang. *Capsid Protein*). Jednak głębsza analiza pełnych sekwencji nukleotydowych wirusa wykazała, że drzewa filogenetyczne zbudowane na podstawie sekwencji innych białek tylko częściowo potwierdzały grupowanie zaproponowane wcześniej dla CP (IA, IB, II). Sugeruje to, że rekombinacja lub przynajmniej reasortacja mogła odgrywać ważną rolę w ewolucji CMV (136). Wirusy RNA przechodzą szybkie zmiany genetyczne poprzez mutacje, rekombinacje

lub w przypadku wirusów, których genom składa się z kilku cząsteczek RNA – reasortację (137). Podczas procesu rekombinacji donor zastępuje wysoce homologiczny region w akceptorze, co pozwala rekombinantowi zachować pierwotną organizację genomową macierzystej cząsteczki RNA (91). Chociaż znaczenie rekombinacji było niedoceniane we wczesnych badaniach ewolucji genomu wirusa, obecnie jest ona uznawana za szeroko rozpowszechnioną wśród wirusów o dodatniej (+) polarności nici RNA: u zwierząt (70, 178) i roślin (22, 171), a także w retrowirusach, takich jak ludzki wirus HIV typu I (55). Rekombinacja jest rzadkim lub nawet nieistniejącym zjawiskiem wśród wirusów o ujemnej polarności (-) nici RNA (23). Sekwencjonowanie i charakterystyka molekularna pełnych genomów wirusów RNA sugerują, że wiele naturalnych szczepów powstało w wyniku rekombinacji genetycznej między pokrewnymi lub niespokrewnionymi wirusami (91). Rekombinacja może być dominującą siłą w kształtowaniu architektury genetycznej organizmów i związanych z nimi fenotypów (128). Dlatego rekombinacja RNA jest coraz częściej uznawana za znaczące i powszechne zjawisko w biologii wirusów RNA (104). Generowanie zarówno rekombinantów, jak i reasortantów jest ograniczone występowaniem infekcji mieszanych. Dane dotyczące innych wirusów roślinnych pokazują, że rekombinanty są częstsze niż reasortanty (56, 57). Selekcja naturalna działa przeciwko reasortantom z uwagi na istnienie koadaptacji segmentów genomu (57).

Wiriony wirusa mozaiki ogórka są ikozaedrycznymi cząstkami o średnicy 28–30 nm i składają się ze 180 podjednostek pojedynczego białka kapsydu (CP) ułożonych w klastry pentamer-heksamer (108). Wiriony zawierają 18% RNA. Genom składa się z trzech jednoniciowych RNA o dodatniej polarności, nazwanych RNA1, RNA2 i RNA3 oraz subgenomowych RNA4 i RNA4A (154). Są one pakowane w oddzielne cząstki podobnie jak u innych wirusów roślinnych z podzielonymi genomami. Pozwala to na upakowanie większego genomu w bardzo prosty wirion, ale wymaga, aby wiele cząstek wirusa zaatakowało pojedynczą komórkę, aby zainicjować infekcję (136). CMV zawiera pięć otwartych ramek odczytu (ORF). Białka 1a (111 kDa), 2a (97 kDa) i 3a (30 kDa) ulegają translacji odpowiednio z genomowych RNA 1, 2 i 3, a białka 2b (15 kDa) i 3b (25 kDa) – odpowiednio z subgenomowych RNA 4A i RNA 4 (108).

RNA1 jest monocistronowy i koduje białko 1a, które posiada domenę metylotransferazy w części N-końcowej i motyw helikazy w części C-końcowej (188). Białko 1a jest składnikiem kompleksu replikazy wirusa (68). RNA2 koduje duże białko 2a, które posiada motyw GDD (Gly-Asp-Asp) typowy dla zależnej od RNA polimerazy RNA (RdRp) oraz małe białko 2b, które ulega ekspresji z otwartej ramki odczytu ORF 2b nakładającej się na 3'-końcową część ORF 2a (42). Białko 2a razem z białkiem 1a, wewnętrznymi białkami tonoplastu roślin i innymi niezidentyfikowanymi białkami gospodarza, tworzy replikazę wirusa (68, 84, 116). Bicistronowy RNA3 koduje białko 3a nazywane również białkiem MP (ang. *Movement Protein*) oraz białko kapsydu (CP). Chociaż pierwsza ORF każdego bicistronowego RNA jest wyrażana z genomowego RNA, druga ORF jest kodowana przez subgenomowe RNA4A (białko 2b) i RNA4

(CP). Całkowita długość każdego RNA może się nieznacznie różnić w zależności od szczepu, ale każda ORF różnych szczepów ma podobną wielkość, z wyjątkiem ORF 2a i ORF 2b – wirusów z podgrupy II, które są mniejsze niż ich odpowiedniki w podgrupie I (184). Każdy RNA ma strukturę czapeczki na swoim 5'-końcu i może przyjąć strukturę podobną do tRNA na 3'-hydroksylovanym końcu. Ponadto ok. 150 nukleotydów na 3'-końcach jest wysoce konserwatywnych wśród różnych szczepów.

U wirusa mozaiki ogórka mogą występować małe RNA (sRNA), wśród których wyróżnia się RNA5 i satelitarne RNA (satRNA). Mogą być one enkapsydowane podobnie do cząsteczek RNA1, RNA2 i RNA3. RNA5 występuje w izolatach CMV należących do podgrupy II, liczy około 300 nukleotydów długości i składa się z mieszaniny 3'-końców RNA2 i RNA3. W przeciwieństwie do genomowych i subgenomowych RNA, RNA5 nie ma czapeczki i nie zaobserwowano żadnych polipeptydów związanych z jego obecnością. Około dwudziestu nukleotydów zlokalizowanych na 5'-końcu RNA5, tworzących Box-1, jest wysoce konserwatywnych między CMV podgrupy II i – również należącym do rodzaju *Cucumovirus* – wirusem aspermy pomidora (TAV, ang. *Tomato aspermy virus*) (163). Ponadto zidentyfikowano cztery struktury typu stem-loop otaczające Box-1 u CMV. Mutacje w tych strukturach lub usunięcie Box-1 wpłynęły na wytwarzanie RNA5, ale nie miały wpływu na akumulację wirusa lub rozwój objawów chorobowych (163). De Wispelaere i Rao (38) wykazali ponadto, że produkcja RNA5 jest niezależna od namnażania wirusa. Box-1 nie występuje w podgrupie I CMV (163).

Satelitarne RNA występujące u wirusa mozaiki ogórka to małe, niekodujące RNA, które wykazują nieznaczne podobieństwo sekwencji do genomu wirusa, ale są w pełni zależne od białek kodowanych przez genom CMV w zakresie replikacji i enkapsydacji. Szczególną uwagę zwrócono na satelitarne RNA na początku lat osiemdziesiątych, kiedy wykazano, że nawet jeśli niektóre satelitarne RNA były odpowiedzialne za rozwój choroby na pomidorach, prawie wszystkie powodowały znaczny spadek akumulacji wirusa i nasilenia objawów u wszystkich innych badanych żywicieli, działając jak pasożyt wirusa. Po spowodowaniu szczególnie poważnych szkód w uprawach pomidorów w Hiszpanii, we Francji i Włoszech w latach osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych XX wieku, satelitarny RNA nie był wykrywany w innych epidemiach powodowanych przez CMV. Jego pochodzenie pozostaje niejasne, chociaż wykazano, że satelitarne RNA może pojawić się po kolejnych pasażach izolatów wolnych od satelitarnego RNA u niektórych gospodarzy, zwłaszcza tytoniu (74), a nawet z inokulum pochodzącym z cDNA (63).

Pierwszy etap replikacji wirusa obejmuje syntezę nici RNA o ujemnej (–) polaryzacji, która jest wykorzystywana do produkcji nici o polaryzacji dodatniej (+). Nici (+) spełniają trzy funkcje, tj.: stanowią mRNA do translacji, są matrycą do dalszej transkrypcji oraz mogą być wykorzystane do wytwarzania wirionów. Replikacja wirusowych cząsteczek RNA jest asymetryczna. Uważa się, że asymetria replikacji jest powszechna dla wirusów o dodatniej nici RNA. W przypadku CMV akumulacja

(-) nici osiąga plateau wkrótce po zakażeniu, podczas gdy akumulacja nici (+) nadal wzrasta i może osiągnąć poziom prawie 100-krotnie wyższy niż w przypadku nici (-) (147). Wykazano, że podczas gdy oba białka 1a i 2a są wymagane do syntezy nici (-), samo białko 2a może wytwarzać nici (+) z (-) matrycy genomowego lub subgenomowego RNA (147). Możliwość ta może tłumaczyć nie tylko obecność wolnego białka 2a w cytoplazmie, ale także wyższy udział nici (+) w zakażonych komórkach. Również fosforylacja białka 2a, zapobiegając jego połączeniu z białkiem 1a, może indukować przejście z syntezy nici (-) na (+) lub, alternatywnie, przejście od transkrypcji do translacji nici (+) (85). Jednocześnie enkapsydacja powoduje sekwestrację nici (+), a tym samym zapobiega transkrypcji lub translacji. Białko 2a wpływa również na zjadliwość wirusa. Wiele izolatów CMV indukuje miejscowe zmiany nekrotyczne, w których wirus jest ograniczany przez reakcję typu nadwrażliwości, jednak istnieją również izolaty zdolne do infekcji systemowej. Kim i Palukaitis (85, 86) ustalili, że dwa aminokwasy w pozycjach 631F i 641A białka 2a są odpowiedzialne za wywołanie miejscowych zmian nekrotycznych. Co ciekawe, podstawienie 631F → Y w białku 2a indukowało nekrozy systemiczne u wspięgi wężowatej (*Vigna unguiculata*). Również Divéki i in. (43), wykorzystując izolat Ns wirusa mozaiki ogórka, stwierdzili jego zdolność do wywoływania nekroz systemicznych u *N. clevelandii*, *N. glutinosa* i *N. tabacum* cv. Xanti. Wykazali oni, że aminokwas 461C w białku 1a jest czynnikiem determinującym śmierć komórki, podczas gdy jego substytucja na 461R nie powodowała takiej reakcji.

Białko 2b wpływa na przemieszczanie się wirusa oraz hamuje mechanizmy obronne gospodarza oparte na odporności indukowanej kwasem salicylowym (SA), kwasem jasmonowym (JA) i wyciszeniu RNA (60, 72, 75, 98, 156). Białko 2b jest ważnym wyznacznikiem wirulencji CMV. Podobieństwo sekwencji aminokwasowej białka 2b pomiędzy szczepami z podgrupy I i bezobjawowej podgrupy II wynosi 53%–54% (42), a białko 2b podgrupy I jest o 10 aminokwasów dłuższe niż białko 2b z podgrupy II (42). Uważa się, że różnica w zjadliwości między podgrupami I i II jest wynikiem różnic w genie 2b (149). Nasilenie objawów wywołanych przez szczepy CMV podgrup IA, IB i II jest w dużej mierze determinowane przez właściwości właśnie tego białka (44, 148), czego potwierdzeniem był łagodny mutant szczepu Q należący do podgrupy II CMV, który nie miał zdolności wytwarzania prawidłowego białka 2b, przez co nie był w stanie poruszać się ogólnoustrojowo w ogórku i wykazywał zmniejszoną indukcję objawów w roślinach *Nicotiana glutinosa* i *N. tabacum* (41, 75). Z kolei inny mutant 2b należący do podgrupy IA szczepu Fny (Fny-CMVΔ2b) przemieszczał się ogólnoustrojowo w *N. tabacum* i *N. benthamiana*, ale nie wywoływał objawów (156, 187). Konstytutywna ekspresja genów 2b z różnych szczepów CMV podgrupy II i podgrupy IA w transgenicznym roślinach *Nicotiana* spp. potwierdziła, że nasilenie objawów wywołanych przez te szczepy było związane ze zdolnością ich białek 2b do zakłócania regulacji ekspresji genów gospodarza przez (mi)RNA (20, 99, 186). Rośliny transgeniczne z ekspresją białka Fny-CMV 2b wykazywały objawy silnego

zniekształcenia liści, ogólne zahamowanie wzrostu i zaburzenia architektury korzeni (99), podczas gdy rośliny transgeniczne z ekspresją białka 2b z mutanta Q miały podobny wygląd do roślin nietransgenicznych (20, 99, 152, 186).

Przemieszczanie się wirusa na małe odległości do sąsiednich komórek odbywa się przez plasmodesmy. Choć wszystkie białka wirusowe mogą być zaangażowane w ten ruch, białko 3a (MP, ang. *Movement Protein*) kodowane przez RNA3 jest uważane za odpowiedzialne za przemieszczanie się wirusa. Białko MP posiada zdolność zwiększania SEL plazmodesm (ang. *Size Exclusion Limit*) poprzez zrywanie filamentów F-aktyny (159). SEL stanowi największą możliwą masę cząsteczki, która może przemieszczać się przez plazmodesmę na zasadzie dyfuzji (179). Wirusy w przemieszczaniu się na duże odległości wykorzystują floem i wędrują razem z asymilatami roślinnymi (111). Cząstki wirusa CMV migrują do poszczególnych organów przez rurki sitowe (129). Badania różnych kombinacji szczepów CMV i gatunków gospodarzy pokazują, że wszystkie białka wirusowe mogą mieć wpływ na przemieszczanie się wirusa na duże odległości, jednak to białka CP, MP i 2b odgrywają tu decydującą rolę. Szczególnie końcowy region białka MP odpowiada za infekcję systemiczną. Warianty wirusa pozbawione 33 aminokwasów na C-końcu białka MP nie były zdolne do wywołania zakażenia systemicznego roślin tytoniu (84). Ponadto białko 2b warunkuje migrację na duże odległości w sposób zależny od gospodarza. Usunięcie genu 2b zapobiegało infekcji ogólnoustrojowej ogórka, kabaczka, papryki i pomidora, ale nie miało wpływu w przypadku niektórych gatunków z rodzaju *Nicotiana* (41, 98, 156).

Białko kapsydu (CP) jest jedynym białkiem związanym z cząsteczkami wirusa i jedynym wyznacznikiem przenoszenia przez wektory mszyc. Niewielkie zmiany w sekwencji białka otoczki wirusa mogą wpływać na zdolność szczepów CMV do przenoszenia przez mszyce (123). Co więcej, według Mochizuki i Ohki (109) pewne pozycje aminokwasowe w białku CP pełnią ważne funkcje, w szczególności aminokwas w pozycji 129, w której mutacja wpływa na objawy wywoływane u gospodarza i wydajność przenoszenia wirusa.

W środowisku naturalnym wirus mozaiki ogórka jest przenoszony zarówno przez mszyce w sposób nietrwały, jak również przez nasiona niektórych gatunków żywicieli (13). Obecnie powszechnie uważa się, że przenoszenie wirusów przez mszyce przebiega w dwóch głównych trybach różniących się tym, czy wirusy w organizmie wektora ulegają replikacji czy nie (115). Transmisja wirusa CMV odbywa się w sposób nietrwały i odpowiada trybowi bez replikacji. Charakteryzuje się krótkim czasem pobierania i inokulacji (od sekund do minut) bez zatrzymywania się w ciele owada. Mszyce pozostają zakażone przez krótkie okresy i tracą zdolność przenoszenia wirusa chwilę po żerowaniu. Wirus CMV jest przenoszony przez ponad 85 gatunków mszyc (45). Gildow i in. (62) spośród 25 gatunków mszyc zebranych na kilku polach zidentyfikowali sześć z nich jako główne czynniki przyczyniające się do rozprzestrzeniania wirusa CMV w warunkach naturalnych: *Rhopalosiphum*

maidis, *Aphis gossypii*, *Therioaphis trifolii*, *A. fabae*, *A. glycines* i *Acyrtosiphon pisum*. Spośród nich wskazano cztery gatunki będące najbardziej wydajnymi wektorami: *A. gossypii*, *A. glycines*, *A. pisum* i *T. trifolii* (62). Badania wykazały, że nie ma związku między wydajnością transmisji a akumulacją wirusa w roślinie źródłowej, w przypadku gdy ta akumulacja wirusa jest powyżej pewnego poziomu (5). Poniżej tego poziomu wydajność transmisji zależy od akumulacji wirusa w roślinie źródłowej (10). Jak wspomniano wcześniej, satelitarne RNA drastycznie zmniejsza replikację genomu wirusa, szczególnie u gospodarzy psiankowatych (47). W takim przypadku populacja wektorów będzie determinować powodzenie epidemii wirusa. Opracowano nawet modele w celu wyjaśnienia tego zjawiska w uprawach pomidora (47). Pomidory zakażone CMV mogą rozwinąć objawy mozaikowe (izolaty wolne od satRNA), łagodne objawy (izolaty zawierające nienekrotyczny satRNA) lub nekrozy (izolaty zawierające nekrotyczny satRNA). Satelitarne RNA są mało rozpowszechnione w naturalnych izolatach. Chociaż izolat wolny od satRNA może być przenoszony ze źródła zawierającego nienekrotyczny satRNA, nigdy nie zaobserwowano tego w przypadku izolatów nekrotycznych (47). Najbardziej wydajnie przenoszone przez mszyce były izolaty wolne od satRNA, potem izolaty zawierające nienekrotyczne satRNA, a najmniej wydajnie – izolaty nekrotyczne (47).

Transmisja wirusa mozaiki ogórka jest możliwa również przez nasiona roślin uprawnych lub dzikich gatunków. Rośliny wyhodowane z zakażonych nasion stanowią główne źródło wirusa w uprawach, z których wirus może być skutecznie rozprzestrzeniany przez mszyce (123). Badanie nieskiełkowanych nasion na obecność wirusa jest istotne z punktu widzenia fitopatologicznego, ale może prowadzić do przeszacowania miana wirusa z powodu zanieczyszczenia tym patogenem okrywy nasiennej. Rzeczywiste przenoszenie CMV przez nasiona, czyli przez zarodek, zostało potwierdzone u fasoli, szpinaku (181), soczewicy (103), łubinu (119) oraz pieprzu (4). Wykrywanie wirusa w partiach nasion lub w roślinach z wykiełkowanych nasion zostało również udokumentowane u wspięgi wężowatej i fasoli złotej (7, 19), grochu, bobiku, ciecierzycy, wyki, konicyzny (94), pomidora (125), lucerny (76), grochu (117) i dyni (163). Wskaźniki przenoszenia są na ogół dość niskie – poniżej 2,5%, chociaż wystarczające do skutecznego wywołania epidemii. Wyższe wskaźniki obserwowano w przypadku soczewicy – do 9,5%, pomidora – 8%, szpinaku – 15% i wspięgi – 21%.

Istotnym zagadnieniem dotyczącym epidemii CMV jest rola żywicieli rezerwuarowych, którzy umożliwiają wirusowi przetrwanie między kolejnymi uprawami. CMV został opisany w wielu dzikich i zachwaszczonych roślinach występujących w środowisku naturalnym, gdzie wywołuje utajoną infekcję, ponieważ rośliny nie rozwijają żadnych widocznych objawów. Uważa się, że rośliny te stanowią główne zewnętrzne źródło infekcji dla roślin uprawnych i umożliwiają przetrwanie wirusa pomiędzy sezonami i następującymi po sobie uprawami, tym bardziej, że niektóre z nich mogą przenosić CMV przez nasiona. Chwasty stanowią również rezerwuar mszyc. Z tych powodów odchwaszczanie pól uprawnych jest jednym z kluczowych

elementów zintegrowanego zarządzania chorobami wirusowymi dla upraw ważnych ekonomicznie (77, 95).

W przypadku chorób wirusowych bardzo trudno opracować skuteczne metody zapobiegania infekcjom. Dotychczas wdrożono jednak kilka strategii polegających na zwalczaniu chwastów będących rezerwuarem wirusa, usuwaniu z plantacji zakażonych roślin i stosowanie nasion wolnych od patogenów. W celu zwalczania wektora – mszyc, stosowane są pestycydy chemiczne jak i biologiczne, tj.: pyretroidy, karbaminy oraz abamektyna pozyskiwana z bakterii glebowej *Streptomyces avermitilis* (100). Szeroki zakres żywicieli i duża liczba wektorów owadów sprawiają jednak, że zwalczanie choroby jest bardzo trudne (123). Ponadto chemiczne insektycydy są uważane za nieekonomiczne i nieprzyjazne dla środowiska. W Japonii w uprawie ogórków stosowany jest profilaktycznie szczep CM95 wirusa CMV w celu wywołania łagodnych objawów. Wykorzystywana jest w ten sposób ochrona krzyżowa przed zakażeniem upraw przez bardziej zjadliwe izolaty (90). Prowadzone są również prace nad wykorzystaniem bakterii *Bacillus velezensis*, znanej z silnego działania przeciwgrzybiczego, w trzech kierunkach ochrony przeciwwirusowej: zapobieganiu zakażeniom, ograniczaniu objawów po zakażeniu oraz inaktywacji wirionów CMV przed zakażeniem (2). Badania prowadzono na roślinach bielunia dziędzierzawy (*Datura stramonium*). Najciekawsze wyniki osiągnięto w teście inaktywacji wirionów. W tym celu mieszano takie same objętości oczyszczonego CMV i zawiesiny komórkowej *Bacillus velezensis*, inkubowano przez 1 godzinę i zakażano rośliny testowe. W efekcie doświadczenia stwierdzono 97% odsetek roślin bez objawów. Bardzo dobry efekt osiągnięto również w kierunku zapobiegania zakażeniom przez profilaktyczny oprysk filtrem komórek bakterii. Ponadto taki oprysk indukował odporność ogólnoustrojową powodującą podwyższony poziom transkrypcji genów PAL, CHS, HQT, PR-1 i POD w liściach *D. stramonium*. Stwierdzono również, że pirolo-[1,2-a]-pirazyno-1,4-dion produkowany przez *B. velezensis* jest głównym związkiem, który może działać jako cząsteczka elicytorowa indukująca odporność układową roślin i hamująca zarówno wzrost grzybów, jak i replikację wirusa. W konsekwencji *B. velezensis* można uznać za potencjalne źródło produkcji związków bioaktywnych do zwalczania chorób roślin. W innych badaniach zastosowanie u *Nicotiana benthamiana* oprysku zawiesiną *Bacillus amyloliquefaciens* powodowało zmniejszenie nasilenia objawów CMV i ograniczało akumulację wirusa w opryskiwanych liściach (96). Jednakże najskuteczniejszą, zrównoważoną i długotrwałą strategią zwalczania CMV jest hodowla odmian odpornych na choroby (182), chociaż konwencjonalne czynniki odporności mogą być niewystarczające lub zapewniać nieefektywną bądź krótkotrwałą ochronę (56).

Wirus brązowej plamistości pomidora (TSWV)

Wirus brązowej plamistości pomidora (TSWV, ang. *Tomato spotted wilt virus*) należy do rodzaju *Tospovirus*, rodziny *Bunyaviridae* (3, 87). *Bunyaviridae* to jedna

z największych rodzin wirusów RNA, do której należą wirusy ludzkie, zwierzęce i roślinne (46), posiadające trzysegmentowy genom. Rodzinę reprezentuje pięć odrębnych rodzajów: *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus*, *Hantavirus* i *Tospovirus* (127). TSWV ma bardzo szeroki zakres żywicieli – zaraża ponad 1000 gatunków roślin w 80 rodzinach i jest przenoszony przez wciornastki w sposób trwały (59, 124). Straty upraw spowodowane tym wirusem oszacowano na ponad 1 miliard dolarów rocznie (124). TSWV powoduje znaczne straty plonów w wielu uprawach rolniczych i ogrodniczych, takich jak: fasola, sałata, orzeszki ziemne, papryka, ziemniak, tytoń i pomidor (120, 124). TSWV może zarażać na wszystkich etapach wzrostu rośliny, od wysadzenia do dojrzałości. Jednak w przypadku tytoniu, młodsze – aktywnie rosnące rośliny wydają się być bardziej podatne na infekcję niż starsze (145). Objawy na tytoniu mogą mieć charakter pojedynczych, jasnych bądź żółtawych plam, ale mogą się też rozwinąć do symptomów ogólnoustrojowych i nekroz. Pojedyncze objawy świadczą o infekcji lokalnej. Infekcja z czasem staje się ogólnoustrojowa, kiedy z miejsca zakażenia zostanie przeniesiona do systemu korzeniowego, gdzie wirus podlega replikacji (25). Infekcja ogólnoustrojowa często występuje, gdy czynniki środowiskowe, takie jak temperatura, nawadnianie lub opady deszczu, powodują nagły wzrost rośliny. Infekcja ogólnoustrojowa prowadzi do nekroz liści i pąków wierzchołkowych. Często wywołuje objawy widoczne na połowie powierzchni liścia oraz powoduje zagięcie wierzchołka łodygi, co wskazuje, że wirus może się przemieszczać w ksylemie (25).

Analiza porównawcza pełnych sekwencji genomu kilku izolatów TSWV, w tym brazylijskiego TSWV BR-01 pozyskanego z *Nicotiana rustica*, TSWV-YN z *Chenopodium quinoa*, TSWV-KP z *Capsicum annuum*, TSWV-1, TSWV-2 i TSWV-3 z pomidora i papryki oraz trzech hiszpańskich izolatów: LL-N.05 (typ dziki), Pujoll TL3 (przełamujący odporność warunkowaną genem Sw-5) i PVR (przełamujący odporność warunkowaną genem Tsw), wykazała ponad 90% identyczności sekwencji nukleotydów, co wskazuje na stosunkowo konserwatywny genom tego wirusa (29, 30, 35, 66, 83, 89). Na podstawie szczegółowej wiedzy o brazylijskim izolacie BR-01 pochodzącym z *Nicotiana rustica*, TSWV został sklasyfikowany jako jedyny członek rodzaju *Tospovirus* w rodzinie *Bunyaviridae* (51, 52).

Historycznie de Ávila i in. (32, 33, 34) wykazali, że 21 izolatów pochodzących z różnych obszarów geograficznych i upraw można podzielić na trzy odrębne serogrupy przy użyciu przeciwciał poliklonalnych skierowanych przeciwko białku N kodowanemu przez tego wirusa. Większość badanych izolatów należało do serogrupy I, w tym izolat typu BR-01. Izolaty serogrupy I słabo reagowały z przeciwciałami przeciwko wirusom serogrupy II i nie reagowały z przeciwciałami wytworzonymi przeciwko wirusom serogrupy III. Ponadto serogrupa II została podzielona na dwa odrębne serotypy (34). Serogrupa III składała się z niemal identycznych izolatów z roślin niecierpka pochodzących z USA (93) oraz Holandii (28, 32), różniących się serologicznie całkowicie od wirusów serogrup I i II (32, 33, 92, 93).

Aby ustalić kryteria definiowania różnych tospowirusów jako gatunku, określono i porównano sekwencje nukleotydowe genów N i skład aminokwasowy produktów z siedmiu izolatów wstępnie sklasyfikowanych w trzech serogrupach (32). Określono sekwencje nukleotydowe genów nukleoproteiny (N) siedmiu izolatów tospowirusów reprezentujących trzy serogrupy i zastosowano je do ustalenia parametrów filogenetycznych w celu określenia gatunków w obrębie rodziny *Bunyaviridae*. Wysoką rozbieżność sekwencji (55,9% identyczności na poziomie nukleotydów) zaobserwowano między izolatami serogrupy I i izolatami serogrupy III. Izolaty serogrupy II zajmowały pozycję pośrednią. Ich geny N wykazują 75% identyczności z genami izolatów serogrupy I i 57% z genami izolatów serogrupy III. Podczas gdy izolaty w obrębie serogrup I lub III mają prawie identyczne sekwencje, dwa izolaty BR-03 i SA-05 z serogrupy II znacznie różniły się od siebie (82,1% identyczności sekwencji). Na podstawie sekwencji nukleotydowej genów N izolaty należące do serogrupy I sklasyfikowano jako wirus TSWV, izolaty należące do serogrupy III jako wirus nekrotycznej plamistości niecierpka (INSV, ang. *Impatiens necrotic spot virus*), a w obrębie serogrupy II wyodrębniono dwa dodatkowe gatunki: wirus chlorotycznej plamistości pomidora (TCSV, ang. *Tomato chlorotic spot virus*) i pierścieniową plamistość orzeszków ziemnych (GCSV, ang. *Groundnut chlorotic spot virus*) (32).

Wiriony TSWV mają kulisty kształt i średnicę 80–120 nm. Zewnętrzna błona składa się z lipoprotein zawierających dwie glikoproteiny – GN i GC, które odgrywają kluczową rolę w tworzeniu cząstek wirusa, dojrzewaniu i uwalnianiu w organizmie gospodarza (114). Na powierzchni otoczki wirusa występują w postaci kolców (132). Niedawno przewidziano trójwymiarowe struktury tych dwóch białek, które wykazały, że koniec karboksylowy GN jest niezbędny do heterodimeryzacji z GC. Co więcej, badanie dokowania białko-ligand przewidziało tunikamycynę i dystamycynę-A jako najskuteczniejsze substancje działające przeciwwirusowo w stosunku do TSWV (157).

Genom TSWV składa się z rybonukleoprotein niosących trzy różne RNA: nić genomowego RNA o ujemnej polaryzacji i długości około 8,9 kb (RNA L) oraz dwa ambisensowne RNA o długościach około 4,8 kb (RNA M) i 2,9 kb (RNA S). Każdy gen wirusa jest transkrybowany jako oddzielny mRNA, a następnie wykorzystywany do translacji jego produktów białkowych (166). Pierwszych dziewięć nukleotydów na końcu 3' każdego genomowego RNA jest wysoce konserwatywnych i ma odwróconą komplementarność w stosunku do końców 5', co ułatwia parowanie zasad na końcach i tworzenie struktur typu *panhandle*, które sprawiają, że każdy genomowy RNA ma wygląd pseudokolisty (39, 79).

Po wejściu do roślinnej komórki gospodarza genom wirusowy jest replikowany w cytoplazmie dzięki aktywności zależnej od RNA polimerazy RNA (RdRp), kodowanej przez genomowy RNA L (83). Ta komplementarna nić RNA L zawiera pojedynczą ramkę odczytu (ORF), która koduje białko RdRp o masie 331,5 kDa niezbędne do replikacji RNA (83, 170).

RNA M koduje pojedynczą poliproteinę, która jest prekursorem zarówno dla glikoprotein GN, jak i GC. Później ta poliproteina jest trawiona proteolitycznie, aby uzyskać dojrzałe białka GN i GC o masach odpowiednio: 58 i 95 kDa (173).

RNA S koduje białko nukleokapsydu (N) o masie 28,8 kDa. Funkcją białka N jest enkapsulacja wirusowego RNA w otoczce wirusa (133). W komórkach roślinnych białko N lokalizuje się w cytoplazmie jako duże ciała inkluzyjne (131), które mogą gromadzić się w sposób okołojądrowy (40, 110) i są związane z siecią zależną od aktyny i retikulum endoplazmatycznego (48, 49, 130). Białko N oddziałuje z genomowym RNA, a podczas składania cząstek rybonukleoproteiny (RNP) złożonych z RdRp, białka N i genomowego RNA są otoczone cysternami aparatu Golgiego (81). Te cysterny zawierają białka GN i GC, co powoduje powstawanie cząstek wirusa o podwójnej otoczce (81), prawdopodobnie poprzez interakcje GN i GC z wirusowymi RNP (130, 131). Cząsteczki wirusa ostatecznie łączą się ze sobą i z błonami pochodzącymi z retikulum endoplazmatycznego, tworząc w ten sposób duże pęcherzyki, które zostają pokryte pojedynczą otoczką (80, 81, 82). W tej formie wirus jest pobierany przez owady (80, 81). Przypuszcza się, że otoczkowanie umożliwi przeniesienie wirusa przez wciornastki. Nie jest ono jednak konieczne do zainfekowania roślin, o czym świadczy fakt, że izolaty, które nie tworzą cząstek otoczki są zakaźne dla roślin, ale nie podlegają transmisji przez wciornastki (153).

Genomowe RNA M i RNA S kodują również dwa niestrukturalne białka o masach 33,6 i 30 kDa, które są nazwane odpowiednio: NSm i NSs (61, 102). Białka te określane są białkami niestrukturalnymi, ponieważ nie występują w wirionach i są obecne tylko w komórkach zakażonych przez TSWV (166). Białko NSm ułatwia rozprzestrzenianie się wirusa w organizmie gospodarza, podczas gdy białko NSs działa jako supresor wyciszania RNA, w celu pokonania bariery odpornościowej gospodarza (161). Podczas infekcji roślin patogeny wirusowe, w tym TSWV, muszą ominąć mechanizmy obronne gospodarza, takie jak wyciszanie RNA (15, 161). W roślinach białko NSs wiąże małe interferujące RNA (siRNA) i mikroRNA (miRNA), a także długie dwuniciowe dupleksy RNA (64, 143). Pozwala to na zahamowanie zarówno miejscowego, jak i systemowego wyciszania genów u gospodarzy roślinnych (65, 67). Odporność papryki na TSWV warunkowana jest obecnością genu awirulencji Tsw (37, 105). Jej skuteczność zależy od budowy białka NSs. Już pojedyncza zmiana aminokwasu w tym białku w pozycji 104 (T→A) powoduje przełamanie tej odporności (6). Domena N-końcowa w NSs jest ważna dla jego awirulencji i funkcji supresji wyciszania RNA (36). Dwa konserwatywne motywy, GKV/T w pozycjach 181–183 i YL w pozycjach 412–413, mają kluczowe znaczenie dla wyciszania funkcji supresorowej NSs (185). Białka NSs są powszechnie spotykane w bunyawirusach zakażających rośliny i kręgowce (65). Wszystkie te białka działają w wysoce skoordynowany sposób, co pomaga w wystąpieniu infekcji TSWV w komórkach gospodarza. Prawidłowa interakcja między NSm i N jest wymagana do transportu wirusa z komórki do komórki przez plasmodesmy (88). Ostatnio wytworzono strukturę krystaliczną białka N, pokazu-

jąc, że to białko ma domenę składającą się z płata N i C z dodatnio naładowanym rowkiem i potencjalnym miejscem wiązania RNA. Ponadto stwierdzono, że domeny w białku N są flankowane przez ramiona N- i C-końcowe pośredniczące w interakcjach z sąsiednimi podjednostkami (61).

W przypadku białek NSm i NSs, które są kodowane w przeciwnej orientacji w stosunku do pozostałych trzech białek wirusowych, transkrypcja z komplementarnego RNA wirusa daje subgenomowe RNA do translacji tych produktów białkowych. Jak wykazano w przypadku dwóch subgenomowych RNA kodowanych przez RNA S, transkrypcja jest terminowana przez konserwatywne motywy sekwencji na ich końcach 3' tworzących strukturę typu *stem-loop* (169), która zwiększa wydajność translacji (58). Proces ten pozwala wirusowi na skuteczne wykorzystanie maszynarii ekspresyjnej gospodarza w celu nadania priorytetu ekspresji jego własnych białek. Co ciekawe, analiza transkryptomu zakażonych roślin wykazała, że infekcja wirusowa zmienia również metabolizm DNA gospodarza, potencjalnie wpływając na ekspresję i przetwarzanie genów roślinnych podczas procesu infekcji (18, 24, 146).

Wśród tospowirusów przenoszonych przez wciornastki TSWV znajduje się w pierwszej dziesiątce najważniejszych ekonomicznie wirusów roślinnych na świecie (142). Wirus jest przenoszony w sposób trwały wyłącznie przez wciornastki, z których najskuteczniejszym jest wciornastek zachodni [*Frankliniella occidentalis* (Pergande)], chociaż w przypadku tytoniu głównym wektorem jest wciornastek tytoniowiec (*Thrips tabaci*). Dla innych roślin wektorami mogą być wciornastek melonowy (*Thrips palmi*) czy wciornastek chili (*Scirtothrips dorsalis*) (140, 172, 174). Wciornastki to bardzo małe owady (na ogół <1 mm długości), które należą do rzędu *Thysanoptera*. Szacuje się, że istnieje ponad 6000 gatunków wciornastków (16). Najbardziej rozpowszechnione i wydajne wektory TSWV są polifagiczne, co sprzyja rozpowszechnieniu wirusa wśród wielu gatunków roślin. Wciornastki są niebezpieczne nie tylko dlatego, że przenoszą TSWV, ale również ze względu na szkody wynikające z ich żerowania (97). Duże populacje wciornastków na młodych roślinach mogą powodować zahamowanie wzrostu roślin i opóźniać dojrzewanie upraw.

Związek między wciornastkami a wirusem jest szczegółowy, ponieważ dorosłe owady są zdolne do przenoszenia TSWV tylko po tym, jak nabędą wirusa we wczesnym stadium larwalnym (168). Zakażenie i replikacja TSWV wewnątrz wciornastków jest procesem złożonym i podlega wielokrotnym interakcjom między wirusem a białkami gospodarza. Podczas przemieszczania się wirusa z jelita środkowego do gruczołów ślinowych TSWV musi pokonać co najmniej sześć barier błonowych wewnątrz wciornastków (173). Światło jelita środkowego wciornastków jest miejscem, w którym zachodzi początkowa interakcja między glikoproteinami TSWV a receptorami jelita środkowego, po której wirus wnika do komórek jelita żywiciela prawdopodobnie drogą endocytotyczną (173). Z wnętrza komórek jelita środkowego wirus jest przenoszony do sąsiednich komórek jelita środkowego, a także nabywany przez larwy wciornastków. Z komórek jelita środkowego wirus przenosi się do

komórek mięśni trzewnych i pierwotnych gruczołów ślinowych, gdzie się replikuje. Cały cykl namnażania wirusa wewnątrz wciornastków rozpoczyna się od nabycia wirusa przez wciornastki w ich stadiach larwalnych (L1 i L2), przetrwania wirusa w stadiach poczwarki (P1 i P2) oraz akumulacji w gruczołach ślinowych (113, 144). Po zakażeniu gruczołów ślinowych dorosłe osobniki podczas żerowania wraz ze śliną uwalniają wirusa do komórek roślinnych. W związku z tym TSWV replikuje się zarówno w wektorze, jak i w roślinie żywicielskiej. Wykazano, że infekcja TSWV zwiększa płodność wektora, bowiem wzrost jego populacji jest intensywniejszy na zarażonych roślinach w stosunku do niezainfekowanych roślin (9, 106, 118, 151).

Badanie zależności między mianem wirusa u dorosłego wciornastaka zachodniego a zdolnością zakażenia roślin ujawniło silny pozytywny związek między mianem wirusa a częstotliwością przenoszenia na gospodarza roślinnego, zarówno w przypadku wciornastków męskich, jak i żeńskich (141). Badania wskazują, że miano wirusa lub jego zdolność do rozprzestrzeniania się w ciele owada jest związana z kompetencją wektora, a słaba transmisja TSWV może wiązać się z niezdolnością wirusa do przeniesienia się z jelita środkowego do gruczołów ślinowych. W badaniach Nagata i in. (113) TSWV był obecny w gruczołach ślinowych kompetentnych dorosłych osobników wciornastków *T. tabaci* i *F. occidentalis*, ale nie został wykryty w gruczołach ślinowych dorosłych osobników niekompetentnych *T. tabaci*, które były karmione na zainfekowanych liściach w pierwszych stadiach rozwojowych. Infekcje u wciornastków z populacji niekompetentnej ograniczały się do tkanek jelita środkowego. Nieefektywna transmisja wirusa może być również spowodowana ograniczoną replikacją wirusa w populacjach *T. tabaci* (17). Ponadto izolaty TSWV różnią się wydajnością przenoszenia przez wciornastki, a zmienność ta wynika ze zróżnicowania genetycznego zarówno wirusa, jak i wektora, na którą ma również wpływ roślina żywicielska. Jacobson i Kennedy (73) wykorzystali linie izożeńskie (litokotyczne) *T. tabaci* oraz izolaty TSWV pochodzące z kilku lokalizacji geograficznych i przetestowali skuteczność transmisji dla różnych kombinacji izolatów wirusa i wektora. Eksperymenty wykazały, że genetycznie podobne wciornastki przenosiły różne izolaty TSWV z odmienną wydajnością, co wskazuje, że zróżnicowanie genetyczne wirusa miało wpływ na jego transmisję. Dalsze badania wykazały, że ten sam izolat wirusa był przenoszony z różną wydajnością przez wielorakie izolacje wciornastków.

Infekcja TSWV wyzwała odpowiedź immunologiczną *Frankliniella occidentalis*. Ustalono, że aktywowane geny ulegały zwiększonej transkrypcji i obejmowały: geny kodujące peptydy przeciwdrobnoustrojowe, takie jak defensyna i cekropina, geny lektyny, która jest zaangażowana w rozpoznawanie patogenów, geny receptorów aktywujących wrodzoną odpowiedź immunologiczną (Toll-3) oraz geny kodujące elementy szlaków transdukcji sygnału aktywowane przez receptory Toll-3-podobne, takie jak kinaza JNK (107). Chociaż większość udokumentowanych skutków obecności wirusa jest pozytywna, istnieją również doniesienia o negatywnym (31, 159) i neutralnym (176) wpływie TSWV na wciornastki. W przeciwieństwie do

F. occidentalis, w przypadku hodowli wciornastków *Frankliniella fusca* na roślinach zakażonych TSWV czas ich rozwoju do osiągnięcia dojrzałości jest wydłużony, a przeżycie i wielkość dorosłych osobników zmniejszona i dodatkowo modulowana przez czynniki biotyczne i abiotyczne (159). Efekty te zależały od izolatu TSWV i były silniejsze w wyższych temperaturach. Glikoproteiny TSWV odgrywają główną rolę w całym cyklu życiowym wirusa wewnątrz wciornastków. Wykazano, że glikoproteina GC jest prawdopodobnie wirusowym białkiem fuzyjnym analogicznym do podobnych białek w bunyawirusach zakażających zwierzęta, podczas gdy mutacje w ORF glikoproteiny GN powodują utratę zdolności przenoszenia TSWV przez wciornastki (114, 153). Stwierdzono, że specyficzna niesynonimiczna mutacja w ORF glikoproteiny GN hamuje przenoszenie wirusa przez wciornastki, jednak nie wpływa na tworzenie wirionów (153). W przeciwieństwie do tego zjawiska mutacje delecyjne w ORF glikoprotein mają wpływ na tworzenie otoczki wirusa i utratę zdolności do jego transmisji przez wciornastki (114). Testy wiązania *in vivo* wykazały, że rozpuszczalna forma glikoproteiny GN TSWV wiąże się z komórkami nabłonka jelita środkowego wciornastków i zmniejsza przyswajanie TSWV, co wskazuje, że GN może działać jako wirusowy ligand, który pośredniczy w przyłączaniu TSWV do receptorów jelita środkowego wciornastków (175). Ponadto zaobserwowano, że karmienie wciornastków glikoproteiną GN powoduje znaczne zmniejszenie przenoszenia przez nich wirusa, co sugeruje, że transmisję TSWV przez wciornastki można ograniczyć przez egzogenną aplikację wirusowej glikoproteiny (173). Oprócz glikoprotein wykazano również udział białka NSs w przenoszeniu wirusa przez wciornastki (105). Zaobserwowano, że TSWV niosące skrócone białko NSs nie może być przenoszone przez wciornastki, co wskazuje na kluczową rolę białka NSs w transmisji TSWV przez te owady (105).

Wśród mechanizmów molekularnych leżących u podstaw interakcji wirus–wciornastek–roślina Abe i in. (1) wykazali rolę antagonistycznego działania między kwasem salicylowym (SA) i kwasem jasmonowym (JA) w indukowanej systemicznej odporności roślin przeciwko patogenom. Autorzy zasugerowali, że zwiększona wydajność wciornastków na roślinach zakażonych TSWV była spowodowana zmniejszeniem obrony roślin regulowanej przez kwas jasmonowy (JA), która u roślin zakażonych wirusem była tłumiona przez wzrost odpowiedzi obronnych regulowanych przez kwas salicylowy (SA). Inne badania dowodzą, że niestrukturalne białko NSs hamuje biosyntezę monoterpenu, o których wiadomo, że są repelentami *F. occidentalis* poprzez bezpośrednią interakcję z czynnikami transkrypcyjnymi MYC, kluczowymi regulatorami szlaku sygnałowego kwasu jasmonowego (JA) (180).

Od chwili wprowadzenia zainfekowanego materiału roślinnego na dany obszar, to wciornastki zaczynają odgrywać kluczową rolę w rozprzestrzenianiu się wirusa. W związku z tym ilość początkowego inokulum, liczba gatunków wciornastków i podatnych roślin żywicielskich są ważnymi czynnikami w rozprzestrzenianiu się wirusa w warunkach polowych (26). Ponieważ tylko wciornastki, które nabyły wirusa jako

larwy są w stanie przetrwać wirusa jako osobniki dorosłe (174), dlatego kluczowe dla rozprzestrzeniania się wirusa stają się czynniki pogodowe i klimatyczne, które sprzyjają wzrostowi, rozmnażaniu i przemieszczaniu się wciornastków z rośliny na roślinę (124). Nawietrzne krawędzie pól, gdzie występują zainfekowane wirusem TSWV chwasty, w pobliżu upraw polowych, są bardziej podatne na zakażenie (177). Wirus może przetrwać zarówno w gospodarzach roślinnych, jak i owadziach, a szeroki zakres żywicieli roślinnych umożliwia wirusowi przetrwanie i zimowanie w różnych chwastach. Również klimat, w którym ani temperatura, ani opady nie zakłócają wzrostu chwastów oraz populacji wciornastków, sprzyja rozprzestrzenianiu się TSWV (21, 112). Ważnym aspektem ograniczania rozwoju infekcji TSWV jest zastosowanie insektycydów lub wprowadzenie dostępnych w handlu drapieżników wciornastków, takich jak *Amblyseius cucumeris*, *Hypoaspis miles* i *Orius insidiosus* (134). Można również zastosować zabiegi kulturowe polegające na izolacji upraw, wykorzystaniu siatek ochronnych lub innych sposobów ograniczania populacji wektorów (27, 124). Innym sposobem walki z TSWV jest wysadzenie roślin wolnych od choroby oraz minimalizowanie obecności chwastów i samosiewów na polach (77, 124). Stosowanie chemicznych środków do zwalczania wciornastków doprowadziło do rozwoju populacji wciornastków odpornych na insektycydy (11), a środki owadobójcze do listne są często stosunkowo nieskuteczne w hamowaniu rozprzestrzeniania się wirusa w warunkach polowych (26, 124). Najskuteczniejszą metodą ograniczania infekcji powodowanych przez TSWV i zapobiegania jego rozprzestrzenianiu się jest wdrażanie do uprawy odmian odpornych. Takie odmiany wprowadzono u pomidora (gen Sw-5) i papryki (gen Tsw), a w przypadku tytoniu prowadzone są prace hodowlane w tym kierunku (12, 158, 165). Ponieważ dostępne źródła odporności na TSWV są ograniczone, a dodatkowo w ostatnich latach coraz częściej pojawiają się izolaty wirusa przelamujące wymienione źródła odporności, prowadzone są badania nad transgenicznymi odmianami odpornymi. Poprzez wprowadzenie wirusowego materiału genetycznego do genomu gospodarza można aktywować naturalny mechanizm obrony roślin przed wirusami – wyciszanie RNA. W wielu przypadkach udało się uzyskać taką odporność na wirusy (14, 126). Obecnie jednak żadne odmiany transgeniczne nie są dostępne na rynku. Niedawne odkrycie, że dwuniciowy RNA ma działanie owadobójcze u wciornastków, otwiera możliwości opracowania nowych metod ograniczania populacji wektora (8). Odporność, która zmniejsza przeżywalność lub płodność wciornastków prawdopodobnie pomogłaby w opanowaniu rozprzestrzeniania się wirusa, szczególnie że wciornastki muszą nabywać wirusa jako larwy i nie mogą łatwo przemieszczać się między roślinami, aż do osiągnięcia dorosłości.

Literatura

1. Abe H., Tomitaka Y., Shimoda T., Seo S., Sakurai T., Kugimiya S.: Antagonistic plant defense system regulated by phytohormones assists interactions among vector insect, thrips and a Tospovirus. *Plant & Cell Physiology*, 2012, **53**: 204-212.

2. Abdelkhalik A., Behiry S.I., Al-Askar A.A.: *Bacillus velezensis* PEA1 Inhibits *Fusarium oxysporum* Growth and Induces Systemic Resistance to Cucumber Mosaic Virus. *Agronomy*, 2020, **10**, 1312.
3. Adams M.J.: Changes to taxonomy and the international code of virus classification and nomenclature ratified by the international committee on taxonomy of viruses. *Archives of Virology*, 2017, **162**: 2505-2538.
4. Ali A., Kobayashi M.: Seed transmission of Cucumber mosaic virus in pepper. *Journal of Virological Methods*, 2010, **163**: 234-237.
5. Ali A., Li H., Schneider W.L., Sherman D.J., Gray S., Smith D., Roossinck M.J.: Analysis of genetic bottlenecks during horizontal transmission of Cucumber mosaic virus. *Journal of Virology*, 2006, **80**: 8345-8350.
6. Almási A., Nemes K., Csömör Z., Tóbiás I., Palkovics L., Salánki K.: A single point mutation in Tomato spotted wilt virus NSs protein is sufficient to overcome Tsw-gene-mediated resistance in pepper. *Journal of General Virology*, 2017, **98**: 1521-1525.
7. Babovic M., Bulajic A., Delibasic G., Milijic S., Todorovic D.: Role of bean seed in transmitting Bean common mosaic virus and Cucumber mosaic virus. *Acta Horticulturae*, 1997, **462**: 253-258.
8. Badillo-Vargas I.E., Rotenberg D., Schneweis B.A., Whitfield A.E.: RNA interference tools for the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Insect Physiology*, 2015, **76**: 36-46.
9. Belliure B., Janssen A., Maris P.C., Peters D., Sabelis M.W.: Herbivore arthropods benefit from vectoring plant viruses. *Ecology Letters*, 2005, **8**: 70-79.
10. Betancourt M., Fereres A., Fraile A., Garcia-Arenal F.: Estimation of the effective number of founders that initiate an infection after aphid transmission of a multipartite plant virus. *Journal of Virology*, 2008, **82**: 12416-12421.
11. Bielz A.P.: Insecticide resistance management strategies against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Pest Management Science*, 2008, **64**: 1131-1138.
12. Boiteux L.S., Deavila A.C.: Inheritance of a resistance specific to Tomato spotted wilt tospovirus in *Capsicum chinense* 'PI-159236'. *Euphytica*, 1994, **75**:139-142.
13. Bonnetta J., Frailea A., Sacrista ña S., Malpicab J.M., Garcí 'a-Arenal F.: Role of recombination in the evolution of natural populations of Cucumber mosaic virus, a tripartite RNA plant virus. *Virology*, 2005, **332**: 359-368.
14. Bucher E., Lohuis D., van Poppel P.M.J.A., Geerts-Dimitriadou C., Goldbach R., Prins M.: Multiple virus resistance at a high frequency using a single transgene construct. *Journal of General Virology*, 2006, **87**: 3697-3701.
15. Bucher E., Sijen T., deHaan P., Goldbach R., Prins M.: Negative-strand tospoviruses and tenuiviruses carry a gene for a suppressor of gene silencing at analogous genomic positions. *Journal of Virology*, 2003, **77**: 1329-1336.
16. Buckman R.S., Mound L.A., Whiting M.F.: Phylogeny of thrips (Insecta: *Thysanoptera*) based on five molecular loci. *Systematic Entomology*, 2013, **38**: 123-133.
17. Cabrera-Losa J.C., Kennedy G.G.: *Thrips tabaci* and Tomato spotted wilt virus: inheritance of vector competence. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2007, **124**: 161-166.
18. Catoni M., Miozzi L., Fiorilli V., Lanfranco L., Accotto G.P.: Comparative analysis of expression profiles in shoots and roots of tomato systemically infected by Tomato spotted wilt virus reveals organspecific transcriptional responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, **22**: 1504-1513.
19. Chalam V.C., Parakh D.B., Khetarpal R.K., Maurya A.K., Anju J., Singh S.: Interception of seed-transmitted viruses in cowpea and mungbean germplasm imported during 2003. *Indian Journal of virology*, 2008, **19**: 12-16.

20. Chapman E.J., Prokhnovsky A.I., Gopinath K., Dolja V.V., Carrington J.C.: Viral RNA silencing suppressors inhibit the microRNA pathway at an intermediate step. *Genes & Development*, 2004, **18**: 1179-1186.
21. Chappeil T.M., Beaudoin A.L.P., Kennedy G.G.: Interacting virus abundance and transmission intensity underlie Tomato spotted wilt virus incidence: an example weather-based model for cultivated tobacco. *PLoS One*, 2013, **8**: e73321.
22. Chare E.R., Holmes E.C.: A phylogenetic survey of recombination frequency in plant RNA viruses. *Archives of Virology*, 2006, **151**: 933-946.
23. Chare E.R., Gould E.A., Holmes E.C.: Phylogenetic analysis reveals a low rate of homologous recombination in negative sense RNA viruses. *Journal of General Virology*, 2003, **84**: 2691-2703.
24. Choi H., Jo Y., Lian S., Jo K.M., Chu H.: Comparative analysis of chrysanthemum transcriptome in response to three RNA viruses: Cucumber mosaic virus, Tomato spotted wilt virus and Potato virus X. *Plant Molecular Biology*, 2015, **88**: 233-248.
25. Csinos A.: Symptomology of TSWV in tobacco. In: *Tospoviruses in solanaceous and other crops in the coastal plain of Georgia*. University of Georgia CAES Bulletin, 2009, **1354**: 31-34.
26. Culbreath A.K., Todd J.W., Brown S.L.: Epidemiology and management of tomato spotted wilt in peanut. *Annual Review of Phytopathology*, 2003, **41**: 53-75.
27. David M.K., Peter M.H.: *Fields Virology* (Lippincott Williams & Wilkins, ed. 6), 2013, pp. 2264.
28. de Haan P., de Avila A.C., Kormelink R., Westerbroek A., Gielen J.J., Peters D., Goldbach R.: The nucleotide sequence of the S RNA of impatiens necrotic spot virus, a novel tospovirus. *FEBS Letters*, 1992, **306**: 27-32.
29. de Haan P., Kormelink R., de Oliveira Resende R., van Poelwijk F., Peters D., Goldbach R.: Tomato spotted wilt virus L RNA encodes a putative RNA polymerase. *Journal of General Virology*, 1991, **72**: 2207-2216.
30. de Haan P., Wagemakers L., Peters D., Goldbach R.: The S RNA segment of tomato spotted wilt virus has an ambisense character. *Journal of General Virology*, 1990, **71**: 1001-1007.
31. DeAngelis J., Sether D., Rossignol P.: Survival, development, and reproduction in western flower thrips (*Thysanoptera: Thripidae*) exposed to impatiens necrotic spot virus. *Environmental Entomology*, 1993, **22**: 1308-1312.
32. de Ávila A.C., de Haan P., Kormelink R., de Resende R.O., Goldbach R.W., Peters D.: Classification of tospoviruses based on phylogeny of nucleoprotein gene sequences. *Journal of General Virology*, 1993a, **74(2)**: 153-159.
33. de Avila A.C., de Haan P., Smeets M., Resende R. de O., Kormelink R., Kitajima E.W., Goldbach R.W., Peters D.: Distinct levels of relationships between tospoviruses isolates. *Archives of Virology*, 1993b, **128**: 211-227.
34. de Avila A.C., Huguenot C., Resende R. de O., Kitajima E.W., Goldbach R.W., Peters D.: Serological differentiation of 20 isolates of tomato spotted wilt virus, 1. *Gen. Viral.* 1990, **71**: 2801-2807.
35. Debreczeni D.E., López C., Aramburu J., Darós J.A., Soler S., Galipienso L., Falk B.W., Rubio L.: Complete sequence of three different biotypes of tomato spotted wilt virus (wild type, tomato Sw-5 resistance-breaking and pepper Tsw resistance-breaking) from Spain. *Archives of Virology*, 2015, **160**: 2117-2123.
36. de Ronde D., Pasquier A., Ying S., Butterbach P., Lohuis D., Kormelink R.: Analysis of Tomato spotted wilt virus NSs protein indicates the importance of the N-terminal domain for avirulence and RNA silencing suppression. *Molecular Plant Pathology*, 2014, **15**: 185-195.
37. de Ronde D., Butterbach P., Lohuis D., Hedil M., van Lent J.W., Kormelink R.: Tsw gene-based resistance is triggered by a functional RNA silencing suppressor protein of the Tomato spotted wilt virus. *Molecular Plant Pathology*, 2013, **14**: 405-415.
38. de Wispelaere M., Rao A.L.N.: Production of Cucumber mosaic virus RNA5 and its role in RNA recombination. *Virology*, 2009, **384**: 179-191.

39. Dehaan P, Wagemakers L, Peters D, Goldbach R.: Molecular-cloning and terminal sequence determination of the S RNA and MRNA of Tomato spotted wilt virus. *Journal of General Virology*, 1989, **70**: 3469-3473.
40. Dietzgen R.G., Martin K.M., Anderson G., Goodin M.M.: In planta localization and interactions of impatiens necrotic spot tospovirus proteins. *Journal of General Virology*, 2012, **93**: 2490-2495.
41. Ding S.W., Li W.X., Symons R.H.: A novel naturally occurring hybrid gene encoded by a plant RNA virus facilitates long distance virus movement. *EMBO Journal*, 1995, **14**: 5762-5772.
42. Ding S.W., Anderson B.J., Haase H.R., Symons R.H.: New overlapping gene encoded by the cucumber mosaic virus genome. *Virology*, 1994, **198**: 593-601.
43. Divéki Z., Salánki K., Balázs E.: The necrotic pathotype of the Cucumber mosaic virus (CMV) ns strain is solely determined by amino acid 461 of the 1a protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2004, **17**: 837-845.
44. Du Z.Y., Chen F.F., Liao Q.S., Zhang H.R., Chen Y.F., Chen J.S.: 2b ORFs encoded by subgroup IB strains of cucumber mosaic virus induce differential virulence on *Nicotiana* species. *Journal of General Virology*, 2007, **88**: 2596-2604.
45. Edwards J.R., Christie R.G.: Cucumoviruses. *CRC Handbook of viruses infecting legumes*. CRC Press, Boca Raton, Fla, 1991, p. 293-319.
46. Elliott R.M.: *The Bunyaviridae*. Plenum Press, New York and London, 1996, p. 1-18.
47. Escriu F., Perry K.L., Garcia-Arenal F.: Transmissibility of Cucumber mosaic virus by *Aphis gossypii* correlates with viral accumulation and is affected by the presence of its satellite RNA. *Phytopathology*, 2000, **90**: 1068-1072.
48. Feng M., Cheng R., Chen M., Guo R., Li L., Feng Z., Wu J., Xie L., Hong J., Zhang Z., Kormelink R., Tao X.: Rescue of tomato spotted wilt virus entirely from complementary DNA clones. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020, **117**(2): 1181-1190.
49. Feng Z.K., Chen X.J., Bao Y.Q., Dong J.H., Zhang Z.K., Tao X.R.: Nucleocapsid of Tomato spotted wilt tospovirus forms mobile particles that traffic on an actin/endoplasmic reticulum network driven by myosin XI-K. *New Phytologist*, 2013, **200**: 1212-1224.
50. Finetti Sialer M.M., Cillo F., Barbarossa L., Gallitelli D.: Differentiation of Cucumber mosaic virus subgroups by RT-PCR RFLP. *Journal of Plant Pathology*, 1999, **81**: 145-148.
51. Francki R.I.B., Fauquet C.M., Knudson D.D., Brown F.: Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Archives of Virology Supplementum*, 1991, p. 21-450.
52. Francki R.I.B., Fauquet C.M., Knudson D., Brown F.: Classification and nomenclature of viruses: Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, *Archives of Virology Suppl.*, 1991, **2**: 281.
53. Fulton R.W.: Resistance in tobacco to cucumber mosaic virus infection. (Abstr.) *Phytopathology*, 1953, **43**: 472.
54. Fulton J.P.: Studies on strains of cucumber virus 1 from spinach. *Phytopathology*, 1950, **40**: 729-736.
55. Galeto R., Negroni M.: Mechanistic features of recombination in HIV. *AIDS Rev.*, 2005, **7**: 92-102.
56. Garcia-Arenal F., McDonald B.A.: An analysis of the durability of the resistance to plant viruses. *Phytopathology*, 2003, **93**: 941-952.
57. Garcia-Arenal F., Fraile A., Malpica J.M.: Variability and genetic structure of plant virus populations. *Annual Review of Phytopathology*, 2001, **39**: 157-186.
58. Geerts-Dimitriadou C., Lu Y.Y., Geertsema C., Goldbach R., Kormelink R.: Analysis of the Tomato spotted wilt virus ambisense S RNA-encoded hairpin structure in translation. *PLoS One*, 2012, **7**: e31013.

59. Gilbertson R.L., Batuman O., Webster C.G., Adkins S.: Role of the insect supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. Annual Review of Virology, 2015, **2**: 67-93.
60. Guo H.S., Xie Q., Fei J.F., Chua N.H.: MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor NAC1 to down regulate auxin signals for *Arabidopsis* lateral root development. Plant Cell, 2005, **17**: 1376-1386.
61. Guo Y., Liu B., Ding Z., Li G., Liu M., Zhu D., Sun Y., Dong S., Lou Z.: A distinct mechanism for the formation of the ribonucleoprotein complex of the Tomato spotted wilt virus. Journal of Virology, 2017 Nov 14, **91(23)**: e00892-17. doi: 10.1128/JVI.00892-17.
62. Gildow F.E., Shah D.A., Sackett W.M., Butzler T., Nault B.A., Fleischer S.J.: Transmission efficiency of Cucumber mosaic virus by aphids associated with virus epidemics in snap bean. Phytopathology, 2008, **98**: 1233-1241.
63. Hajimorad M.R., Ghabrial S.A., Roossinck M.: De novo emergence of a novel satellite RNA of Cucumber mosaic virus following serial passages of the virus derived from RNA transcripts. Archives of Virology, 2009, **154**: 137-140.
64. Hedil M., de Ronde D., Kormelink R.: Biochemical analysis of NSs from different tospoviruses. Virus Research, 2017, **242**: 149-155.
65. Hedil M., Kormelink R.: Viral RNA silencing suppression: The enigma of Bunyavirus NSs proteins. Viruses, 2016, **8**: 1-208.
66. Hu Z.Z., Feng Z.K., Zhang Z.J., Liu Y.B., Tao X.R.: Complete genome sequence of a tomato spotted wilt virus isolate from China and comparison to other TSWV isolates of different geographic origin. Archives of Virology, 2011, **156**: 1905-1908.
67. Hedil M., Sterken M.G., de Ronde D., Lohuis D., Kormelink R.: Analysis of tospovirus NSs proteins in suppression of systemic silencing. PLoS One, 2015, **10**: e0134517.
68. Hayes R.J., Buck K.W.: Complete replication of a eukaryotic virus RNA in vitro by a purified RNA-dependent RNA polymerase. Cell, 1990, **63**: 363-368.
69. Hollings M., Stone O.M., Brunt A.A.: Cucumber mosaic virus. Glasshouse Crops Research Institute Ann. Rept., 1967, p. 95-98.
70. Holmes E.C., Worobey M., Rambaut A.: Phylogenetic evidence for recombination in dengue virus. Molecular Biology and Evolution, 1999, **16**: 405-409.
71. Hu J.S., Li H.P., Barry K., Wang M., Jordan R.: Comparison of dot-blot, Elisa, and RT-PCR assays for detection of two Cucumber mosaic virus isolates infecting banana in Hawaii. Plant Disease, 1995, **79**: 902-906.
72. Ilardi V., Mazzei M., Loreti S., Tomassoli L., Barba M.: Biomolecular and serological methods to identify strains of Cucumber mosaic cucumovirus on tomato. EPPO Bulletin, 1995, **25**: 321-327.
73. Jacobson A.L., Kennedy G.G.: Specific insect-virus interactions are responsible for variation in competency of different *Thrips tabaci* isolines to transmit different Tomato spotted wilt virus isolates. PLoS One, 2013, **8**: e54567.
74. Jacquemond M., Tepfer M.: Satellite RNA-mediated resistance to plant viruses: Are the ecological risks well assessed? In: Plant Virus Disease Control, A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa (eds). APS Press, MN, USA, 1998, pp. 94-120.
75. Ji L.H., Ding S.H.: The suppressor of transgene RNA silencing encoded by Cucumber mosaic virus interferes with salicylic acid-mediated virus resistance. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2001, **14**: 715-724.
76. Jones R.A.C.: Occurrence of virus infection in seed stocks and 3-year-old pastures of lucerne (*Medicago sativa*). Australian Journal of Agricultural Research, 2004a, **55**: 757-764.
77. Jones R.A.C.: Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. Virus Research, 2004b, **100**: 5-30.

78. Kaper J.M., Waterworth H.E.: Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis, ed. E. Kurstak, North-Holland, NY: Elsevieri, 1981, pp. 257-332.
79. Kellmann J.W., Liebisch P., Schmitz K.P., Piechulla B.: Visual representation by atomic force microscopy (AFM) of Tomato spotted wilt virus ribonucleoproteins. *Biological Chemistry*, 2001, **382**: 1559-1562.
80. Kikkert M., Verschoor A., Kormelink R., Rottier P., Goldbach R.: Tomato spotted wilt virus glycoproteins exhibit trafficking and localization signals that are functional in mammalian cells. *Journal of Virology*, 2001, **75**: 1004-1012.
81. Kikkert M., Van Lent J., Storms M., Bodegom P., Kormelink R., Goldbach R.: Tomato spotted wilt virus particle morphogenesis in plant cells. *Journal of Virology*, 1999, **73**: 2288-2297.
82. Kikkert M., van Poelwijk F., Storms M., Kassies W., Bloksma H.: A protoplast system for studying Tomato spotted wilt virus infection. *Journal of General Virology*, 1997, **78**: 1755-1763.
83. Kim J.H., Kim Y.S., Jang S.W., Jeon Y.H.: Complete genome sequence of tomato spotted wilt virus from paprika in Korea. *International Journal of Phytopathology* 2013, **2**: 121-136.
84. Kim M.J., Kim H.R., Paek K.H.: *Arabidopsis* tonoplast proteins TIP1 and TIP2 interact with the cucumber mosaic virus 1a replication protein. *Journal of General Virology*, 2006, **87**: 3425-3431.
85. Kim S.H., Palukaitis P., Park Y.I.: Phosphorylation of cucumber mosaic virus RNA polymerase 2a protein inhibits formation of replicase complex. *EMBO Journal*, 2002, **21**: 2292-2300.
86. Kim C.H., Palukaitis P.: The plant defense response to Cucumber mosaic virus in cowpea is elicited by the viral polymerase gene and affects virus accumulation in single cells. *EMBO Journal*, 1997, **16**: 4060-4068.
87. Kormelink R., Garcia M.L., Goodin M., Sasaya T., Haenni A.L.: Negative-strand RNA viruses: The plant-infecting counterparts. *Virus Research*, 2011, **162**: 184-202.
88. Kormelink R., Storms M., Van Lent J., Peters D., Goldbach R.: Expression and subcellular location of the NSM protein of tomato spotted wilt virus (TSWV), a putative viral movement protein. *Virology*, 1994, **200**: 56-65.
89. Kormelink R., DeHaan P., Meurs C., Peters D., Goldbach R.: The nucleotide sequence of the MRNA segment of tomato spotted wilt virus, a bunyavirus with two ambisense RNA segments. *Journal of General Virology*, 1992, **73**: 2795-2804.
90. Kosaka Y., Fukunishi T.: Multiple inoculation with three attenuated viruses for the control of cucumber virus disease. *Plant Disease*, 1997, **81**: 733-738.
91. Lai M.M.C.: RNA recombination in animal and plant viruses. *Microbiol Reviews*, 1992, **56**: 61-79.
92. Law M.D., Speck J.V., Moyer J.W.: The MRNA of Impatiens necrotic spot tospovirus (*Bunyaviridae*) has an ambisense genomic organisation, *Virology*, 1992, **188(2)**: 732-741.
93. Law M.D., Moyer J.W.: A tomato spotted wilt virus with a serological distinct N protein, *Journal of General Virology*, 1990, **71**: 933-938.
94. Latham L.J., Jones R.A.C., McKirdy S.J.: Cucumber mosaic cucumovirus infection of cool-season crop, annual pasture, and forage legumes: Susceptibility, sensitivity, and seed transmission. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2001, **52**: 683-697.
95. Lecoq H., Pitrat M.: Field experiments on the integrated control of aphid-borne viruses in muskmelon. In: *Plant virus epidemiology. The spread and control of insect-borne viruses*, R.T. Plumb, J.M. Thresh (eds). Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, 1983, pp. 169-176.
96. Lee G.H., Ryu C.M.: Spraying of leaf-colonizing *Bacillus amyloliquefaciens* protects pepper from Cucumber mosaic virus. *Plant Disease*, 2016, **100**: 2099-2105.
97. Lewis T.: *Thrips as Crop Pests*. Wallingford, UK: CAB Int. 1997, pp. 736.
98. Lewsey M.G., Murphy A.M., Maclean D., Dalchau N., Westwood J.H., Macaulay K., Bennett M.H., Moulin M., Hanke D.E., Powell G., Smith A.G., Carr J.P.: Disruption of two defensive signaling pathways by a viral RNA silencing suppressor. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, **23**: 835-845.

99. Lewsey M., Robertson F.C., Canto T, Palukaitis P., Carr J.P.: Selective targeting of miRNA-regulated plant development by a viral counter-silencing protein. *Plant Journal*, 2007, **50**: 240-252.
100. Li N., Yu Ch., Yin Y., Gao S., Wang F., Jiao Ch., Yao M.: Pepper crop improvement against cucumber mosaic virus (CMV): A Review. *Frontiers in Plant Science*, 2020, **11**: 1-15.
101. Li S.: Advances in main vegetable crops breeding for diseases resistance in China. Beijing: Science Press, 1995, p. 78-94.
102. Lovato F.A., Inoue-Nagata A.K., Nagata T., de Ávila A.C., Pereira L.A.R., Resende R.O.: The N protein of Tomato spotted wilt virus (TSWV) is associated with the induction of programmed cell death (PCD) in *Capsicum chinense* plants, a hypersensitive host to TSWV infection. *Virus Research*, 2008, **137**: 245-252.
103. Makko K.M., Attar N.: Seed transmission of Cucumber mosaic virus and Alfalfa mosaic virus in lentil seeds. *Arab Journal of Plant Protection*, 2003, **21**: 49-52.
104. Mangrauthia S.K., Parameswari B., Jain R.K., Praveen S.: Role of genetic recombination in the molecular architecture of Papaya ringspot virus. *Biochem Genet*, 2008, **46**: 835-846.
105. Margaria P., Bosco L., Vallino M., Ciuffo M., Mautino G.C., Tavella L., Turina M.: The NSs protein of tomato spotted wilt virus is required for persistent infection and transmission by *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Virology*, 2014, **88**: 5788-5802.
106. Maris P.C., Joosten N.N., Goldbach R.W., Peters D.: Tomato spotted wilt virus infection improves host suitability for its vector *Frankliniella occidentalis*. *Phytopathology*, 2004, **94**: 706-711.
107. Medeiros R.B., Resende R. de O., de Avila A.C.: The Plant Virus Tomato Spotted Wilt Tosopovirus Activates the Immune System of Its Main Insect Vector, *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Virology*, 2004, **78(10)**: 4976-4982.
108. Mochizuki T., Ohki S.T.: Cucumber mosaic virus: viral genes as virulence determinants. *Molecular Plant Pathology*, 2012, **13(3)**: 217-225.
109. Mochizuki T., Ohki S.T.: Amino acid 129 in the coat protein of cucumber mosaic virus primarily determines invasion of the shoot apical meristem of tobacco plants. *Journal of General Plant Pathology* 2005, **71**: 326-332.
110. Montero-Astua M.: Unveiling and blocking the interaction between Tomato spotted wilt virus and its insect vector, *Frankliniella occidentalis*. PhD Diss., Kansas State Univ., 2012, pp. 163.
111. Moreno I.M., Thompson J.R., Garcia-Arenal F.: Analysis of the systemic colonization of cucumber plants by Cucumber green mottle mosaic virus. *Journal of General Virology*, 2004, **85**: 749-759.
112. Morsello S.C., Kennedy G.G.: Spring temperature and precipitation affect tobacco thrips, *Frankliniella fusca*, population growth and Tomato spotted wilt virus spread within patches of the winter annual weed *Stellaria media*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2009, **130**: 138-148.
113. Nagata T., Inoue-Nagata A.K., van Lent J., Goldbach R., Peters D.: Factors determining vector competence and specificity for transmission of Tomato spotted wilt virus. *Journal of General Virology*, 2002, **83**: 663-671.
114. Nagata T., Inoue-Nagata K., Prins M., Goldbach R., Peters D.: Impeded thrips transmission of defective tomato spotted wilt virus isolates. *Phytopathology*, 2000, **90**: 454-459.
115. Ng J.C.K., Perry K.L.: Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular Plant Pathology*, 2004, **5**: 501-511.
116. Nitta N., Takanami Y., Kuwata S., Kubo S.: Inoculation of RNAs 1 and 2 of cucumber mosaic virus induces viral RNA replication activity in tobacco mesophyll protoplasts. *Journal of General Virology*, 1988, **69**: 2696-2700.
117. Odedara O.O., Hughes J.D., Ayo-John E.I.: Diagnosis, occurrence and seed transmission studies of viruses infecting four *Centrosema* species in Nigeria. *Tropical Science*, 2007, **47**: 244-252.

118. O g a d a P.A., M a i s s E., P o e h l i n g H.M.: Influence of tomato spotted wilt virus on performance and behaviour of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). Journal of Applied Entomology, 2013, **137**: 488-498.
119. O'K e e f e D.C., B e r r y m a n D.I., C o u t t s B.A., J o n e s R.A.C.: Lack of seed coat contamination with Cucumber mosaic virus in lupin permits reliable, large-scale detection of seed transmission in seed samples. Plant Disease, 2007, **91**: 504-508.
120. O l i v e r J.E., W h i t f i e l d A.E.: The genus Tospovirus: Emerging Bunyaviruses that threaten food security. Annual Review of Virology, 2016, **3**: 101-124.
121. O w e n J., S h i n t a k u M., A e s c h l e m a n P., T a h a r S.F., P a l u k a i t i s P.: Nucleotide sequence and evolutionary relationships of Cucumber mosaic virus (CMV) strains, CMV RNA 3. Journal of General Virology, 1990, **71**: 2243-2249.
122. O w e n J., P a l u k a i t i s P.: Characterization of Cucumber mosaic virus I: molecular heterogeneity mapping of RNA 3 in eight CMV strains. Virology, 1988, **166**: 495-502.
123. P a l u k a i t i s P., R o o s s i n c k M.J., D i e t z g e n R.G., F r a n c k i R.I.B.: Cucumber mosaic virus. Advances in Virus Research, 1992, **41**: 281-348.
124. P a p p u H.R., J o n e s R.A., J a i n R.K.: Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: Successes achieved and challenges ahead. Virus Research, 2009, **141**: 219-236.
125. P a r k K.H., C h a B.J.: Detection of TMV, ToMV and CMV from tomato seeds and plants. Research in Plant Disease, 2002, **8**: 101-106.
126. P e n g J.C., C h e n T.C., R a j a J.A.J., Y a n g C.F., C h i e n W.C.: Broad-spectrum transgenic resistance against distinct tospovirus species at the genus level. PLoS One, 2014, **9**: e96073.
127. P l y u s n i n A., E l l i o t t R.M.: The Bunyaviridae: Molecular and cellular biology (Caister Academic Press), 2011, pp. 222.
128. P o s a d a D., C r a n d a l l K.A.: The effect of recombination on accuracy of phylogeny estimation. J Mol Evol., 2002, **54**: 396-402.
129. R e q u e n a A., S i m o n - B u e l a L., S a l c e d o G., G a r c i a - A r e n a l F.: Potential involvement of a cucumber homolog of phloem protein 1 in the long-distance movement of Cucumber mosaic virus particles. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2006, **19**: 734-746.
130. R i b e i r o D., J u n g M., M o l i n g S., B o r s t J.W., G o l d b a c h R., K o r m e l i n k R.: The cytosolic nucleoprotein of the plant-infecting bunyavirus Tomato spotted wilt recruits endoplasmic reticulum-resident proteins to endoplasmic reticulum export sites. Plant Cell, 2013, **25**: 3602-3614.
131. R i b e i r o D., B o r s t J.W., G o l d b a c h R., K o r m e l i n k R.: Tomato spotted wilt virus nucleocapsid protein interacts with both viral glycoproteins Gn and Gc in planta. Virology, 2009, **383**: 121-130.
132. R i b e i r o D.: Tomato spotted wilt virus glycoproteins induce the formation of endoplasmic reticulum- and Golgi-derived pleomorphic membrane structures in plant cells. Journal of General Virology, 2008, **89**: 1811-1818.
133. R i c h m o n d K.E., C h e n a u l t K., S h e r w o o d J.L., G e r m a n T.L.: Characterization of the nucleic acid binding properties of tomato spotted wilt virus nucleocapsid protein. Virology, 1998, **248**: 6-11.
134. R i l e y D.G., P a p p u H.R.: Tactics for management of thrips (*Thysanoptera: Thripidae*) and Tomato spotted wilt virus in tomato. Journal of Economic Entomology, 2004, **97**: 1648-58.
135. R i z o s H., G u n n L.V., P a r e s R.D., G i l l i n g s M.R.: Differentiation of Cucumber mosaic virus isolates using the polymerase chain reaction. Journal of General Virology, 1992, **73**: 2099-2103.
136. R o o s s i n c k M.J.: Evolutionary history of cucumber mosaic virus deduced by phylogenetic analyses. Journal of Virology, 2002, **76**: 3382-3387.
137. R o o s s i n c k M.J.: Cucumber mosaic virus, a model for RNA virus evolution. Molecular Plant Pathology, 2001, **2**: 59-63.
138. R o o s s i n c k M.J., Z h a n g L., H e l l w a l d K.H.: Rearrangements in the 5' nontranslated region and phylogenetic analyses of Cucumber mosaic virus RNA 3 indicate radial evolution of three subgroups. Journal of Virology 1999, **73**: 6752-6458.

139. Roossinck M.J., Bujarski J., Ding S.W., Hajimorad R., Hanada K., Scott S., Touisnant M.: Family Bromoviridae. In: Virus Taxonomy—Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, M.H.V. van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop (eds). Academic Press, San Diego, California, 1999, pp. 923-935.
140. Rotenberg D., Whitfield A.E.: Molecular interactions between tospoviruses and thrips vectors. *Current Opinion in Virology*, 2018, **33**: 191-197.
141. Rotenberg D., Krishna Kumar N.K., Ullman D.E., Montero-Astua M., Willis D.K.: Variation in Tomato spotted wilt virus titer in *Frankliniella occidentalis* and its association with frequency of transmission. *Phytopathology*, 2009, **99**: 404-10.
142. Rybicki E.P.: A Top Ten list for economically important plant viruses. *Archives of Virology*, 2015, **160**: 17-20.
143. Schnettler E., Hemmes H., Huisman R., Goldbach R., Prins M., Kormelink R.: Diverging affinity of tospovirus RNA silencing suppressor proteins, NSs, for various RNA duplex molecules. *Journal of Virology*, 2010, **84**: 11542-54.
144. Schneewis D.J., Whitfield A.E., Rotenberg D.: Thrips developmental stage-specific transcriptome response to tomato spotted wilt virus during the virus infection cycle in *Frankliniella occidentalis*, the primary vector. *Virology*, 2017, **500**: 226-237.
145. Scholthof K.B.: Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 2011, **12**: 938-954.
146. Senthil G., Liu H., Puram V.G., Clark A., Stromberg A., Goodin M.M.: Specific and common changes in *Nicotiana benthamiana* gene expression in response to infection by enveloped viruses. *Journal of General Virology*, 2005, **86**: 2615-2625.
147. Seo J.K., Kwon S.J., Choi H.S., Kim K.Y.: Evidence for alternate states of Cucumber mosaic virus replicase assembly in positive- and negative-strand RNA synthesis. *Virology*, 2009, **383**: 248-260.
148. Shi B.J., Miller J., Symons R.H., Palukaitis P.: The 2b protein of cucumoviruses has a role in promoting the cell-to-cell movement of pseudorecombinant viruses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2003, **16**: 261-267.
149. Shi B.J., Palukaitis P., Symons R.H.: Differential virulence by strains of Cucumber mosaic virus is mediated by the 2b gene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, **15**: 947-955.
150. Shimura H., Pantaleo V., Ishihara T., Myojo N., Inaba J.I., Sueda K., Burgyan J., Masuta C.: A viral satellite RNA induces yellow symptoms on tobacco by targeting a gene involved in chlorophyll biosynthesis using the RNA silencing machinery. *PLoS Pathogens* 2011, **7**: e1002021.
151. Shrestha A., Srinivasan R., Riley D.G., Culbreath A.K.: Direct and indirect effects of a thrips-transmitted Tospovirus on the preference and fitness of its vector, *Frankliniella fusca*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2012, **145**: 260-271.
152. Siddiqui S.A., Sarmiento C., Truve E., Lehto H., Lehto K.: Phenotypes and functional effects caused by various viral RNA silencing suppressors in transgenic *Nicotiana benthamiana* and *N. tabacum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2008, **21(2)**: 178-187.
153. Sin S.H., McNulty B.C., Kennedy G.G., Moyer J.W.: Viral genetic determinants for thrips transmission of Tomato spotted wilt virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, **102**: 5168-5173.
154. Sivakumar K., Chen M., Roossinck M.J., Kao C.C.: Core promoter for initiation of cucumber mosaic virus subgenomic RNA4A. *Molecular Plant Pathology*, 2002, **3**: 43-52.
155. Smith N.A., Eamens A.L., Wang M.B.: Viral small interfering RNAs target host genes to mediate disease symptoms in plants. *PLoS Pathogens*, 2011, **7**: e1002022.
156. Soards A.J., Murphy A.M., Palukaitis P., Carr J.P.: Virulence and differential local and systemic spread of Cucumber mosaic virus in tobacco are affected by the CMV 2b protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, **15**: 647-653.

157. Soundararajan P., Manivannan A., Muneer S., Park Y.G., Ko C.H., Jeong B.R.: Computational analysis of tomato spotted wilt virus glycoprotein trafficking mechanism and its inhibition by antiviral agents. *Austin Journal of Proteomics, Bioinformatics& Genomics*, 2015, **2(1)**: Id1010.
158. Stevens M.R., Scott S.J., Gergerich R.C.: Inheritance of a gene for resistance to Tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, 1991, **59**: 9-17.
159. Stumpf C.F., Kennedy G.G.: Effects of tomato spotted wilt virus (TSWV) isolates, host plants, and temperature on survival, size, and development time of *Frankliniella fusca*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2005, **114**: 215-225.
160. Su S., Liu Z., Chen C., Zhang Y., Wang X., Zh L., Miao L., Wang X.C., Yuan M.: Cucumber mosaic virus movement protein severs actin filaments to increase the plasmodesmal size exclusion limit in tobacco. *Plant Cell*, 2010, **22**: 1373-1387.
161. Szilassy D., Salanki K., Balazs E.: Molecular evidence for the existence of two distinct subgroups in Cucumber mosaic cucumovirus. *Virus Genes*, 1999, **18**: 221-227.
162. Takeda A., Sugiyama K., Nagano H., Mori M., Kaido M., Mise K., Tsuda S., Okuno T.: Identification of a novel RNA silencing suppressor, NSs protein of Tomato spotted wilt virus. *FEBS Letters*, 2002, **532**: 75-79.
163. Thompson J.R., Buratti E., de Wispelaere M., Tepfer M.: Structural and functional characterization of the 50 region of subgenomic RNA5 of Cucumber mosaic virus. *Journal of General Virology*, 2008, **89**: 1729-1738.
164. Tóbiás I., Szabó B., Salanki K., Sari L., Kuhlmann H., Palkovics L.: Seedborne transmission of Zucchini yellow mosaic virus and Cucumber mosaic virus in Styrian Hulless group of Cucurbita pepo. *Cucurbitaceae 2008 Proceedings of the IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*, 2008, pp. 189-197.
165. Trojka K-Goluch A., Berbeć A., Doroszevska T.: Wykorzystanie gatunków z rodzaju *Nicotiana* w najnowszej krajowej hodowli odpornościowej tytoniu. *Agronomy Science*, 2017, **72(4)**: 47-56.
166. Turina M., Kormelink R., Resende R.O.: Resistance to tospoviruses in vegetable crops: epidemiological and molecular aspects. *Annual Review of Phytopathology*, 2016, **54**: 347-371.
167. Ullman D.E., German T.L., Sherwood J.L., Westcot D.M., Cantone F.A.: Tospovirus replication in insect vector cells – immunocytochemical evidence that the nonstructural protein encoded by the s-rna of tomato spotted wilt tospovirus is present in thrips vector cells. *Phytopathology*, 1993, **83**: 456-463.
168. van de Wetering F., Goldbach R., Peters D.: Tomato spotted wilt tospovirus ingestion by first instar larvae of *Frankliniella occidentalis* is a prerequisite for transmission. *Phytopathology*, 1996, **86**: 900-905.
169. van Knippenberg I., Goldbach R., Kormelink R.: Tomato spotted wilt virus S-segment mRNAs have overlapping 3-ends containing a predicted stem-loop structure and conserved sequencemotif. *Virus Research*, 2005, **110**: 125-131.
170. van Poelwijk F., De Haan P., Kikkert M., Prins M., Kormelink R., Storms M., van Lent J., Peters D., Goldbach R.: Replication and expression of the tospoviral genome. *Acta Horticulturae*, 1996, **431**: 201-208.
171. Weng Z., Barthelson R., Gowda S., Hilf M.E., Dawson W.O., Galbraith D.W., Xiong Z.: Persistent infection and promiscuous recombination of multiple genotypes of an RNA virus within a single host generate extensive diversity. *PLoS One*, 2007, **2**: e917.
172. Whitfield A.E., Falk B.W., Rotenberg D.: Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology*, 2015, **479-480**: 278-289.
173. Whitfield A.E., Kumar N.K.K., Rotenberg D., Ullman D.E., Wyman E.A., Zietlow C., Willis D.K., German T.L.: A soluble form of the Tomato spotted wilt virus (TSWV) glycoprotein G(N) (G(N)-S) inhibits transmission of TSWV by *Frankliniella occidentalis*. *Phytopathology*, 2008, **98**: 45-50.

174. Whitfield A.E., Ullman D.E., German T.L.: Tospovirus-thrips interactions. Annual Review of Phytopathology, 2005, **43**: 459-489.
175. Whitfield A.E., Ullman D.E., German T.L.: Expression and characterization of a soluble form of Tomato spotted wilt virus glycoprotein G(N). Journal of Virology, 2004, **78**: 13197-13206.
176. Wijkamp I., Goldbach R., Peters D.: Propagation of tomato spotted wilt virus in *Frankliniella occidentalis* does neither result in pathological effects nor in transovarial passage of the virus. Entomologia Experimentalis et Applicata, 1996, **81**: 285-292.
177. Wilson C.R.: Incidence of weed reservoirs and vectors of tomato spotted wilt tospovirus on southern Tasmanian lettuce farms. Plant Pathology, 1998, **47**: 171-176.
178. Wilson V., Taylor P., Desselberger U.: Crossover regions in foot-and-mouth disease virus (FMDV) recombinants corresponds to regions of high local secondary structure. Archives of Virology, 1988, **102**: 131-139.
179. Wróbel-Marek J., Kulińska-Lukaszek K., Kurczyńska E.U.: Komunikacja symplastowa i jej rola w rozwoju roślin. Postępy Biologii Komórki, 2015, **42(3)**: 573-594.
180. Wu X., Xu S., Zhao P., Zhang X., Yao X., Sun Y.: The Orthotospovirus nonstructural protein NSs suppresses plant MYC-regulated jasmonate signaling leading to enhanced vector attraction and performance. PLoS Pathogens, 2019, **15**: e1007897.
181. Yang Y., Kim K.S., Anderson E.J.: Seed transmission of Cucumber mosaic virus in spinach. Phytopathology, 1997, **87**: 924-931.
182. Yao M.: Inheritance and QTL Analysis for resistance to cucumber mosaic virus in pepper. Doctoral thesis, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 2013, p. 12-19.
183. Yasuo K.: Studies on cucumber mosaic virus. Journal of Phytopathology, 1963, **28**: 131-138.
184. Ye J., Qu J., Zhang J.F., Geng Y.F., Fang, R.X.: A critical domain of the Cucumber mosaic virus 2b protein for RNA silencing suppressor activity. FEBS Letters, 2009, **583**: 101-106.
185. Zhai Y., Bag S., Mitter N., Turina M., Pappu H.R.: Mutational analysis of two highly conserved motifs in the silencing suppressor encoded by Tomato spotted wilt virus (genus Tospovirus, family Bunyaviridae). Archives of Virology, 2014, **159**: 1499-1504.
186. Zhang X., Yuan Y.R., Pei Y., Lin S.S., Tuschl T., Patel D.J., Chua N.H.: Cucumber mosaic virus-encoded 2b suppressor inhibits *Arabidopsis* Argonaute1 cleavage activity to counter plant defense. Genes & Development, 2006, **20**: 3255-3268.
187. Ziebell H., Payne T., Berry J.O., Walsh J.A., Carr J.P.: A cucumber mosaic virus mutant lacking the 2b counter-defence protein gene provides protection against wild-type strains. Journal of General Virology, 2007, **88**: 2862-2861.
188. Zitter T.A., Murphy J.F.: Cucumber mosaic. Plant Health Instructor, 2009, p. 1-6.

Adres do korespondencji:

dr Marcin Przybyś
Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin
IUNG-PIB
ul. Czartoryskich 8
24-100 Puławy
tel. 81 4786 930
e-mail: Marcin.Przybys@iung.pulawy.pl

AUTOR
Marcin Przybyś

ORCID
0000-0002-6567-2954